

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
PEDAGOGICKÁ FAKULTA
KATEDRA BIOLOGIE

**Individuální značení drobného hmyzu a jeho využití při popisu společenstev
a migrace semiakvatických ploštic (Heteroptera: Gerromorpha) stojatých i
tekoucích vod Novohradských hor**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Eva Vojířová

Vedoucí diplomové práce: RNDr. Tomáš Ditrich

České Budějovice
2010

ABSTRAKT

Vojířová E. 2010: Individuální značení drobného hmyzu a jeho využití při popisu společenstev a migrace semiakvatických ploštic (Heteroptera: Gerromorpha) stojatých i tekoucích vod Novohradských hor. Diplomová práce, PF JU, České Budějovice. 113 s.

Experimenty založené na metodě zpětných odchyť („mark-recapture“ experimenty) lze využít k odhadu početnosti přírodních populací, pro sledování disperze skupin či jednotlivců v populaci a to pomocí skupinového, respektive individuálního značení. Semiakvatické ploštice (Heteroptera: Gerromorpha) byly v terénu mnohokrát značeny a odchyťovány během výzkumů, individuálních značení bylo však nepoměrně méně, neboť toto značení je u malých druhů hmyzu nesnadné. Cílem této práce bylo vyvinout metodu individuálního značení semiakvatických ploštic tak, aby splňovala podmínky použitelnosti: trvanlivost, čitelnost a nezávadnost pro značené jedince. Jako pokusné organismy byly vybrány semiakvatické ploštice *Aquarius paludum*, *Gerris lacustris*, *Limnoporus rufoscutellatus* (Gerridae) a *Velia caprai* (Veliidae). Dalšími cíli bylo pokusit se pomocí této metody popsat abundanci sledované populace a sledovat disperzi vybraných druhů na tekoucích vodách (*V. caprai*) a na vodách stojatých (bruslařky č. Gerridae).

Na základě modifikací používaných metod se podařilo vyvinout novou metodu individuálního značení semiakvatických ploštic. Tato metoda se po řadě testů a terénním výzkumu ukázala jako vhodná, neboť splnila základní podmínky pro značení hmyzu. Pomocí této metody byla odhadnuta abundance sledované populace a byla popsána disperze vybraného druhu (*V. caprai*) na tekoucích vodách, přičemž byly zodpovězeny i dílčí otázky této práce. Bylo potvrzeno, že jedinci *V. caprai* se průkazně pohybují mezi sledovanými úseky vodního toku. Tato tendence k pohybu je větší, než tendence zůstat na místě vypuštění. Získaná data také ukazují na průkazně vyšší pohyb jedinců *V. caprai* ve směru proti proudu vodního toku. Jako signifikantní byla shledána i tendence jedinců *V. caprai* k větší vzdálenosti překonané při pohybu směrem nahoru, než dolů. Nebyl potvrzen statisticky průkazný rozdíl v překonaném výškovém rozdílu, ve směru nahoru/dolů po vodním toku. Ve všech dílčích otázkách byl zároveň porovnáván rozdíl ve sledovaných jevech mezi pohlavími a generacemi, který však nikde nebyl signifikantní. Pohyb dospělců hladinatky *V. caprai* tak lze popsat jako protiproudou migraci, typickou pro hmyz tekoucích vod. Část studie probíhající na stojatých vodách odhalila, že jedinci *G. lacustris* se pohybují po vodní hladině rybníka, ale ne ve větší míře, než zůstávají na místě. Naproti tomu, jedinci *A. paludum* se průkazně vzdalují z místa vypuštění, spíše než zůstávají na místě, přičemž překonávají více úseků (větší vzdálenost) než jedinci *G. lacustris*.

Klíčová slova: semiakvatické ploštice, Gerridae, Veliidae, individuální značení, „mark-recapture“ experiment, disperze, abundance

Vedoucí práce: RNDr. Tomáš Ditrich

Tato diplomová práce byla řešena v rámci výzkumného záměru Ekologické, evoluční a experimentálně biologické přístupy ke studiu vzniku a významu biodiverzity MSM6007665801.

ABSTRACT

Vojířová E. 2010: Individual marking of small insects and its usage in describing societies and migration of semiaquatic bugs (Heteroptera: Gerromorpha) in lentic and lotic habitats of Novohradské Mountains. Diploma thesis, PF JU, České Budějovice. 113 pp.

Experiments based on the method of mark-recapture can be used for estimation of the abundance of natural populations, for monitoring dispersion of groups or individual specimens within a population using group or individual marking. Semiaquatic bugs (Heteroptera: Gerromorpha) were marked and recaptured many times in the field during research, individual marking was much less used since marking of small insects is difficult. The aim of this work is to develop a method of individual marking of semiaquatic bugs so that it would meet conditions such as durability, legibility and non affecting health of the marked specimen. Semiaquatic bugs of *Aquarius paludum*, *Gerris lacustris*, *Limnoporus rufoscutellatus* (Gerridae) and *Velia caprai* (Veliidae) species were selected as experimental organisms. Partial aims of this thesis were to try using this method to describe the abundance of the monitored population and to monitor dispersion of the selected species, both at lotic (*V. caprai*) and lentic habitats (water striders, family Gerridae).

A new method of individual marking of semiaquatic bugs was developed on the basis of modifications of the commonly used methods. After a series of tests and in-field research, this method proved to be suitable as it met the essential conditions for marking insects. The abundance of the monitored population was estimated and dispersion of the selected species (*V. caprai*) in running water was described by using this method. The partial aims of this thesis were met, too. It was confirmed that individuals of the *V. caprai* species move between the monitored areas along the water course. This inclination to move is greater than tendency to remain in the place of release. The gained data also show conclusively higher rate of movement of *V. caprai* specimens in the upstream direction, compared to the downstream. The tendency of *V. caprai* to travel larger distance upstream than downstream, is significant too. No statistically relevant difference in either direction of the water course (up or down) in the surpassed altitude difference was confirmed. The differences in the monitored phenomena between the sexes and generations were compared as well. The differences, however, were not significant. A movement of the adults of the water cricket *Velia caprai* thus can be characterized as an upstream migration, common in insects of lotic habitats. A part of the study taking place in still waters showed, that *G. lacustris* specimens move on the surface of the pond, but not to a larger degree than they remain in place. On the other hand, *A. paludum* specimens were proved to move away from the place of release rather than remaining in that place. These also overcome greater distance than *G. lacustris* specimens.

Key words: semiaquatic bugs, Gerridae, Veliidae, individual marking, mark-recapture experiment, dispersion, abundance

Supervisor: RNDr. Tomáš Ditrich

This project was supported by the grant of the Czech Ministry of Education, Youth and Sports No. MSM6007665801.

Prohlašuji, že tuto diplomovou práci jsem vypracovala samostatně, pouze za odborného vedení vedoucího diplomové práce RNDr. Tomáše Ditricha a s využitím materiálů uvedených v seznamu literatury.

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

V Českých Budějovicích dne 22. 4. 2010

.....

Touto cestou bych velmi ráda poděkovala vedoucímu své diplomové práce RNDr. Tomáši Ditrichovi za ochotu při poskytování odborných konzultací a neocenitelnou pomoc při zpracování této práce. Dále děkuji Mirce Krovové za pomoc a technické zázemí ve školních prostorách. Poděkování za vstřícnost a poskytnutí prostorů knihovny patří i pracovníkům Informačního centra v Pohorské Vsi v Novohradských horách. Děkuji také své rodině za podporu a trpělivost během vypracování této diplomové práce.

OBSAH

1 Úvod	8
2 Literární přehled	9
2.1 Individuální značení hmyzu	10
2.1.1 Využití individuálního značení pro odhad abundance	10
2.1.2 Přehled metod používaných pro značení hmyzu	12
2.1.2.1 Označení poškozením	12
2.1.2.2 Štítkování	14
2.1.2.3 Přímé značení	15
2.1.2.4 Značení prášky	16
2.1.2.5 Vnitřní značení barvivou	19
2.1.2.6 Značení pylem	19
2.1.2.7 Genetické značení	20
2.1.2.8 Značení stopovými prvky	20
2.1.2.9 Značení proteiny	22
2.1.2.10 Značení geneticky modifikovanými elementy	22
2.1.3 Výběr vhodného způsobu značení	25
2.1.4 Metody aplikace přímého značení	26
2.1.5 Kódovací systém	28
2.1.6 Trvanlivost materiálů vhodných pro značení hmyzu	28
2.1.7 Technika značení laserem	29
2.2 Individuální značení semiakvatických ploštic	31
3 Materiál a metodika	37
3.1 Technika značení	37
3.2 Test přežívání	39
3.3 Letový test	41
3.4 Individuální značení na tekoucích vodách	41
3.4.1 Lokalita - potok	41
3.4.2 Metodika experimentu	49

3.5 Individuální značení na stojatých vodách.....	50
3.5.1 Lokalita – rybník	50
3.5.2 Vlastní experiment.....	52
3.6 Statistické vyhodnocování dat	53
4 Výsledky.....	55
4.1 Test přežívání	55
4.2 Letový test	56
4.3 Individuální značení na tekoucích vodách	56
4.3.1 Pohyb po vodním toku.....	58
4.3.2 Směr pohybu po vodním toku	60
4.3.3 Vzdálenost pohybu	62
4.3.4 Výškový rozdíl	78
4.3.5 Abundance populace	91
4.4 Individuální značení na stojatých vodách.....	92
4.4.1 Pohyb po vodní hladině	93
4.4.2 Abundance populace	101
5 Diskuse a závěry	102
5.1 Test přežívání, letový test.....	102
5.2 Individuální značení na tekoucích vodách	103
5.3 Individuální značení na stojatých vodách.....	106
5.4 Závěry.....	108
6 Dodatek.....	110
7 Seznam literatury.....	111
8 Seznam příloh	

1 Úvod

V současnosti patří ekologie k jedné z nejpobulárnějších oblastí v biologii. Existuje mnoho definic popisujících tento obor, například: „Ekologie je věda, zkoumající interakce určující početnost a rozmístění organismů“ (Begon et al., 2006). Mezi základní práci ekologů tak patří zjišťování početnosti (abundance) a rozmístění (distribuce) přírodních populací. K odhadu velikosti a složení populace je nutné volně žijící živočichy dlouhodobě sledovat. Většinou však není možné spočítat všechny jedince, proto se využívají různé nepřímé metody k odhadu početnosti. Takových metod existuje velké množství. K nejrozšířenějším pak patří ty, které jsou založeny na značení živočichů a jejich zpětných odchycích, tzv. „mark-recapture“ experimenty. Jejich princip spočívá v tom, že z počtu označených, vypuštěných a znovu odchycených živočichů se odhadne celková velikost populace (podrobněji viz dále). Dále lze pomocí těchto experimentů sledovat migraci skupin či jednotlivců s využitím skupinového, respektive individuálního značení.

Cílem této práce bylo vyvinout metodu individuálního značení semiakvatických ploštic tak, aby splňovala podmínky jako je trvanlivost, čitelnost, nezávadnost pro značené jedince a mnohé další. Jako pokusné organismy byly vybrány semiakvatické ploštice *Aquarius paludum* Fabricius, 1794; *Gerris lacustris* Linnaeus, 1758; *Limnopus rufoscutellatus* Latreille, 1807 (Gerridae) a *Velia caprai* Tamanini, 1947 (Veliidae). Dalšími cíli bylo pokusit se pomocí této metody popsat abundanci sledované populace a sledovat disperzi vybraných druhů, především *V. caprai*, na tekoucích vodách. U *V. caprai* byla pozorována terestrická migrace (Ditrich & Papáček, 2009), otázkou však zůstává, zda se pohybuje po směru či proti směru proudu vodního toku. Dílčí otázky týkající se popisu disperze za využití individuálního značení jsou následující:

- Zda se vybrané druhy pohybují?
- Jakým směrem se pohybují?
- Liší se překonaná vzdálenost ve směru nahoru/dolů?
- Liší se překonaný výškový rozdíl ve směru nahoru/dolů?
- Liší se v těchto čtyřech předchozích jevech samci a samice, nebo přezimující a nová generace?

2 Literární přehled

Značení hmyzu pro vědecké studie začalo kolem roku 1920, kdy badatelé používali označené jedince pro studium dynamiky populace (Hagler & Jackson, 2001).

Značení může být za prvé skupinové, kdy jsou stejně označeni všichni odchycení jedinci a to nejčastěji barvami nebo prachem.

Druhou možností je individuální značení. Při něm se každý odchycený jedinec označí unikátní značkou, která umožní jeho identifikaci při budoucím odchytu. Takovéto individuální značení podává pak přesnější obraz přirozených populací. Vzhledem k nutnosti velkého množství individuálních značek je ovšem technicky mnohem náročnější. Proto se nejčastěji používá ke studiu velkých a nápadných živočichů, jako jsou savci či ptáci (Blake & Loiselle, 2008; Hagmeier et al., 2008; Chambers & Dickman, 2002; Tupper et al., 2009; Votier et al., 2008). Při studiu hmyzu se tradičně individuální značení používá při sledování populací motýlů (Hovestadt & Nowicki, 2008; Lehnert, 2008; Nowicki et al., 2005) a vážek (Hannon & Hafernik, 2007; Hornung & Pacas, 2006; Ward & Mill, 2007), později se začalo využívat i pro studium ekologie ostatních druhů hmyzu (Fairbairn, 1985; Mattioli & Walsh, 2008; McCall et al., 2001; Walker & Wineriter, 1984).

Jako další varianta byla vyvinuta technika založená na samoznačení hmyzu. Hmyz se označí sám například kontaktem se značící látkou, která se vyskytuje přirozeně v prostředí (pyly), nebo strategicky umístěným materiálem ve zdroji potravy, či při vstupu do hnízda nebo úlu (Hagler & Jackson, 2001).

2.1 Individuální značení hmyzu

2.1.1 Využití individuálního značení pro odhad abundance

Hedvíková (2009) popisuje využití zpětných odchyť zejména pro odhady abundance populace. Původní metodou je tzv. Lincoln-Petersonův index, udávající poměr mezi označenými jedinci, k celkovému počtu jedinců v rámci dvou odchyť. Průkopníky jejího používání jsou Carl George Johannes Petersen a Frederick Lincoln. Petersen se zabýval značením ryb pomocí mosazných značek za účelem studia migrace. Lincolnova ornitologická studie založená na kroužkování ptáků tvořila podklad pro publikaci z roku 1930 na téma odhad abundance vodních ptáků. Z této metody, která se využívá pro uzavřené populace, pak vychází další matematicko-ekologické modely umožňující určit kromě abundance i jiné parametry.

Lepš (1989) představuje základní myšlenku této metody založené na skupinovém značení. Populace má velikost G jedinců (G neznáme). Odchytíme z ní M individuů, které označíme a vypustíme zpět. Pak z dané populace provedeme druhý odchyt, při kterém získáme y jedinců, z nichž m bude označených.

Za předpokladu, že označení živočichů neovlivní jejich chování a pravděpodobnost jejich odchyty se nezmění, potom můžeme provést odhad abundance populace podle vzorce:

$$G = \frac{y \cdot M}{m}$$

Tento odhad může být vychýlený a lze proto použít méně vychýlený odhad:

$$G = \frac{(M + 1) \cdot (y + 1)}{(m + 1)}$$

Hedvíková (2009) uvádí i jiný model, který umožňuje odhad početnosti u otevřených populací, tzv. Jolly-Seber model. Ten navíc hodnotí i dynamiku populace, tedy bere v úvahu

imigraci a emigraci jedinců, do níž spadá i natalita a mortalita. Výpočty jsou však mnohem komplikovanější. Slouží k nim proto běžně počítačové softwary.

Krebs (1999) zmiňuje základní předpoklady této metody:

1. Každý jedinec má stejnou pravděpodobnost odchyty a nezáleží na tom, zda je označený či nikoliv.
2. Každý označený jedinec přítomný v populaci má stejnou pravděpodobnost přežití do dalšího odchyty.
3. Nesmí docházet ke ztrátám značení a značka by neměla být při odchyty přehlédnuta.

Metody zpětných odchytů ke zjištění velikosti populace se používají v případě jedinců, které lze snadno odchytit. Zároveň nemohou být použity pro velké populace, protože pro řádově přesný odhad početnosti je nutné označit asi 20 % populace. Dalším předpokladem pro tyto techniky je, že značení jedince neovlivní z hlediska chování ani přežití. Značení musí probíhat zcela náhodně a je nezbytné zajistit promísení označených jedinců s ostatními jedinci v populaci. Prostřednictvím získaných dat lze určovat nejen početnost, ale i další charakteristiky populace, jako jsou mortalita, natalita, disperze, migrace, poměr pohlaví či míra přežívání jedinců (Hedvíková, 2009).

Ve výzkumu rozlišujeme dva základní typy studií, které vyžadují označení jedince (Hagler & Jackson, 2001):

I. Značení – vypuštění – znovuodchycení (Mark – Release – Recapture = MRR)

Pro studie využívající tuto metodu jsou jedinci odebráni výzkumníkem buď z terénu, nebo z laboratorních kolonií. Poté jsou označeni, vypuštěni do volné přírody a po určitém čase a vzdálenosti od místa vypuštění jsou opět odchyceni. Následně je kontrolována přítomnost značky, která umožňuje rozlišit označené jedince od neoznačených.

II. Značení – odchycení (Mark – Capture = MC)

Tento typ studie je založen na značení jedinců přímo v terénu. Nejvíce užitečné jsou pro značení ty materiály, které jsou levné a mohou být snadno velkoplošně aplikovány do přirozeného prostředí živočicha nebo přidány do potravy.

2.1.2 Přehled metod používaných pro značení hmyzu

Přehled metod využívaných pro značení hmyzu uvádí jak Walker & Wineriter (1981), tak nověji Hagler & Jackson (2001). Walker & Wineriter (1981) rozdělují tři základní kategorie těchto metod:

2.1.2.1 Označení poškozením

Hagler & Jackson (2001) představují jako hlavní výhodu těchto technik trvanlivost a snadnost určování označených jedinců přímo v terénu, bez složitého vybavení. Omezení je především v časové náročnosti a pracnosti značení, pokud studie vyžaduje větší počet označených individuů. Navíc jsou tyto metody vhodné jen pro malý počet druhů hmyzu.

Patří sem techniky jako děrování, vrubování nebo odříznutí některých částí těla hmyzu. Hrubé formy mrzačení, jako jsou například amputace, ale nejsou zcela vhodné, protože mohou způsobit změny chování u sledovaných jedinců. Jinou alternativou jsou zářezy na pronotu či krovkách. Gangwere et al. (1964) shledal toto značení vyhovujícím u některých rovnokřídlých a švábů a poukázal na to, že zářezy zůstávají čitelné i po jednom či více svlékáních. Řadíme sem také značky tvořené škrábáním nebo vypalováním kódů ve formě teček, čísel či písmen opět do krovek nebo pronota (Obr. 1). Především hladká, tvrdá a silná kutikula brouků poskytuje vhodný podklad pro tento typ značení. Například Murdoch (1963) používal ostří žiletky na vyrývání značek do krovek střevlíků.

Jiným příhodným adeptem této metody je hmyz s velkými křídly, jako jsou vážky, motýli nebo kobyly. Mnoho různých druhů rovnokřídlého hmyzu bylo značeno technikou skládající se z amputace krytky a nastřihávání zadního, bočního a předního okraje pronota. Různými variantami byl získán vysoký počet dobře odlišitelných značek. Tato technika se ukázala jako trvalá a pro hmyzího jedince nezávadná (Hagler & Jackson, 2001).



Obr. 1. Mandelinka bramborová (*Leptinotarsa decemlineata*) označená pomocí vpichů do krovek. Převzato z Hagler & Jackson (2001).

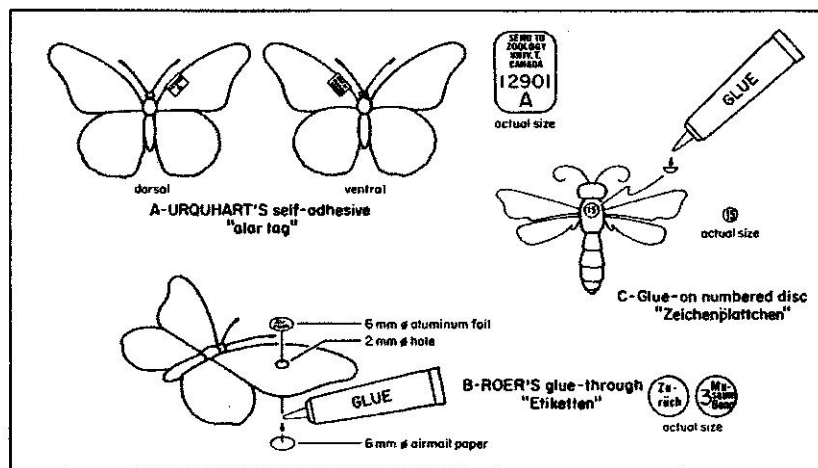
2.1.2.2 Štítkování

Hagler & Jackson (2001) připomínají, že štítky jsou velmi často používány zejména ke značení savců, plazů, obojživelníků či ptáků z důvodu studia populační ekologie, nebo ochrany přírody. Pro značení hmyzu je většina štítků příliš těžká a velká. Přesto lze malé štítky na určité skupiny hmyzu úspěšně používat.

Zjednodušeně lze říci, že nejčastěji tištěný štítek je nějakým způsobem spojen s tělem hmyzu. Studie s individuálním značením motýlů rodu *Danaus*, s cílem zjistit jejich migrační směry, provedli Urquhart & Urquhart (1978, 1979). Použili „samodržící“ štítek o velikosti 9x13 mm, který byl ohnutý přes okraj předního křídla (Obr. 2A). Štítek zůstal na místě, přestože motýli při svých cestách nalétali více jak tisíc kilometrů.

Walker & Wineriter (1981) popisují další způsob značení motýlů. Štítek složený ze dvou 6 mm kruhových terčů, byl spojen lepidlem skrz díрку v předním křídle (Obr. 2B). Snadnější rozeznání jedince navíc umožnila hliníková folie použitá na horní terč.

Jiný typ štítku vyvinuli němečtí včelaři za účelem sledování včelích královen a jejich snadné identifikace. Štítky byly kruhového tvaru, měly 2 mm v průměru, číslování od 00 – 99, pět různých barev a vážily pouze 1,3 mg. Pomocí lepidla byly umísťovány na pronotum včely (Obr. 2C). Toto značení je vhodné pro různé druhy hmyzu.



Obr. 2. Značení pomocí štítků. Převzato z Walker & Wineriter (1981).

Hagler & Jackson (2001) uvádí, že jedinci včely medonosné (*Apis mellifera*) jsou touto metodou značení často. V současnosti jsou již očíslované štítky vyráběny komerčně v různých barvách a mohou tak být jednoduše nalepeny na včelí hrud'. Jinou možností jsou kovové očíslované štítky, kterými jsou značeni včelí jedinci v terénu. Při návratu do úlu jsou pak odchyceni pomocí magnetu umístěného vhodně při jeho vstupu. Těto metody bylo úspěšně využito při zkoumání letového rozsahu a potravní aktivity včel.

Metoda značení podle Pipera (2003) je založena na použití kruhových štítků (průměr 0,9 mm) z kvalitního papíru. Ty za pomoci upravené mechanické tužky a oboustranné lepicí pásky lepil na pronotum mandelinky *Cryptocephalus coryli*. Kódy byly na štítky vytištěny fontem č. 2 a skládaly se z kombinace písmena a čísla, což umožňovalo 260 kombinací. Jejich počet mohl být zvýšen například použitím barevných papírů. Nakonec byly štítky přetřeny bezbarvým lakem za použití jemného štětečku. Výsledky prokázaly dobrou trvanlivost štítků. Pouze jeden samec (4 %) a jedna samice (2 %) ze zpětně odchycených ztratili svoji značku. Navíc po 24 dnech od vypuštění byly kódy stále snadno čitelné. Výhodou této metody je její snadnost, cenová dostupnost a možnost značení přímo v terénu.

Nízká cena, dostatečný počet kódů pro individuální značení, stejně jako trvanlivost, jsou hlavními výhodami, které přináší technika štítkování. Díky zmiňované trvanlivosti je také vhodná pro dlouhodobé studie. Nevýhodou představuje především časová náročnost a pracnost individuálního značení. Z toho důvodu je nepraktická pro masové značení jedinců (Hagler & Jackson, 2001).

2.1.2.3 Přímé značení

Tato kategorie představuje nejvíce variabilní oblast individuálního značení. Jedná se o přímé využití tělního povrchu hmyzu ke značení, nejčastěji za pomoci barev, inkoustů či laků. Hagler & Jackson (2001) uvádí, že právě inkousty a barvy byly mezi prvními značícími materiály používanými pro skupinové i individuální značení a svoji oblíbenost si uchovaly dodnes. Individuálně byl hmyz značen za použití jednoduchého číselného systému nebo vypracovaným systémem kódů. Například na pozdní instar larvy babočky *Euphydryas editha bayensis* byl aplikován systém tří teček strategicky umístěných na každé straně. Skupinové značení za pomoci speciálních zařízení, jako jsou rozprašovače nebo stříkácí pistole, představuje levnou, snadnou a rychlou variantu. Navíc rozpoznání značky na odchyceném

jedinci nevyžaduje mikroskop. Často je ovšem nutné barvy před postřikem ředit alkoholem či acetonem, proto se výzkumník musí ujistit, že barva nebo rozpouštědlo nejsou toxické.

Hagler & Jackson (2001) nabízí ve svém novějším přehledu ještě další techniky značení. Například značení prášky, barvivy, pylem, genetické značení, značení stopovými prvky plus uvádí i nejnověji vyvinuté metody, jako je využití proteinů nebo genetického inženýrství ke značení hmyzu. Konkrétní příklady jsou popsány jen na základě jejich přehledu, v němž jsou uvedeny původní citace experimentů.

2.1.2.4 Značení prášky

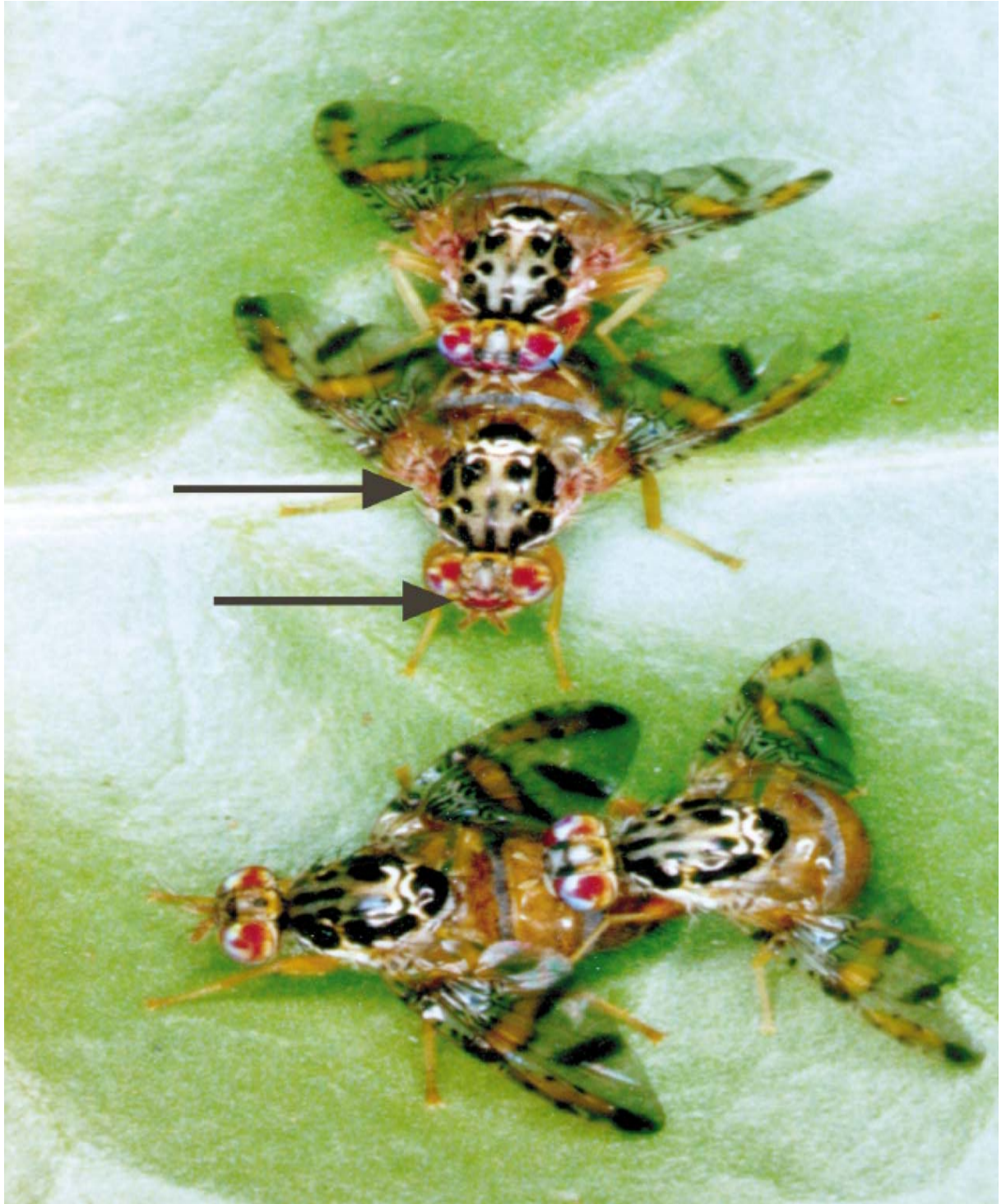
Prášky se používaly ke značení hmyzu již před více než 75 lety. Pro různé druhy hmyzu představují dodnes pravděpodobně nejobvyklejší materiál k vnějšímu značení. Mezi první prášky používané k tomuto účelu patřil neviditelný zelený fluorescenční prášek, jenž se běžně využíval v kriminalistice. Tento prášek je lehce detekovatelný pod UV světlem, avšak na denním světle není viditelný. Nejpoužívanější komerční fluorescenční prášek, dostupný v mnoha barvách, je „Day-Glo“.

Větší druhy hmyzu nebo ty, jejichž povrch je více ochlupen, jsou ideálními kandidáty na tento typ značení (Obr. 3). Někdy se do prášků přidávají pomocné látky, například mouka nebo písek, aby zajistily lepší adhezi prachových částic. Nejčastěji se aplikace provádí umístěním hmyzu do krabičky s daným množstvím prášku a následným třesením krabičky. Tento proces však neprospívá malým a křehkým jedincům. Zachycení příliš velkého množství prachu může způsobit nežádoucí vedlejší efekty, jako je zvýšená mortalita, snížená pohyblivost či ovlivnění sensorických orgánů.

Tato metoda se také využívá při samoznačení hmyzu, čímž je značně omezena možnost poškození hmyzu při manipulaci s ním. Značící látka je příhodně umístěna například v okolí zdrojů potravy, pastí či u hnízd a úlů živočichů.

Pro početnou skupinu druhů hmyzu představují prášky výbornou značící techniku. Jsou bezpečné pro prostředí, cenově dostupné, snadno aplikovatelné a zjištělné. Navíc jsou k dispozici v široké paletě barev, což umožňuje značení různých skupin jedinců. Často jsou detekovatelné pouhým okem, nicméně někdy se využívá mikroskopu či UV světla. Ovšem, jak již bylo zmíněno, existují i nevýhody této metody. Například příliš mnoho aplikovaného prášku může mít nepříznivé účinky na chování jedince nebo ho může dokonce usmrtit. Proto

jsou nutné předběžné testy k nalezení optimálního množství značící látky pro daný druh hmyzu. Nevýhodou je i nedostatečná trvanlivost v dlouhodobých studiích. Navíc částičky prachu mohou být v terénu nebo v pastech přeneseny z označených jedinců na neoznačené a tím může být znehodnocen celý experiment.



Obr. 3. Dva pářící se páry octomilky ovocné (*Drosophila melanogaster*), jeden pár je neoznačený (spodní), druhý pár označený fluorescenčním prachem (horní). Převzato z Hagler & Jackson (2001).

2.1.2.5 Vnitřní značení barvivy

K vnitřnímu značení hmyzu se používají různé druhy barviv. Výzkumem bylo zjištěno, že určité typy barviv rozpustných v oleji se mohou poté, co jsou hmyzem pozřeny, hromadit v jeho tkáních nebo tekutinách. Tato metoda byla vyzkoušena na dospělých květopase *Anthonomus grandis* přidáváním šedesáti v oleji rozpustných barviv do jejich larvální potravy. Výsledkem bylo, že pouze barva „Calco red N-1700“ produkovala dlouhotrvající a vysoce viditelnou barvu a nepřinesla žádné negativní účinky na jejich růst a vývoj. Navíc u označených samic bylo barvivo přeneseno i na vajíčka. Larvy vylíhnuté z těchto vajíček byly také označeny, ale po prvním instaru byla barva již nejasná. Také mnoho motýlích škůdců bylo značeno různými typy barviv přidávaných přímo do potravy larev.

Vnitřní značení je používáno pro řadu MRR studií, které zkoumají například ekologii termitů. V přírodě nasbíraní jedinci jsou umístěni na filtrační papír, který je napuštěn v oleji rozpustným barvivem. Po několika dnech krmení na tomto papíře jsou označeni. Důležitým faktorem pro vybírání barviva u tohoto typu studie je jistota, že se nebude horizontálně přenášet sociálním kontaktem mezi jedinci (například trofolaxí). Jiný způsob byl použit pro studium teritoriálního chování černých mravenců *Solenopsis richteri*. Několik různě zbarvených barviv bylo přidáno do návnady z arašídového másla.

Výhodu tohoto značení představuje zejména finanční a časová nenáročnost. Dále je omezena manipulace s jedinci tím, že se hmyz může označit sám pouhým přidáním barviva do potravy. Navíc přítomnost většiny barviv lze rychle zjistit pouhým pohledem na odchyceného jedince. Vyzkoušena byla celá řada barviv, ale skutečně použitelných je jich jen několik. Mnoho z nich totiž bylo pro hmyz škodlivých.

2.1.2.6 Značení pylem

Pyl se řadí mezi výjimečné značící materiály a to z několika důvodů. Zaprvé pylová zrna různých druhů rostlin jsou dobře rozlišitelná a snadno tak mohou být určena do rodů. Zadruhé vnější vrstva pylu je tvořena proteiny, což způsobuje odolnost pylových zrněk. A zatřetí rostliny, které jsou závislé na hmyzu jako na opylovačích, produkují pyl, který přirozeně drží na tělním povrchu hmyzu.

Ve studii prováděné v Arkansasu byla šedavka kukuřičná (*Helicoverpa zea*) nesoucí pyl z *Calliandra* spp. nebo z *Pithecellobium* spp. (obě čeledi citlivkovité – Mimosaceae) chytána

do feromonových pastí. Tyto rostliny bylo ovšem objeveny nejbližší v Texasu, což naznačuje migraci těchto mūr minimálně na vzdálenost 750 km.

K identifikaci pylových zrn se používají metody jako je světelná mikroskopie nebo SEM (skenovací elektronová mikroskopie). Světelná mikroskopie, ale často vyžaduje rozsáhlou přípravu vzorku, například za pomoci acetolýzy. To má však ničivé účinky na celistvost pylových zrn a navíc je tato příprava časově zdlouhavá. Naproti tomu SEM nabízí přímé pozorování pylu detailněji a ve vyšším rozlišení, než světelná mikroskopie.

2.1.2.7 Genetické značení

Viditelné genetické změny u laboratorně chovaného hmyzu mohou sloužit k identifikaci jedinců v MRR studiích. Tyto mutace mohou nastávat jednak jako přirozené v laboratorních populacích, nebo mohou být způsobeny vystavením hmyzu ionizujícímu záření či mutagenním chemikáliím. K nejvíce nápadným změnám patří odlišná barva očí nebo povrchu těla. Jiné genetické mutace zahrnují přítomnost či nepřítomnost skvrn, proužků, ochlupení, nebo některých částí těla. U laboratorně chovaných komárů představují tyto mutace například tečkovaný abdomen, stříbrné mesonotum nebo bronzované tarsi.

Mutace způsobující ebenovou barvu těla byla objevena u *A. grandis*. Tento kodominantní fenotyp, který přetrvával přes devět generací, byl využit pro studium rozptylu a páření.

Dědičnost genetických značek může být dominantní, kodominantní, recesivní, polygenní nebo pohlavně vázaná. Vhodná mutace je taková, pokud je detekce značky možná vizuálně pohledem, nebo za pomoci stereomikroskopu. Ve většině případů by však mělo být možné značky rozpoznat přímo v terénu. Největší výhodou viditelných genetických změn je to, že jsou přirozenou součástí těla hmyzu a jsou trvanlivé po celou dobu života jedince. Ovšem existují i nevýhody této metody. Genetické změny sloužící jako značky jsou vzácné a obvykle se vyskytují pouze u hmyzu chovaného v laboratořích po mnoho generací. Je nutno také testovat tělesnou zdatnost mutacemi označeného hmyzu, aby nedocházelo ke zhoubnému efektu na jeho fyziologii nebo chování. Navíc mutace vyvolané zářením či chemikáliemi mohou způsobovat jiné neviditelné škodlivé mutace.

2.1.2.8 Značení stopovými prvky

Tato technika byla vyvinuta v roce 1970 jako alternativa ke značení radioaktivními izotopy. Stopové prvky byly úspěšně použity ke značení nejméně osmi řádů a třiceti čeledí hmyzu,

klíšťat a pavouků. Nejčastěji je značení prováděno prvky jako stroncium, rubidium, cesium, hafnium, iridium a mangan. Pro hmyz je nejfrekventovanějším stopovým prvkem rubidium, především ve formě chloridu rubidného (RbCl).

Při této metodě lze využít možnosti jak vnějšího, tak vnitřního značení hmyzu. Vnější značení probíhá buď formou nastříkání látky s daným prvkem na dospělého jedince, nebo formou smáčení kukel ve značícím roztoku. Výhodou je efektivnost a snadnost značení. Vnitřní značení pomocí potravy obsahující stopový prvek, patří k nejobvyklejším technikám při značení hmyzu chovaného v laboratořích i odchyceného v terénu. Například larvy komárů byly označeny přidáním RbCl do vody, ve které byly chovány.

Jinou možností je označení býložravého hmyzu prvky, jako je rubidium, cesium nebo stroncium, za pomoci hostitelské rostliny. Ta musí být ovšem také označena, kupříkladu postříkáním listů vodným roztokem obsahujícím jmenované stopové prvky. Postupným požíváním takovéto rostliny v sobě fytofágní jedinci hromadí detekovatelné množství určitého prvku. Tento typ značení je užitečný také pro studie zabývající se pářením. Například samci makadlovky bavlníkové (*Pectinophora gossypiella*), černopásky (*Helicoverpa virescens*) a blýskavky červivcové (*Sodoptera exigua*), kteří byli označeni krměním potravou obsahující RbCl, přenesli svoji značku díky spermatoforům na neoznačené samice během páření.

Stopové prvky patří k několika málo značkám vhodných i pro malé parazitoidy. Brvuška *Anaphes iole* byla úspěšně označena rubidiem z vajíček dospělých jedinců klopušky *Lygus hesperus*, kteří byli krměni potravou s dávkou RbCl.

Značení stopovými prvky je bezpečné pro přírodu i pro badatele, protože se nejedná o radioaktivní materiály. Navíc neovlivňují vzhled jedince, a tedy ani jeho vztahy s ostatními živočichy. Z hlediska trvanlivosti je vhodné i pro dlouhodobé studie. Zjišťování stopových prvků je ovšem náročné na čas a také nákladné, neboť je pro analýzu zapotřebí speciálních zařízení. Stejnou stránkou jsou i vysoké koncentrace prvků, které mohou nepříznivě ovlivňovat přežívání, vývoj a plodnost určitých druhů hmyzu. Již zmíněné brvušky (*A. iole*) vyvinuté z vajíček klopušky *L. hesperus*, krměných potravou s obsahem 1000 ppm RbCl, měly kratší délku života a nižší plodnost než ty, které se vyvinuly z vajíček *L. hesperus*, krměných potravou s nižší dávkou prvku (500 ppm RbCl).

V současnosti se zkoumají tyto metody týkající se značení hmyzu:

2.1.2.9 Značení proteiny

Pomocí této techniky je hmyz označen proteiny specifickými pro obratlovce. Jejich přítomnost je poté prokázána díky typickým protilátkám, k jejichž důkazu se využívá testu ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). Existuje mnoho způsobů, jak může být hmyz označen proteiny. Pro robustnější druhy je vhodné jednoduché rozpuštění proteinu ve vodě a následné rozprašení směsi s využitím obvyklých rozprašovacích zařízení. K aplikaci proteinu na extrémně malé a citlivé parazitoidy byl použit nebulizátor. Jedná se o levný lékařský přístroj produkující jemnou mlhu, která nepoškozuje či nezabíjí značené jedince. Prvně byla tímto způsobem označena pomocí králičího imunoglobulinu G (IgG) klopuška (*Lygus hesperus*).

Retence proteinových značek na dospívajícím jedinci, který prochází různými životními stádii, je variabilní. Předběžné studie byly prováděny na prvním instaru makadlovky bavlníkové (*Pectinophora gossypiella*), která byla krmena potravou obsahující králičí imunoglobulin G. Výsledky ukázaly, že detekovatelné stopy proteinu zůstaly v těle během larválního stádia, stejně jako ve stádiu kukly. Ovšem v dospělosti již nebyly zachyceny žádné stopy po proteinové značce.

Experimenty v terénu ukazují, že proteiny obratlovců používané ke značení hmyzu jsou trvalé, stálé na světle a odolné proti vodě. Další výhodou představuje samotné vyhodnocování pomocí ELISA analýzy, která je bezpečná, jednoduchá, rychlá a citlivá. Současně laboratorní zařízení pro provádění této analýzy je levné a snadno dostupné. Tato metoda je však relativně nová, je tedy nutné provést mnohé další experimenty, aby bylo možno posoudit její využití a platnost.

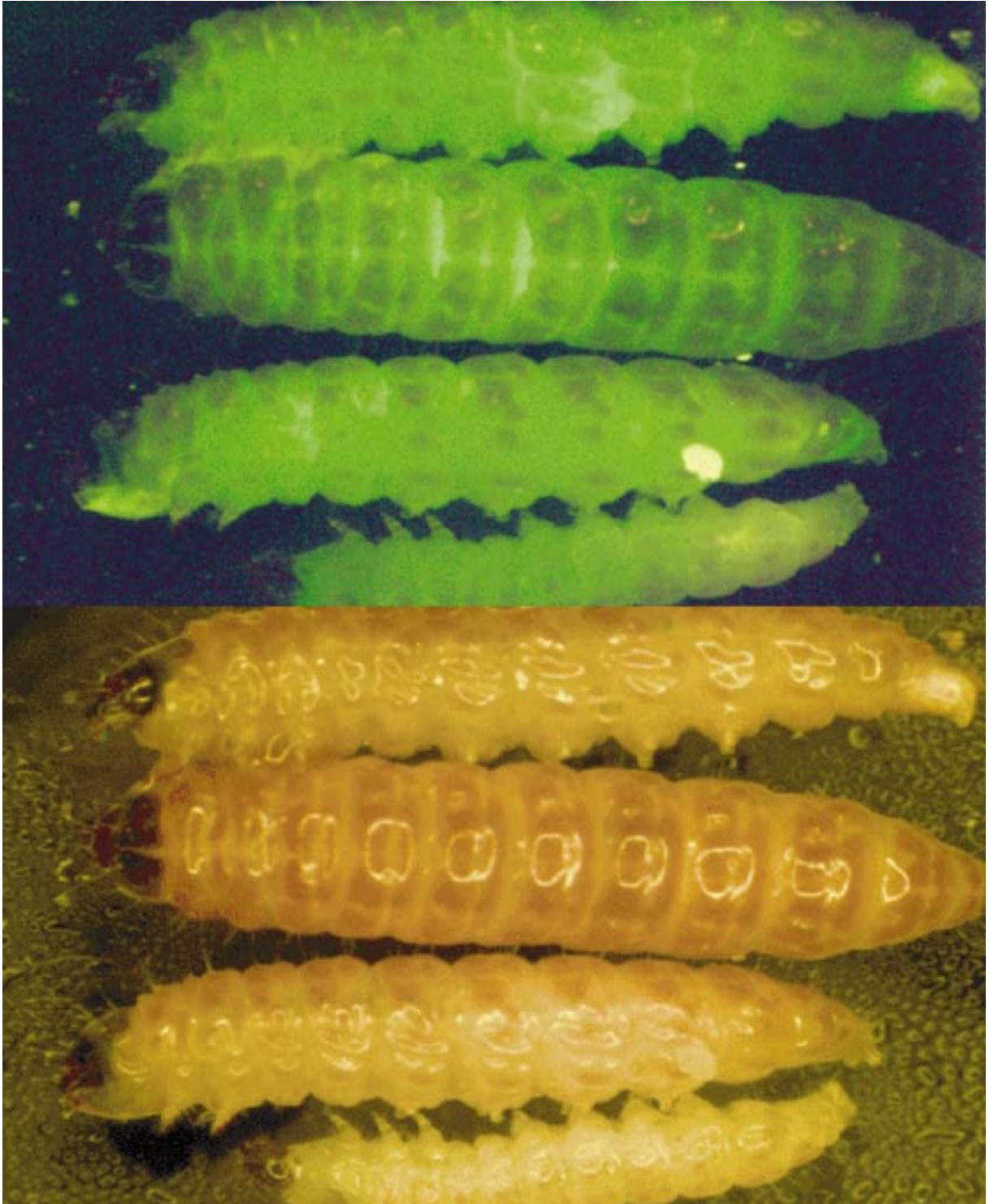
2.1.2.10 Značení geneticky modifikovanými elementy

System přenosu genů využívající transponovatelné elementy jako jsou například: „*hobo*“, „*Hermes*“ či „*piggyBac*“, byl úspěšně použit k dosažení genetické změny hmyzu pro různé účely.

Transponovatelné elementy nesoucí zelený fluorescenční protein (GFP) byly v současnosti použity v celé řadě studií. Tento protein, který je specifický pro medúzu (*Aequorea victoria*) byl objeven již před půl stoletím. Ohromující vlastností GFP je jeho přirozená fluorescence

pod ultrafialovým zářením (Obr. 4). V minulých letech byly provedeny tisíce studií, které využívají značení prokaryotických a eukaryotických buněk pomocí GFP. Tento protein může být detekován například díky spektrofluorometru, nebo za pomoci polymerázové řetězové reakce (PCR).

Tato metoda má obrovský potenciál pro budoucí „mark-release-recapture“ experimenty. Ovšem ještě musí být odstraněny mnohé nedostatky, aby tento způsob byl uznán jako užitečný pro značení hmyzu. Jedním z nich je, že zatím byla tato technika úspěšně použita pouze na úzké spektrum druhů hmyzu, a to na několik druhů dvoukřídlých a motýlů. Jiným problémem je, že etické předpisy příkazují důkladnou kontrolu geneticky pozměněných jedinců před jejich vypuštěním do prostředí.



Obr. 4. Larvy makadlovky bavlníkové (*Pectinophora gossypiella*) označené zeleným fluorescenčním proteinem (GFP). Na spodním obrázku jsou larvy osvětleny bílým světlem, na horním obrázku jsou osvětleny UV světlem.

Převzato z Hagler & Jackson (2001).

2.1.3 Výběr vhodného způsobu značení

Rozmanitost značení je dána jednak odlišnou velikostí hmyzu, jejich různými zvyky a lokalitami výskytu, jakožto i různými požadavky badatelů. Neustále také stoupá počet materiálů potencionálně vhodných pro značení. Problém tedy není v nedostatku funkčních materiálů, ale v tom, najít ten nejkvalitnější, který by v sobě kombinoval následující vlastnosti (Walker & Wineriter, 1981).

Trvanlivost – materiál musí odolávat obrušování a opotřebení po celou dobu experimentu.

Přilnavost – materiál nesmí mít tendenci se odlepovat či odlamovat z označeného jedince.

Nezávadnost – ani materiál, ani jeho rozpouštědlo použité k aplikaci, by nemělo zabít či trvale změnit chování daného hmyzu.

Snadnost aplikace - záleží jak na aplikátoru, kterým se značení provádí, tak na materiálu. Důležitost této vlastnosti stoupá se vzrůstajícím počtem jedinců, kteří mají být ve studii označeni.

Rychlé schnutí – při použití určitých materiálů je nutno hmyz nějakou chvíli po aplikaci držet, aby nedošlo například k rozmazání či nedostatečnému přilnutí. Proto nejsou pomalu usychající materiály praktické.

Lehkost – kvůli malé velikosti některých druhů hmyzu, například komárů, se váha použité značky ukazuje jako velmi důležité kritérium.

Dostupnost v několika snadno rozeznatelných barvách – v mnoha případech je potřeba více než jedné barvy, aby mohl být vytvořen dostatek unikátních značek.

Neviditelnost vyjma badatele – v ideálním případě by značka měla být neviditelná pro všechny, mimo experimentátora. Tento požadavek souvisí především se vztahem k predátorům, avšak bývá dodržován jen velmi zřídka.

Hagler & Jackson (2001) k již zmíněným vlastnostem navíc přidávají *cenovou dostupnost*.

Mezi materiály, které byly úspěšně použity na individuální značení hmyzu, patří barvy (například umělecké oleje, glazura, tempery, akrylové barvy), laky (lak na nehty, nitrocelulózový lak, butyrátový lak) a inkousty (indický inkoust, trvalý inkoust v perech používaných ke značení). Hlavní předností tohoto značení je jeho nízká cena a relativně snadná aplikace. Ta je ovšem časově velmi náročná. Problémem je také to, že značka kvůli svlékání hmyzu přetrvá pouze jedno životní stádium (Hagler & Jackson, 2001).

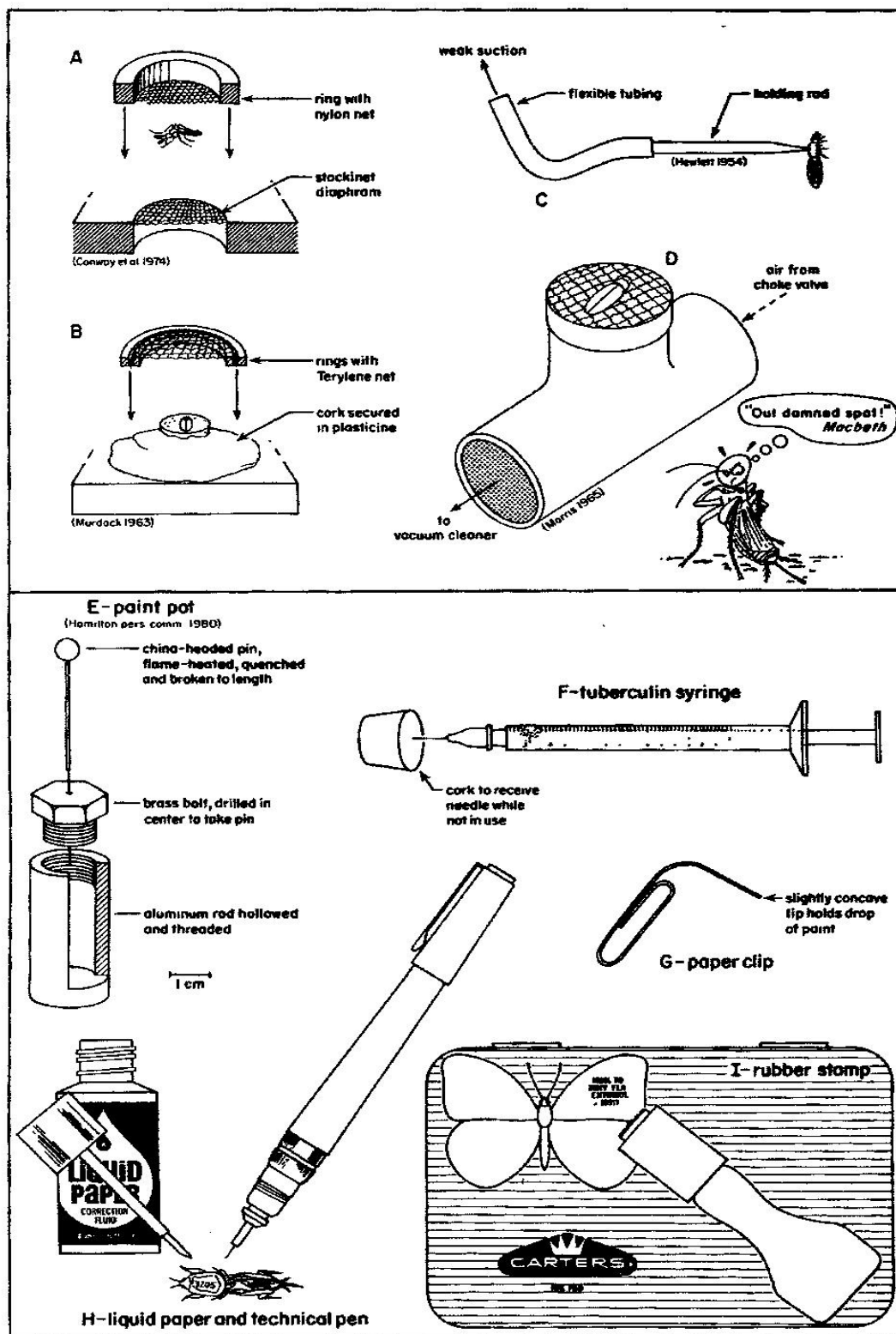
2.1.4 Metody aplikace přímého značení

Walker & Wineriter (1981) zdůrazňují, že stejně důležité jako správný výběr materiálu, jsou i techniky použité pro aplikaci značky. Není snadné držet hmyz během značení pevně a přesto bez poranění. Proto mohou být využita různá zařízení usnadňující práci. Fungují například na principu nasávání vzduchu nebo síťoviny, skrz jejíž oka je aplikována značka (Obr. 5 A-D). Ochlazení hmyzu (např. jeho umístěním v ledem naplněné termosce), je zřejmě bezpečnější, než použití etheru nebo oxidu uhličitého. Toto znečistlivění hmyzu pomocí anestezie je nevhodné kvůli možnému efektu na jeho fyziologii a chování.

Dalším podstatným kritériem při výběru aplikátoru je minimální velikost bodu, který lze udělat neporušeně. Následující seznam je uspořádaný od nejvíce vyhovujícího aplikátoru sestupně: samostatná štětina, jemný špendlík¹, entomologický špendlík, technické pero, hlavička tenkého špendlíku, stonek trávy, jehličí ze stromu, injekční stříkačka, sponka na papír, tyčka od štětce, pero na značení, razítko (Obr. 5 E-I).

Velmi důležitá, avšak obtížně udržitelná, je také správná viskozita aplikovaných materiálů. Pokud je příliš nízká, materiál se může snadno pohybovat po těle hmyzu, zasáhnou jeho smyslové oblasti a tím zvýšit působení často toxického roztoku na značeného jedince. Naopak pokud je příliš vysoká, materiál přilne na hmyz pouze slabě a vytvoří z profilu vysokou tečku či čárku, která zvyšuje pravděpodobnost odloupení značky.

¹ v originále „minutin pin“



Obr. 5. Zařizení usnadňující držení hmyzu (A-D) a techniky značení (E-I). Převzato z Walker & Wineriter (1981).

2.1.5 Kódovací systém

Podle Walker & Wineriter (1981) existují čtyři základní požadavky na vytvoření systému kódů při individuálním značení:

- a) Dostatek unikátních značek – je zřejmé, že systém kódů pro identifikaci tisíců jedinců musí být mnohem složitější než systém pro studium stovek jedinců. Výhodou je také možnost rozšíření zvoleného kódování, například přidáním další barvy, pokud si experiment vyžádá zvýšení počtu značeného hmyzu.
- b) Snadné použití značení – aplikace je usnadněná jak tím, že lze značku lehce držet, tak použitím pouze jedné barvy na každého jedince. Více barev při značení jednotlivce proces značně komplikuje z důvodu výměny aplikátoru při každé změně barvy. Jedná-li se o tvar značky, je obecně jednodušší udělat dvě tečky, než třeba jednu hvězdu či trojúhelník.
- c) Jednoduché přečtení a vyjádření slovy – pokud může být značka viděna celá najednou a rychle přeložena do několika málo slov, je pak záznam mnohem jednodušší.
- d) Zajištění proti chybné identifikaci – jedním z nejvýznamnějších problémů, které mohou nastat při studiích požadujících rozeznání jednotlivců je, že jedna značka je z nějakého důvodu mylně považována za jinou. To se může stát například částečnou ztrátou písmen, čísel či teček ze značky. Pokud ale každá značka má stejný počet složek, chybné identifikace lze zabránit. Například kód 364 se nemůže změnit na 36 díky ztrátě čísla 4, jestliže jedinec se značkou 36 je kódován jako 036.

2.1.6 Trvanlivost materiálů vhodných pro značení hmyzu

Problematikou týkající se trvanlivosti materiálů, které mohou být použity k individuálnímu značení hmyzu, se zabývali Walker & Wineriter (1984). Ve své studii provedli rozsáhlý průzkum materiálů vhodných pro dlouhodobé sledování jedinců. Testovali trvanlivost 26 materiálů a to na třech vybraných druzích hmyzu. Druhy byly zvoleny pro jejich odlišnou velikost, tělní povrch a lokality výskytu. Jedná se o cvrčka - *Gryllus rubens*, což je hmyz střední velikosti, s hladkým a lesklým pronotem, žijící v hrabance. Dále je to krtonožka - *Scapteriscus acletus*, která je velikostně nadprůměrná, má ochlupené pronotum a obývá

podzemní tunely. Posledním druhem je potemník hnědý - *Tribolium castaneum*, hmyz malé velikosti, s lesklým a mastným pronotem, žijící v obilných produktech.

V této studii byly srovnávány běžně dostupné materiály, které by mohly být vhodné pro značení. Značení hmyzu probíhalo následovně. Různými materiály byla aplikována tečka do všech čtvrtin pronota pěti mladých dospělců každého druhu (20 teček/materiál/druh). Systém kódujících teček byl vybrán pro jeho snadnost použití a porozumění. Materiály byly aplikovány několika způsoby. Hrotem špendlíku byli značeni potemníci hnědí, zlomenou ostrou špičkou dřevěné tyčinky cvrčci polní a tupým koncem dřevěné tyčinky krtonožky obecné. Každý druh označených jedinců byl umístěn do zvláštního boxu s příslušnou potravou. V jednotýdenních intervalech byla potrava doplňována a u hmyzu bylo kontrolováno částečné nebo úplné zmizení značek a mortalita. Kontroly pokračovaly, dokud nezmizelo více jak padesát procent značek na žijícím hmyzu, nebo dokud všichni hmyz neuhynul.

Výsledná data byla analyzována dvěma hodnotícími systémy. První systém určoval, které materiály by pravděpodobně zůstali držet na hmyzu i během jejich dospělého života. Druhý systém sledoval, pokud se značky ztratily, jestli se tak stalo postupně, nebo zmizely všechny najednou.

Přesné výsledky u všech testovaných materiálů uvádí Walker & Wineriter (1984) ve svém článku. Obecně, materiály rozpustné ve vodě držely špatně, na rozdíl od materiálů ve vodě nerozpustných, které byly trvanlivější. Zároveň mnohem lépe přilnuly materiály na ochlupené pronotum krtonožky, než na hladké či mastné pronotum ostatních dvou druhů. Z osmnácti ve vodě nerozpustných materiálů, jen jediný, „*Tech-Pen Ink*“, byl úspěšný při značení všech tří druhů hmyzu. Pouze u potemníka hnědého nebyl výsledek stoprocentní, ale pro tento druh nebyl nalezen žádný materiál, odpovídající požadavkům této studie.

2.1.7 Technika značení laserem

Griffiths et al. (2001) uvádí, že limitujícím faktorem pro použití technik individuálního značení je často jeho obtížnost při velkém počtu jedinců. Proto ve své studii představili rychlou techniku, kdy za pomoci laseru označili jedince unikátním kódem (Obr. 6). Synrad Fenix Laser, široce používaný ve strojírenství, byl vybrán ke značení krovek střevlíčka

obecného (*Pterostichus melanarius*). Kód s textem o výšce 1.5 mm byl laserem vypálen na krovky. Při práci byl laser kontrolován počítačovým softwarem WinMark. Maximální rychlost značení byla 180 znaků za sekundu.

Pro určení efektu laseru na střevlíčky byly sledovány skupiny označených i neoznačených jedinců po dobu 4 týdnů v laboratorních podmínkách. Za tuto dobu žádný jedinec svoji značku neztratil. Ještě po třech měsících od začátku experimentu byly kódy jasně patrné. Úmrtnost byla shodná v označených i neoznačených skupinách. Tato technika značení se tedy zdá neškodná pro střevlíčka obecného a pravděpodobně bude neškodná také pro další členovce s tvrdými krovkami či silně sklerotizovaným exoskeletem. Použití laseru ke značení tak nabízí možnost značit trvale, rychle, unikátně a hlavně masově. Kompletní systém nutný k této metodě, včetně počítačového softwaru, však stojí přibližně 15 tisíc dolarů.



Obr. 6. Značení střevlíkovitých brouků (*Carabidae*) laserem.

Převzato z Griffiths et al. (2005).

2.2 Individuální značení semiakvatických ploštic

Přestože semiakvatické ploštice (Heteroptera: Gerromorpha) byly v terénu mnohokrát značeny a odchytávány během mnoha výzkumů, individuálních značení bylo nepoměrně méně. Přitom studium ekologie některých druhů tohoto taxonu ukázalo potřebu použití individuálního značení (viz Ditrich & Papáček, 2009).

Jednou z mála individuálně značených semiakvatických ploštic byla bruslačka *Aquarius remigis*, kterou individuálně značila Fairbairn (1985) ve své studii zkoumající teorii o protiproudém pohybu vodních ploštic. Zabývala se ověřením hypotézy, zda dospělí bezkřídlí jedinci *A. remigis* mají tendenci rozšiřovat se přednostně proti proudu potoka, jak předpovídá teorie shrnutá v Mullerovi (1982). Ten formuloval hypotézu, že dospělý vodní hmyz má tendenci pohybovat se proti proudu a vyrovnávat tak neustálý drift larválních stádií, stejně jako kukel, po proudu potoka. Tento cyklus označil jako kolonizační cyklus. Současné studie taktéž prokazují statisticky významné preference dospělců vodního hmyzu k protiproudému pohybu. Tento směr pohybu je pozorován například u jepic, chrostíků, muchniček či pošvatek.

Fairbairn (1985) provedla experiment na malém horském potoku protékajícím javorobukovým lesem. Potok je přibližně 1,5 km dlouhý a šířka se pohybuje od 0,5 m do 8 m, v místě, kde se potok vlévá do jezera. Potok je tvořen peřejemi a tůňkami, maximální rychlost toku je 130 L/s. *A. remigis* přečkává zimu v dospělém stádiu, takže na jaře je generace tvořena reprodukčně aktivními jedinci. Na začátku srpna jsou pak tito jedinci nahrazeni nově narozenou letní generací. Ta po určité době potok opouští za účelem diapauzy. Cílem popisovaného výzkumu tedy bylo stanovit jednak vzdálenost migrace a jednak směr pohybu dospělých jedinců podél horského potoka.

První část experimentu byla navržena tak, aby se mohl sledovat pohyb označených jednotlivců během roku. Za tímto účelem byl stanoven 100 metrový úsek potoka ve střední oblasti, který byl rozdělen na deset 10 metrových sektorů. Všichni jedinci odchycení v této oblasti během roku 1983 byli individuálně označeni pomocí látky „Testor“ systémem dorzálních bodů a zpětně vypuštěni. Odchyty byly prováděny pomocí ručních sítí jednou týdně, od dubna do poloviny listopadu a pak opět od dubna.

Druhá část experimentu je založena na porovnání rekolonizace spodních a horních oblastí potoka. Podle základní hypotézy by největší rychlost kolonizace horních oblastí měla

převládat během periody, kdy převažují dospělí pohlavně zralí jedinci, zejména samice. Zatímco kolonizace spodních oblastí by měla nastávat především v období vývoje nymf a zrání jedinců. V rámci ověření této teorie byly stanoveny dvě oblasti. Jedna spodní, 40 metrů dlouhá, vzdálená asi 50 metrů od jezera a druhá horní, vzdálená asi 1,26 kilometru od jezera. Jedinci z těchto dvou oblastí byli označeni stejným způsobem, jako popisuje první část pokusu.

Výsledky této studie jasně ukázaly, že přezimující jedinci se pohybují více a dále než jedinci narození v létě. Srovnávání zjištěných hodnot probíhalo za použití statistického „Mann-Whitney“ U testu a χ^2 testu. U přezimující generace je frekvence rozdělení mezi spodní a horní oblast velmi podobná, výsledek nebyl průkazný ($P > 0,50$). Navíc ani podíl migrujících jedinců, ani střední vzdálenost migrace významně nezávisí na směru. Naproti tomu rozdělení migrace u letní generace signifikantně závisí na směru ($P < 0,05$). Současně platí, že významně více jedinců se pohybuje proti proudu a tito se zároveň pohybují dále než jedinci migrující po proudu (Tab. I).

Tab. I. Přehled směru pohybu generací *A. remigis* (upraveno podle Fairbairn (1985)).

	Směr pohybu – po proudu	Směr pohybu – proti proudu	Hladina významnosti
Přezimující generace (1983)			
• Počet migrujících jedinců	57	66	$P > 0,10$
• Podíl migrujících jedinců	46,3 %	53,7 %	
• Střední vzdálenost migrace [m]	43,3	49,6	$P > 0,20$
Letní generace (1983)			
• Počet migrujících jedinců	29	51	$P < 0,025$
• Podíl migrujících jedinců	36,3 %	63,8 %	
• Střední vzdálenost migrace [m]	13,8	22,8	$P < 0,05$

Střední vzdálenost migrace stejně jako podíl pohybujících se jedinců se mezi pohlavími významně neliší a to u obou generací (Tab. II). Mezi migrujícími jedinci přezimující generace se 53,1 % samců a 54,2 % samic pohybovalo směrem proti proudu. Tento poměr se

signifikantně neliší od očekávaných 50 % ($P > 0,50$ pro samce a $P > 0,40$ pro samice). U letní generace se poměr samic pohybujících se proti proudu (71,1 %) významně liší od očekávaných 50 % ($P < 0,005$), zatímco poměr samců (54,3 %) se neliší ($P > 0,50$).

Tab. II. Přehled pohybu samců a samic *A. remigis* obou generací.
(upraveno podle Fairbairn (1985))

	Pohyb samců	Pohyb samic	Hladina významnosti
Přezimující generace (1983)			
• Počet migrujících jedinců	72	73	$P > 0,50$
• Podíl migrujících jedinců	88,9 %	80,8 %	
• Průměrná vzdálenost migrace na jedince [m]	39,7	39,2	$P > 0,50$
Letní generace (1983)			
• Počet migrujících jedinců	106	111	$P > 0,10$
• Podíl migrujících jedinců	33 %	40,5 %	
• Průměrná vzdálenost migrace na jedince [m]	4,6	9,6	$P > 0,10$

Z 367 jedinců letní generace označených během roku 1983 jich bylo znovu odchyceno 122 na jaře roku 1984. Pouze 36,1 % z nich bylo zpětně odchyceno dále jak deset metrů od jejich posledního místa výskytu a 34,4 % se přes zimu nepohybovalo vůbec. Z toho vyplývá, že diapauza souvisí s relativně malým pohybem u většiny jedinců. Během zimního období převažuje pohyb směřující po proudu, což platí jak pro samce, tak pro samice.

Experiment založený na rekolonizaci spodních a horních oblastí potoka ukázal, že v jarním období převažuje počet imigrantů v horních oblastech. Tito jedinci jsou nejpočetnější v měsíci květnu, tedy na začátku reprodukční sezóny. Naproti tomu hustota imigrantů ve spodních oblastech potoka byla největší uprostřed léta a zůstala vysoká i během období vzniku nové letní generace.

Tato studie ukázala jednak, že pohyb jedinců *A. remigis* proti proudu potoka je charakteristický pro předreprodukční, sexuálně nezralé jedince. Dále bylo prokázáno, že samci i samice vykazují podobné rysy týkající se pohybu po potoce. A v neposlední řadě bylo

zjištěno, že mírná převaha protiproudního pohybu (pokud přítomna), je způsobena spíše vzdáleností migrace než počtem migrantů.

Fairbairn & Butler (1990) zkoumali migrační schopnosti tří druhů vodních ploštic (*L. dissortis*, *Gerris comatus* Drake a Hootes, *Gerris buenoi* Kirkaldy) v přírodních podmínkách (Tab. III).

Tab. III. Hlavní charakteristiky bruslařek *L. dissortis*, *G. comatus* a *G. buenoi*.
(upraveno podle Fairbairn & Butler (1990))

Znak	<i>Limnopus dissortis</i>	<i>Gerris comatus</i>	<i>Gerris buenoi</i>
Křídelní morfy	monomorfní makropterní	sezónně dimorfní	sezónně polymorfní
Minimální % LW	100	70*	23*
Fenologie	převážně jednogeneační	částečně dvougeneační	převážně dvougeneační
Střední letová hranice #	2,9	6,1	7,9
Histolýza letových svalů v %	0	< 6	46,7

* redukce křídel nastává pouze v letní generaci

stupnice 0 - 10; 0 = samovolný let, 10 = žádný let (post-diapauzní dospělí jedinci)

Všechny tři druhy se vyskytují na samostatných lokalitách a je tedy u všech předpokládána letová migrace. Otázkou je, zda platí zdánlivě logický předpoklad, že míra migrace/disperze stoupá s podílem letuschopných individuí v populaci. Podle této hypotézy, která je tímto experimentem testována, se očekává největší migrační tendence u LW *L. dissortis* a naopak nejmenší u LW *G. buenoi*. Hypotéza je testována ve vztahu ke čtyřem aspektům podílejícím se na migraci v přírodních podmínkách: 1. vzdálenost migrace, 2. podíl migrantů, 3. časový model pohybu, 4. využití přechodných lokalit k migraci.

Studie se uskutečnila v arboretu na ploše 2 km², obsahujícím javoro-bukové lesy, hospodářské plochy a louky. Bylo vybráno 21 samostatných vodních lokalit, z nichž byly čtyři stálé rybníky, jeden lom a zbylá místa byla tvořena buď kalužemi, nebo příkopy. Na každé lokalitě

probíhalo vzorkování jednou týdně, od dubna do října roku 1986 a pak od března do června roku 1987. Odchyt probíhal pomocí ručních sítí a nafukovacího gumového člunu. Všichni dospělí jedinci byli individuálně označeni látkou „Testor“ za použití schématu upraveného podle Fairbairn (1985) a poté byli vypuštěni zpět. Takto bylo označeno přes 10 000 jedinců.

Fairbairn & Desranleau (1987) zjistili, že se letové hranice a histolýza letových svalů mění sezónně. Navíc mnoho autorů uvádí převládání migrace v post-diapauze u rodu *Gerris*. Proto byla v této studii rozlišena generace přezimujících, post-diapauzních jedinců od generace pre- a non-diapauzních jedinců, jež byla označena jako letní generace.

Získané výsledky byly vyhodnocovány za pomoci statistických testů (χ^2 test a neparametrické: „Kruskal-Wallis“ ANOVA a „Mann-Whitney“ *U* test). Průměrná vzdálenost migrace se signifikantně nelišila mezi zkoumanými druhy a to jak u post-diapauzních jedinců (1986: $P > 0,25$; 1987: $P > 0,25$), tak u letní generace ($P > 0,20$). Tedy hypotéza, která předpokládala největší vzdálenost migrace u *L. dissortis* a nejmenší u *G. buenoi*, se nepotvrdila. Během výzkumu bylo pouze 23 % *L. dissortis*, 24 % *G. comatus* a 23 % *G. buenoi* odchyceno alespoň jednou a to především z důvodu predace ať již bezobratlými, nebo obratlovci (zejména čolky a žábami). Vzájemné srovnání u post-diapauzní generace naznačuje, že *G. buenoi* se pohybovala během obou let méně než *G. comatus*. U *L. dissortis* byl zjištěn signifikantně větší pohyb než u *G. buenoi* v roce 1986 a pro oba roky společně. Rozdíly však byly signifikantní jen při použití jednostranného testu, jejich významnost je tedy sporná. Pro samostatný rok 1987 byl rozdíl neprůkazný. Nutno však podotknout, že počet znovu odchycených jedinců *L. dissortis* byl nedostatečný (5 v každé generaci), síla statistického testu byla tedy velmi nízká. I přesto data podporují hypotézu, že LW *G. buenoi* migruje nejméně ze zkoumaných tří druhů. Avšak nepotvrdila se očekávání, že *L. dissortis* migruje více než *G. comatus*. Nicméně tato post-diapauzní generace se signifikantně pohybuje více, než letní generace a to u všech tří druhů. Přesun mezi stanovišti během zimy byl potvrzen u 33 % odchycených jedinců ($n = 69$) *G. buenoi*. U zbývajících dvou druhů byla frekvence přesunu mnohem vyšší (100 %), znovu odchycen byl však pouze jeden, respektive tři jedinci.

Dále bylo zjištěno, že všechny tři druhy migrují primárně v dubnu. Rozdíly mezi druhy jsou tak patrné pouze v tuto dobu. Podíly migrujících jedinců v dubnu jsou pro *L. dissortis* = 42 %, pro *G. comatus* = 27 % a pro *G. buenoi* = 14 %. Migrace u pre- a non-diapauzní generace byla vzácná, nicméně pohyb byl zaznamenán u obou druhů *Gerris* v červenci, srpnu, září a říjnu. Nebyl ovšem objeven náznak převahy migrace v některém z těchto měsíců.

Na přechodných lokalitách se signifikantně lišil podíl odchycených jedinců jednotlivých druhů a to jak na jaře 1986, tak na jaře 1987 (1986: $P < 0,001$, 1987: $P < 0,001$). Podle očekávání byla *G. comatus* během obou let více běžná na přechodných lokalitách než *G. buenoi*. Podíl odchycených jedinců *L. dissortis* byl v roce 1986 signifikantně menší než u *G. comatus* i *G. buenoi*. Naproti tomu v roce 1987 byla *L. dissortis* více častá na přechodných místech než *G. buenoi* a zároveň se nelišila od *G. comatus*.

Získané výsledky částečně potvrdily hypotézu, že migrační tendence LW jedinců pozitivně souvisí s podílem LW v populaci. Srovnáním podílu migrantů byl nalezen signifikantní rozdíl mezi *G. buenoi* a *G. comatus*. Post-diapauzní jedinci *G. buenoi* se během obou jarních období i během zimy pohybovali méně a současně byli i méně běžní na přechodných lokalitách. Taktéž se *G. buenoi* pohybovala méně než *L. dissortis*. Tedy teorie, že LW *G. buenoi* bude mít nejmenší migrační tendence ze zkoumaných tří druhů, se prokázala. Ovšem oproti očekávání nebyl nalezen žádný náznak významně větší migrační tendence u *L. dissortis*. Tohoto druhu však bylo znovu odchyceno vždy poměrně málo jedinců (většinou méně než 10), a z tohoto důvodu nelze formulovat definitivní závěry.

3 Materiál a metodika

Pro metodu individuálního značení semiakvatických ploštic byly vybrány nejhojnější druhy ve střední Evropě. *Aquarius paludum* Fabricius, 1794, *Gerris lacustris* Linnaeus, 1758, *Limnopus rufoscutellatus* Latreille, 1807 (Gerridae) a *Velia caprai* Tamanini 1947 (Veliidae). Druh *V. caprai* je téměř výhradně apterní = AP (Ditrich et al., 2008). *L. rufoscutellatus* je druhem makropterním = MP (Vepsäläinen, 1973), *A. paludum* a *G. lacustris* jsou křídelně polymorfni, tedy jak makropterní, tak brachypterní = BP (Brinkhurst, 1959). Velikost jednotlivých druhů je uvedena podle Savage (1989). *V. caprai* dosahuje délky 6 – 8 mm, *L. rufoscutellatus* 13 – 17 mm, *A. paludum* 14 – 16 mm, *G. lacustris* 8 – 10 mm. Andersen (1982) a Coulianos et al. (2008) popisují další charakteristiky zkoumaných druhů. *V. caprai* je jednogenerační druh, který se nejčastěji vyskytuje na čistých tekoucích vodách, jako jsou potoky a malé řeky. Najdeme ji ale i na stojatých vodách. Často se zdržuje v koloniích. *L. rufoscutellatus* je druhem jednogeneračním, nachází se na stojatých vodách malého rozsahu, nebo na pomalu tekoucích vodách s hustou vegetací. *A. paludum* je částečně dvougenerační, vyskytuje se taktéž na stojatých vodách, ale spíše v jejich otevřených oblastech bez vegetace a dále od břehu. *G. lacustris* je dvougeneračním druhem. Preferuje stojaté vody, jako jsou rybníky nebo kaluže s hustším pokryvem vodní plochy vegetací.

3.1 Technika značení

Na začátku experimentu byla testována metoda individuálního značení podle Pipera (2003), která je založena na použití štítků, jež byly lepeny na pronotum mandelinky (*Cryptocephalus coryli*). Štítky byly značeny kódem (kombinací písmena a čísla, font č. 2) a nakonec přetřeny bezbarvým lakem. Tato metoda značení ale na bruslačkách *A. paludum* a hladinatkách *V. caprai* neuspěla, štítky nedržely (Ditrich, nepublikovaná data). Bylo tedy nutné vyzkoušet určité modifikace na získání nové metody umožňující individuální značení semiakvatických ploštic.

První modifikace byla založena na použití štítků ze samolepícího papíru, označených kódem. Štítek byl stejně jako u Pipera (2003) následně přetřen bezbarvým lakem, aby se zvýšila trvanlivost kódu. Pro pokus byla zvolena hladinatka *V. caprai*. Ani při této změně nebyl

zaznamenán pozitivní výsledek, štítky byly nečitelné a na pronotu nedržely (Ditrich, nepublikovaná data).

Druhá modifikace již nevyužívala samolepícího papíru, ale byl použit papír fotografický (Xerox „COLOTECH paper“, 90g/m²). Na něj byla vytištěna kombinace čísla a písmena (Canon IR2018) fontem č. 2 pro *G. lacustris*, *V. caprai* a *L. rufoscutellatus* a fontem č. 3 pro *A. paludum*. Nůžkami byl pak vystřižen co nejmenší štítek (Obr. 7, 8). U každého jedince se nejprve přetřelo pronotum bezbarvým lakem. Poté se štítek za pomoci ostré jehly umístil na nejvhodnější místo a znovu se přetřel lakem. Takto označeného jedince bylo nutné ještě cca 10 sekund držet v ruce, aby nedošlo k posunutí nebo odtržení štítku.



Obr. 7. *Gerris lacustris* – označený a neoznačený jedinec. Foto T. Ditrich.



Obr. 8. *Velia caprai* – označený jedinec. Foto T. Ditrich.

3.2 Test přežívání

Cílem tohoto testu bylo určit, zda štítky použité ke značení ovlivňují mortalitu označených jedinců, oproti jedincům kontrolním. Zároveň s testováním přežívání byly sledovány a zaznamenávány reprodukční projevy (kopulace, ovipozice). Test přežívání probíhal ve vnitřních prostorách, v šesti akváriích o rozměrech 35 x 70 cm (*G. lacustris*, *A. paludum*) a 20 x 30 cm (*V. caprai*). Výška vody v akváriích byla cca 5 cm a voda byla po čtyřech dnech měněna. Kontrolní a označení jedinci každého druhu byli umístěni do samostatných akvárií. Počty označených jedinců a kontrolních neoznačených jedinců zkoumaných druhů jsou

uvedeny v tabulkách (Tab. IV - VI). Odchyt jedinců pro tento pokus byl proveden v jižních Čechách.

Tab. IV. Označení a kontrolní neoznačení jedinci *G. lacustris*.

označení jedinci <i>G. lacustris</i>	neoznačení jedinci <i>G. lacustris</i>
10 ♀♀ (6 MP, 4 BP)	10 ♀♀ (2 MP, 8 BP)
10 ♂♂ (6 MP, 4 BP)	10 ♂♂ (6 MP, 4 BP)

Tab. V. Označení a kontrolní neoznačení jedinci *A. paludum*.

označení jedinci <i>A. paludum</i>	neoznačení jedinci <i>A. paludum</i>
10 ♀♀ (6 MP, 4 BP)	10 ♀♀ (4 MP, 6 BP)
10 ♂♂ (6 MP, 4 BP)	10 ♂♂ (5 MP, 5 BP)

Tab. VI. Označení a kontrolní neoznačení jedinci *V. caprai*.

označení jedinci <i>V. caprai</i>	neoznačení jedinci <i>V. caprai</i>
10 ♀♀	10 ♀♀
10 ♂♂	10 ♂♂

Experiment probíhal po dobu 14 dní v červnu roku 2008. Krmení bylo zajištěno denně octomilkami (*Drosophila melanogaster*) *ad libitum*. V každém akváriu byly umístěny 2 – 3 kousky polystyrénu, pro možnost uchycení vajíček. Kontrola stavu probíhala každý den. Pro přečtení některých méně viditelných kódů na štítku byla použita lupa (Z = 10x).

3.3 Letový test

Ovlivnění letových schopností přilepenými štítky bylo testováno na druhu *L. rufoscutellatus*, jehož jedinci byli odchyceni v oblasti Vysočiny, kde také ve venkovních podmínkách celý pokus probíhal (červenec 2008). Označení jedinců bylo provedeno stejně jako u testu přežívání. Byly použity dvě mesokosmové nádrže o rozměrech 110 x 60 cm, výška vody byla cca 5 cm. Kousky mechu a větví umístěných ve vodě sloužily jako imitace přírodního břehu. Okraje nádrží byly potřeny disperzí polytetrafluorethylenu, aby se zabránilo úniku testovaných jedinců. Jako ochrana proti predátorům v přírodě bylo kolem obou nádrží umístěno drátěné pletivo. Označených i kontrolních jedinců v jedné skupině bylo 20, sexuální index 1:1. Sledování probíhalo v tří denních intervalech po dobu 9 dnů. První 3 dny byli jedinci bez krmení, dále pak vždy při kontrole krmení *ad libitum* octomilkami *D. melanogaster* a dále neurčovanými Diptera.

3.4 Individuální značení na tekoucích vodách

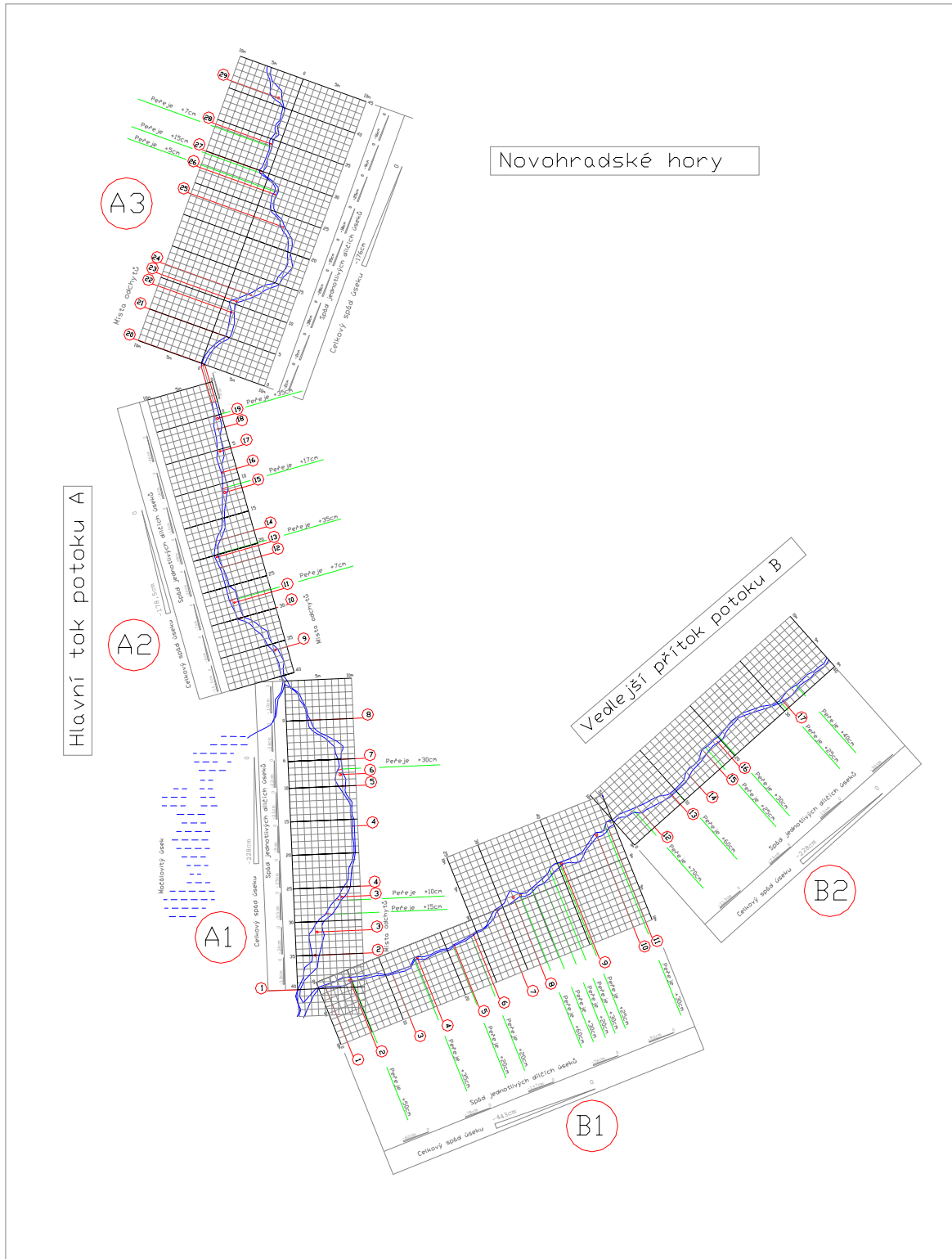
Hlavním cílem experimentu využívajícího individuální značení semiakvatických ploštic, bylo zjištění, zda dochází k pohybu jednotlivců po směru či proti směru proudu vodního toku. Individuální značení umožňuje sledovat pohyb každého jedince samostatně. Dále lze individuálního značení využít k odhadu abundance sledované populace.

3.4.1 Lokalita - potok

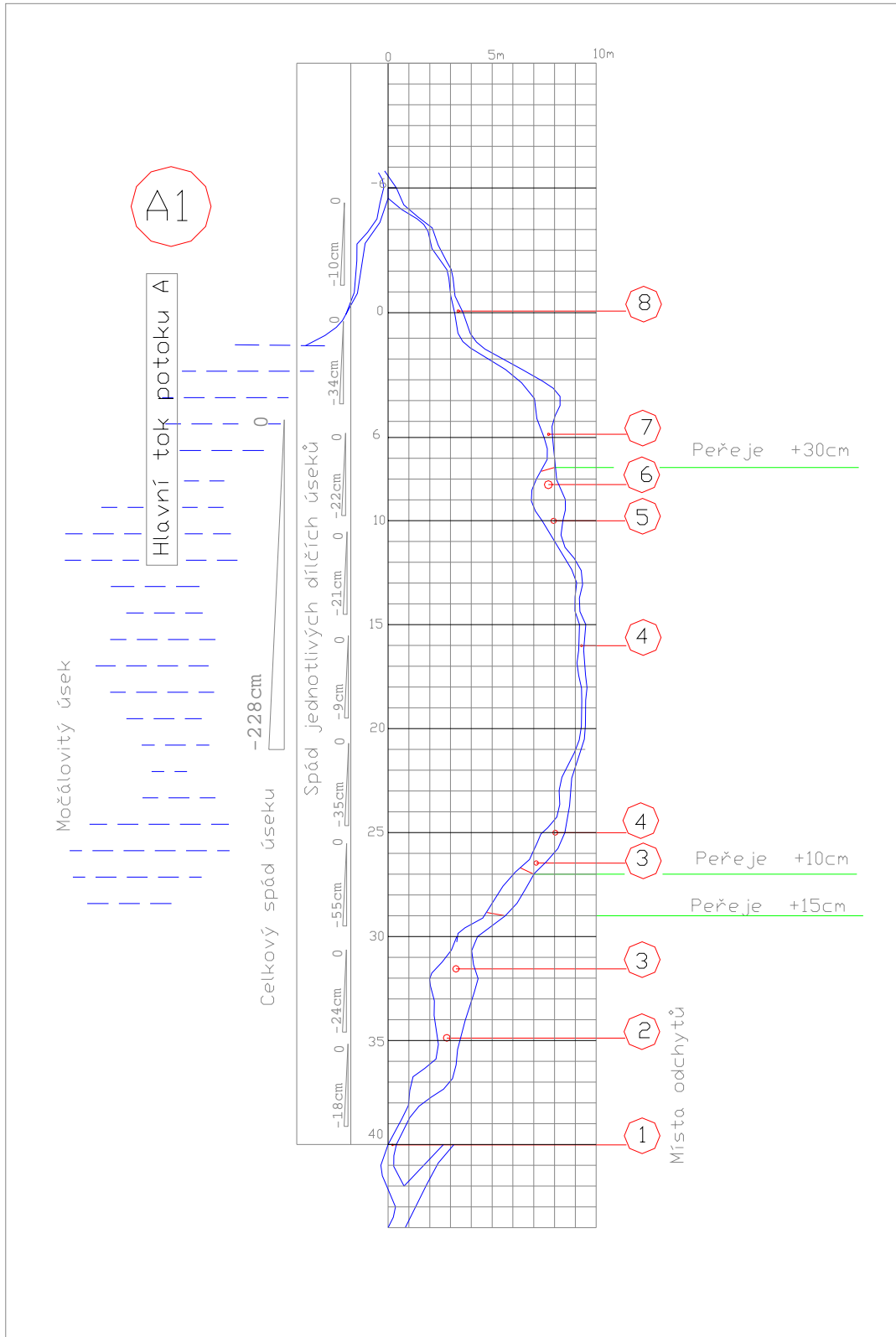
K experimentu byl vybrán bezejmenný potok v oblasti „U Tří můstků“, který se vlévá do Pohořské (Jiřické) nádrže na Pohořském potoce v Novohradských horách. Ditrich (2005) ve své diplomové práci popisuje danou lokalitu takto: přesná poloha je určena souřadnicemi 48° 43' 4'' SŠ a 14°40'10'' VD, nadmořská výška 920 m n. m. Vegetace nacházející se v okolí potoku tvoří především mechorosty a to zejména: rašeliník (*Sphagnum sp.*), pobřežnice obecná (*Pellia epiphylla*) a ploník ztenčený (*Polytrichum formosum*). Dále zde najdeme přesličku lesní (*Equisetum arvense*), kaprad' samec (*Dryopteris filix-mas*) a zblochan

vzplývavý (*Glyceria fluitans*). Ve vodě byl nalezen také mech pramenička obecná (*Fontinalis antipyretica*). Celý potok protéká smrkovým lesem (smrk ztepilý – *Picea abies*).

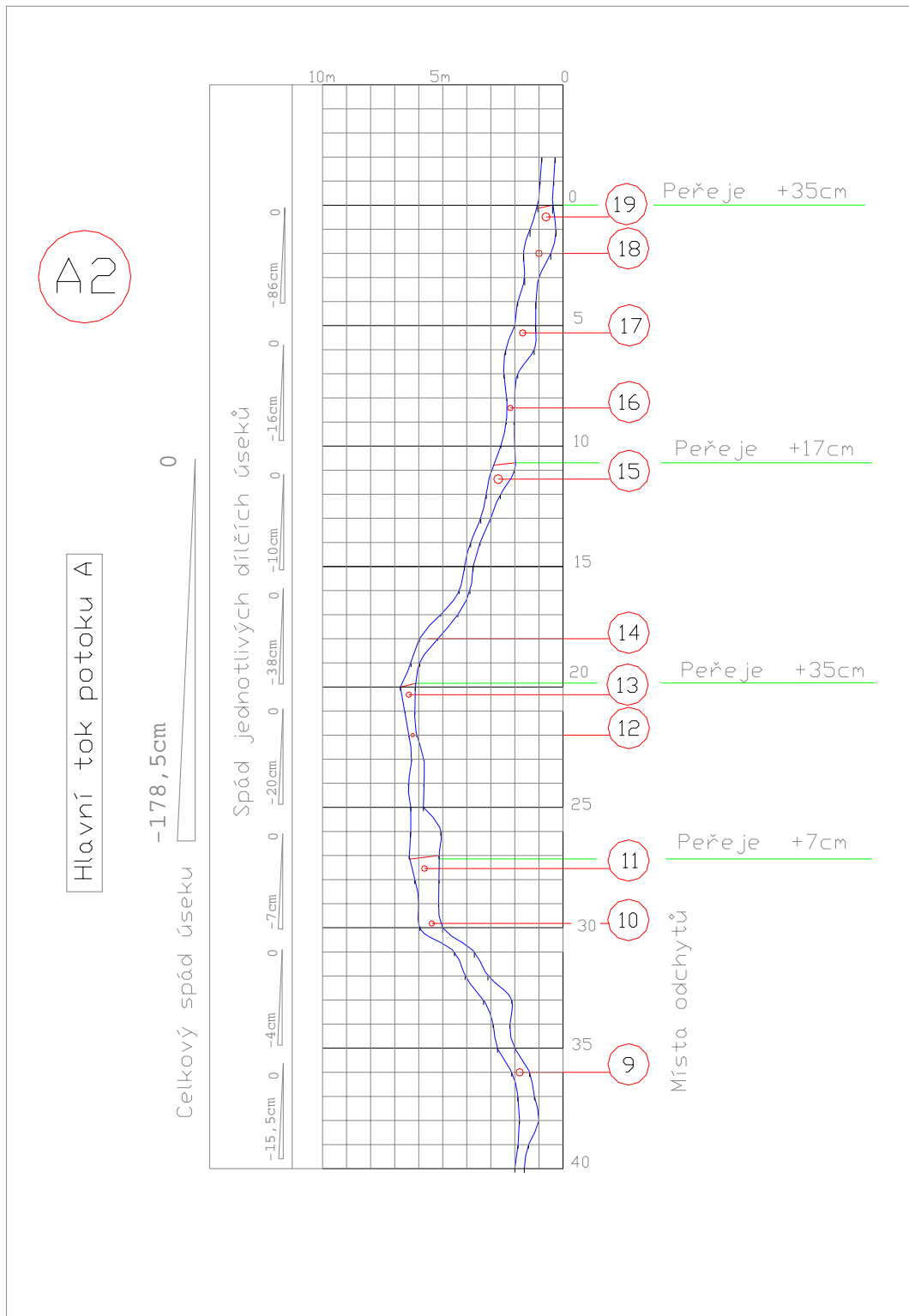
Potok je rozdělen na hlavní tok (A), kde probíhala převážná část experimentu a na vedlejší přítok (B). Přibližná délka sledované části hlavního toku byla 130 m, přítok byl dlouhý cca 90 m. Potok byl podrobně zmapován za pomoci laserového zaměřovače PD 32 firmy HIL TI. Nákresey celkového pohledu na zkoumanou oblast i jednotlivých částí byly provedeny za pomoci počítačového programu „AutoCAD“ (Obr. 9 – 14). Hlavní tok i přítok potoku byly rozděleny na jednotlivá sběrná místa (tok A = 29 úseků, přítok B = 17 úseků). Úseky byly vybrány nejčastěji podle přirozených hranic na potoce (peřeje, kamenné hrázky, klacky, větve atd.). V terénu byly tyto úseky označeny pomocí klacků zapíchnutých do břehu potoka. Na nákresech jsou místa odchytů znázorněna čísla v kroužcích. Dále je pak zaznamenán spád jednotlivých úseků po 5 respektive 10 m, přičemž celkový výškový rozdíl hladin na toku A činí 582,5 cm a na toku B je roven 671 cm. Na nákresech je rovněž patrná velikost peřejí přítomných na potoce (tok A – 10 peřejí, nejvyšší 35 cm; tok B – 16 peřejí, nejvyšší 70 cm). Části hlavního toku A2 a A3 jsou odděleny cestou, pod kterou vede betonová roura (délka = 5,7 m; výškový rozdíl 33 cm), která umožňuje propojení těchto dvou úseků potoka.



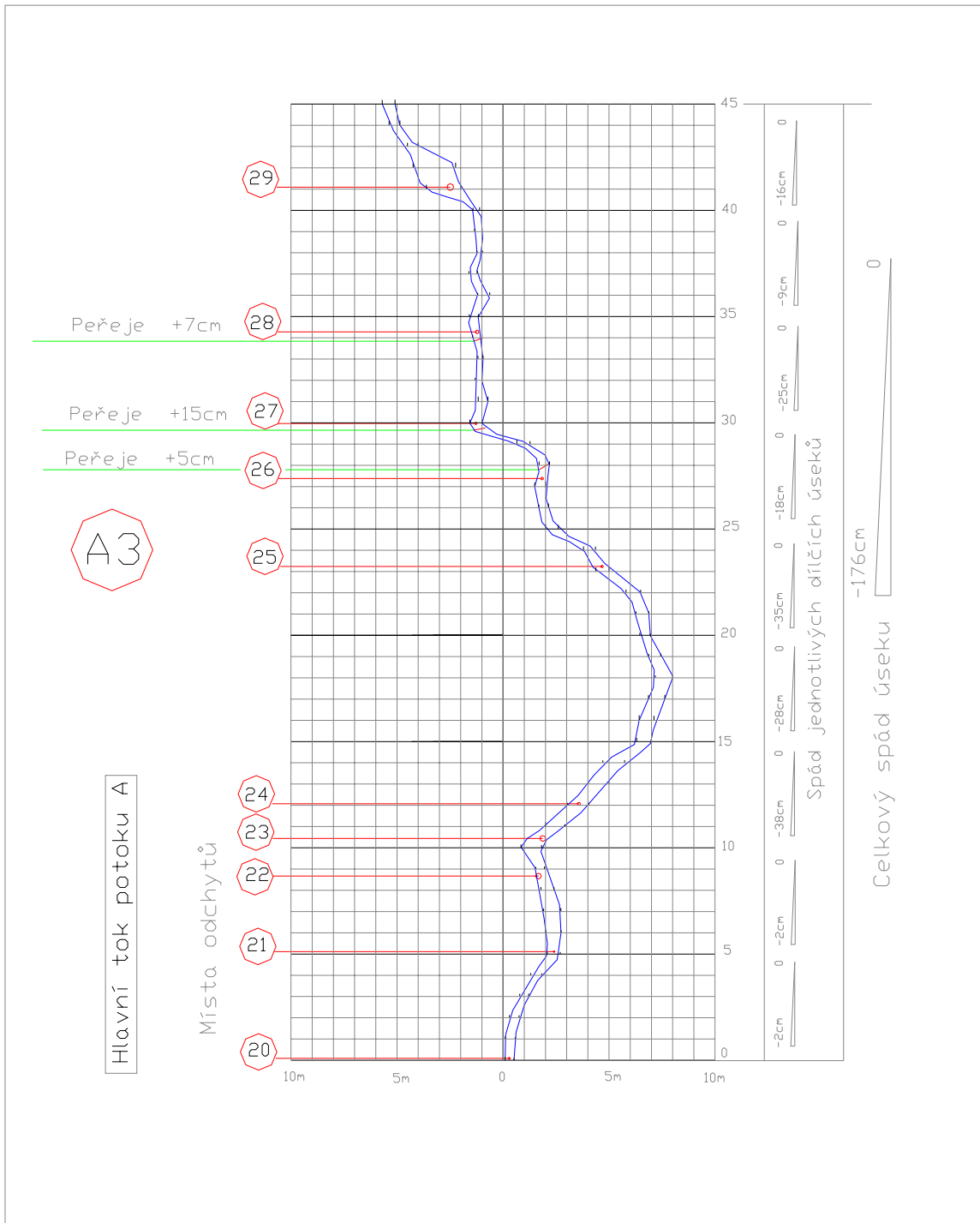
Obr. 9. Potok – celkový úsek měření



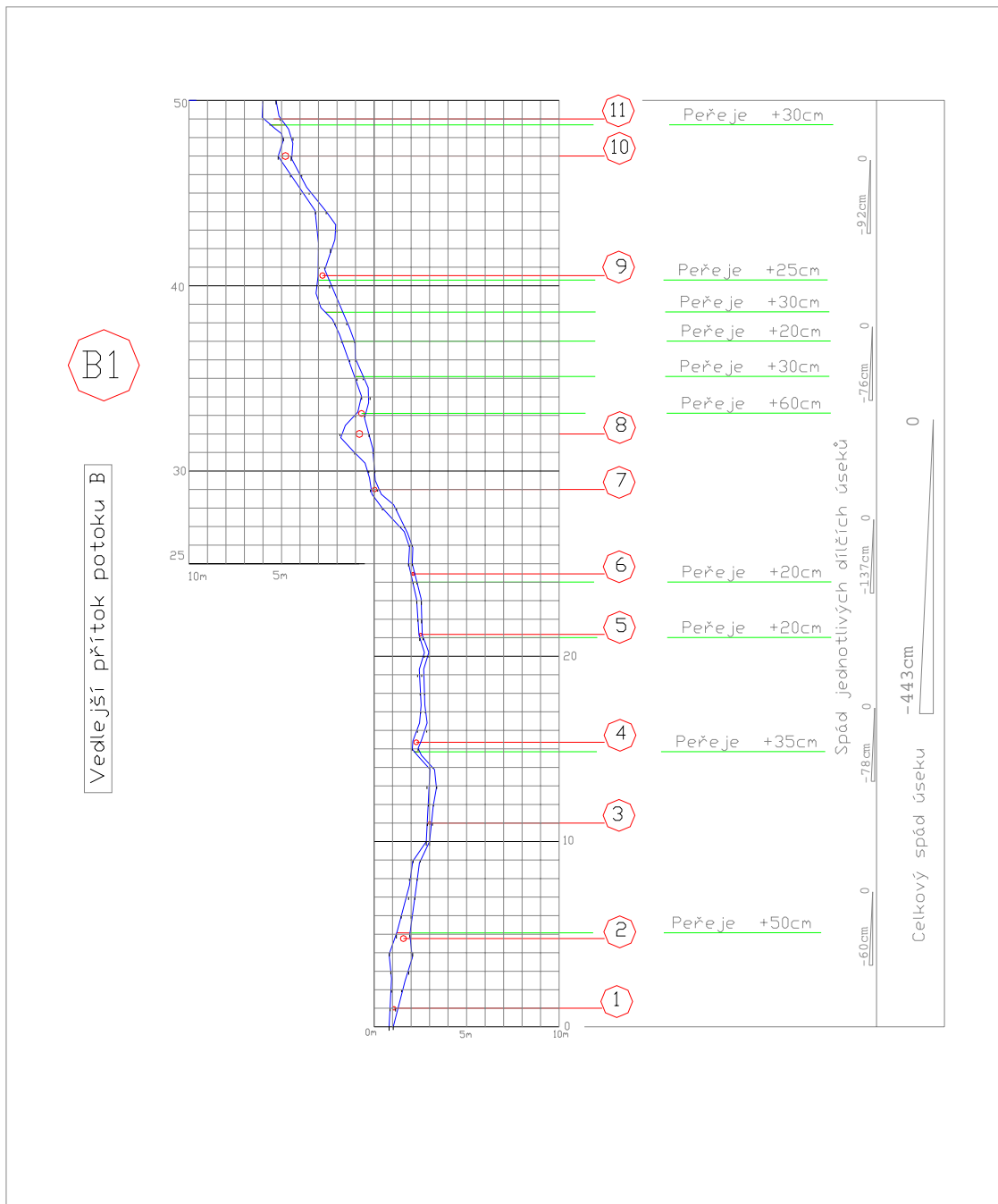
Obr. 10. Potok – úsek hlavní části A1



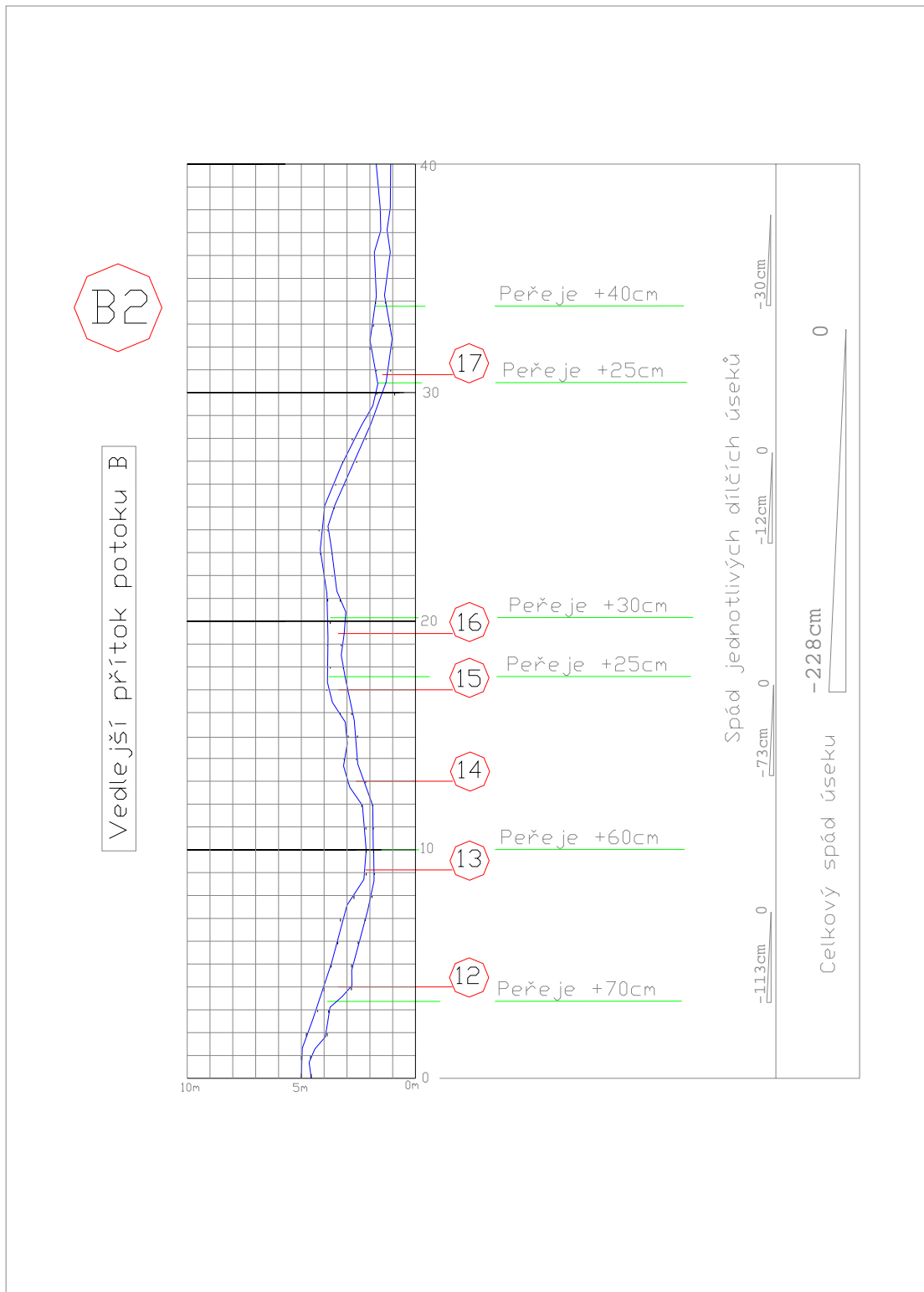
Obr. 11. Potok – úsek hlavní části A2



Obr. 12. Potok – úsek hlavní části A3



Obr. 13. Potok – úsek vedlejší části B1



Obr. 14. Potok – úsek vedlejší části B2

3.4.2 Metodika experimentu

Pokus byl prováděn na druhu *V. caprai*. Jedinci byli chytáni z hladiny cedníkem o průměru 20 cm, velikost ok cca 1 mm. Odchyt byl prováděn na každém z úseků samostatně. Tahem cedníku proti směru toku na hladině, či podél břehu potoka ve vegetaci byli odchyceni neoznačení jedinci. Pomocí entomologické pinzety byli poté přemístěni z cedníku do plastových lahví z třetiny naplněných vodou. Tyto lahve byly označeny číslem sběrného úseku. Poté byly vzorky převezeny do cca 10 km vzdálené vesnice (Pohorská Ves), kde byli jedinci ve vnitřních prostorách značeni systémem popsáním v kapitole „Technika značení“. U každého jednotlivce byla zaznamenána oblast odchytu, individuální značka a pohlaví. Následně byly označené hladinatky *V. caprai* převezeny zpět a vráceny na jednotlivá místa odchytů. Odchyty probíhaly v nepravidelných intervalech od října 2008 do října 2009 (Tab. VII). Celkově bylo na hlavním i vedlejším toku označeno 723 jedinců a z tohoto počtu bylo nejméně jednou zpětně odchyceno 274 jedinců.

Tab. VII. Data odchytů na potoce v Novohradských horách.

číslo odchyty	datum odchyty	číslo odchyty	datum odchyty
1.	9. 10. 2008	10.	22. 7. 2009
2.	12. 10. 2008	11.	24. 7. 2009
3.	31. 10. 2008	12.	4. 8. 2009
4.	30. 4. 2009	13.	12. 8. 2009
5.	7. 5. 2009	14.	29. 8. 2009
6.	16. 5. 2009	15.	12. 9. 2009
7.	13. 6. 2009	16.	19. 9. 2009
8.	19. 6. 2009	17.	22. 10. 2009
9.	1. 7. 2009		

Během experimentu byly sledovány dvě generace *V. caprai* - přezimující (G0) a nová letní generace (G1). Od října 2008 do července 2009 byly značeny hladinatky *V. caprai* generace přezimující, jejichž odchyt probíhal přímo z potoka. Poté byly pro odlišení přezimující a nové generace použity tři umělohmotné kádě o rozměrech 100 x 40 cm, výška vody v každé z nich byla cca 20 cm. Do vody byly dány kousky mechu pro imitaci přírodního prostředí. Jejich

okraje byly potřeny disperzí polytetrafluorethylenu, aby se zabránilo úniku jedinců. Do těchto kádí byly během července 2009 odchytávány třetí až páté instary hladinatek *V. caprai* z potoka. Tito jedinci byli sledováni a po vyvinutí se do dospělého stádia značení stejným způsobem, jako předchozí generace. Od srpna 2009 tedy již neprobíhal odchyt jedinců pro značení z potoka, ale pouze z kádí, aby nedošlo k promísení jedinců přezimujících a nové generace. Jedinci z každé ze tří kádí byli vždy samostatně označeni a poté vypuštěni na vybraném úseku potoka. Kádě byly umístěny v terénu na březích potoka, každá v jiné části (A1, A2, A3) a byly zakryty vegetací.

3.5 Individuální značení na stojatých vodách

3.5.1 Lokalita – rybník

Druhá část experimentu sledovala pomocí individuálního značení disperzi jedinců druhu *G. lacustris* a *A. paludum* na stojaté vodě rybníka. Rybník se nachází v obci Koňkovice na Vysočině. Přesná poloha je dána souřadnicemi 49°38'58'' SŠ, 15°20'12'' VD, nadmořská výška cca 480 m n. m. Rozloha rybníku je přibližně 350 m². Pomocí kolíků umístěných na břehu rybníka byla celá oblast rozdělena do deseti úseků po cca 8 – 14 m (Tab. VIII, Obr. 15). Břeh rybníka je bohatě porostlý vegetací. Vyskytuje se zde například chrastice rákosovitá (*Phalaris arundinacea*), rdesno peprné (*Polygonum hydropiper*), sítina rozkladitá (*Juncus effusus*), vrbovka (*Epilobium sp.*) či ostřice měchýřkatá (*Carex vesicaria*). Hladina litorálu je hojně pokrytá okřehkem menším (*Lemna minor*) (Obr. 16).

Tab. VIII. Vzdálenost mezi jednotlivými úseky rybníka.

úsek	vzdálenost [m]
1 - 2	8,5
2 - 3	12
3 - 4	9
4 - 5	8,5
5 - 6	8
6 - 7	12
7 - 8	8
8 - 9	13,5
9 - 10	12
10 - 1	9



Obr. 15. Rybník s vyznačenými odchytovými oblastmi. Foto autor.



Obr. 16. Břeh rybníka porostlý vegetací. Foto autor.

3.5.2 Vlastní experiment

System odchyťů a individuálního značení byl stejný jako v experimentu probíhajícíím na tekoucích vodách. Jediný rozdíl byl v zaznamenání křídelní polymorfie u každého označeného jednotlivce. Pokus probíhal od srpna do října roku 2009, odchyty byly prováděny v nepravidelných intervalech (Tab. IX). Celkem bylo označeno 215 jedinců druhu *G. lacustris* a 78 jedinců druhu *A. paludum*. Zpěťně odchyceno nejméně jednou pak bylo 132 jedinců. Odchyt druhu *A. paludum* ze břehu rybníka se ukázal jako velmi obtížný, proto byl počet označených jedinců tohoto druhu menší.

Tab. IX. Data odchyťů na rybníku v Koňkovicích.

číslo odchyty	datum odchyty	číslo odchyty	datum odchyty
1.	9. 8. 2009	5.	30. 8. 2009
2.	16. 8. 2009	6.	13. 9. 2009
3.	17. 8. 2009	7.	4. 10. 2009
4.	23. 8. 2009	8.	10. 10. 2009

3.6 Statistické vyhodnocování dat

Data získaná s popsaných experimentů byla zpracována pomocí programu „STATISTICA“, verze 9.1. Rozdíl v přežívání označených a kontrolních jedinců byl testován pomocí Gehan-Wilcoxonova testu analýzy přežívání. Výsledky týkající se přežívání jedinců v závislosti na pohlaví a křídelních morfách byly analyzovány χ^2 testem, přičemž byly vždy zaznamenány hodnoty stupňů volnosti (df) a hladiny významnosti (p). Následně bylo testováno individuální značení na tekoucích vodách, kde byly výsledky zaznamenávány vždy pro 1. – 2. odchyt a poté pro první až poslední odchyt celkem. Hodnocení pohybu *V. caprai* po vodním toku bylo otestováno χ^2 testem (nulová hypotéza: stejný podíl jedinců zůstává na stejném úseku a pohybuje se mezi úseky); pohyb ve vztahu k pohlaví a generaci byl testován pomocí χ^2 testu kontingenčních tabulek. Nulová hypotéza byla formulována jako stejná míra pohybu těchto skupin. Testem dobré shody (χ^2 testem) byla hodnocena otázka směru pohybu hladinatek *V. caprai* nahoru či dolů po vodním toku (proti či po proudu), přičemž do analýz byli zahrnuti pouze jedinci, u kterých byl konstatován pohyb. Kvůli přítomnému proudovému driftu Fairbairn (1985) předpokládá rovnocenný podíl pohybu semiakvatických ploštic ve směru nahoru a dolů po vodním toku, pokud se jedinci přednostně aktivně pohybují proti směru toku. Pokud dokonce pohyb nahoru převažuje nad pohybem dolů, lze předpokládat, že pohyb dospělců proti proudu dostatečně kompenzuje proudový drift dospělců i nedospělých stádií. Dalším jevem testovaným za použití χ^2 testu kontingenčních tabulek byl směr pohybu hladinatek *V. caprai* v závislosti na pohlaví a generaci. Otázka vzdálenosti překonané jedinci *V. caprai*, hodnocené vzhledem ke směru pohybu nahoru či dolů po vodním toku, byla analyzována za pomoci neparametrického Mann-Whitney *U* testu. Neparametrický test byl zvolen z důvodu očekávaného nenormálního rozdělení vzdálenosti – nejvíce jedinců pravděpodobně překoná relativně krátkou vzdálenost. Stejněho testu bylo využito i při testování překonané vzdálenosti v souvislosti s pohlavím a generacemi. Z téhož důvodu byl Mann-Whitney *U* test použit i na testování překonaných výškových rozdílů jedinci *V. caprai*. Nulová hypotéza předpokládá v obou směrech stejné hodnoty překonaných výškových rozdílů. Pomocí stejného testu byl analyzován i výškový rozdíl ve vztahu k pohlaví a generaci. Hodnocení individuálního značení na stojatých vodách probíhalo obdobným způsobem jako na vodách tekoucích. Samostatně byly testovány dva sledované druhy, *G. lacustris* a *A. paludum*. Zvlášť také probíhalo hodnocení 1. - 2. odchytu a prvního až

posledního odchyty. Nejprve byl za pomoci testu dobré shody (χ^2 testu) a χ^2 testu kontingenčních tabulek analyzován jev, zda se vybrané druhy pohybují po vodní hladině (nulová hypotéza: stejný podíl jedinců zůstává na místě vypuštění a pohybuje se mezi úseky). Následně pak bylo testováno, o kolik úseků se během svého pohybu jedinci *G. lacustris* a *A. paludum* vzdálí z místa vypuštění. Pomocí χ^2 testu kontingenčních tabulek byla zhodnocena míra pohybu mezi oběma druhy (nulová hypotéza: jedinci *G. lacustris* a *A. paludum* se navzájem pohybují stejnou měrou, jako zůstávají na místě). Porovnání počtu překonaných úseků mezi oběma druhy bylo provedeno Mann-Whitneyho *U* testem. Pravděpodobnost přežití mezi dvěma odchyty a pravděpodobnosti odchyty byly spočítány pro všechny sledované druhy (*V. caprai*, *G. lacustris* a *A. paludum*) pomocí softwaru Program MARK.

4 Výsledky

4.1 Test přežívání

Protože u žádného druhu nebyl zjištěn signifikantní rozdíl v přežívání mezi pohlavími jednotlivých treatmentů (Yates χ^2 ; df = 1; všechna p > 0,30), byla data pro obě pohlaví sloučena. Rozdíl v přežití mezi křídelními morfami byl marginálně signifikantní pro označené *G. lacustris* (Yates $\chi^2 = 3,58$; df = 1; všechna p = 0,06), rozdíl mezi přežitím ostatních skupin nebyl průkazný (Yates χ^2 ; df = 1; všechna p > 0,29). Data pro všechny křídelní morfby byla proto sloučena.

Po 14 dnech přežilo 60 % jedinců označených a 75 % kontrolních druhu *A. paludum*. U druhu *G. lacustris* přežilo 70 % označených a 90 % kontrolních jedinců. Pro druh *V. caprai* bylo přeživších jedinců označených 100 % a kontrolních 90 % (Tab. X).

Nebyl tedy zjištěn signifikantní rozdíl v přežívání označených a neoznačených jedinců *A. paludum* (Gehan-Wilcoxon test = -0,76; p = 0,45) ani *G. lacustris* (Gehan-Wilcoxon test = -1,58; p = 0,11) ani *V. caprai* (Gehan-Wilcoxon test = 1,41; p = 0,16).

Tab. X. Poměr přeživších/počátečních počtů označených i kontrolních jedinců různých křídelních morf. AP – apterní, BP – brachypterní, MP – makropterní.

	pohlaví	křídelní polymorfismus	<i>A. paludum</i>	<i>G. lacustris</i>	<i>V. caprai</i>
označení	♀♀	AP/BP	3/4	4/4	10/10
		MP	4/6	2/6	-
	♂♂	AP/BP	3/4	4/4	10/10
		MP	2/6	4/6	-
kontrolní	♀♀	AP/BP	6/6	8/8	8/10
		MP	3/4	1/2	-
	♂♂	AP/BP	3/5	4/4	10/10
		MP	3/5	5/6	-

4.2 Letový test

Při letových testech s *L. rufoscutellatus* nebyl zjištěn negativní vliv označení na schopnost opuštění stanoviště letem, protože během 6 dnů odletělo 95 % označených a 100 % kontrolních jedinců (obě n = 20), zbývající jedinec odletěl během následujících 3 dnů (Tab. XI).

Tab. XI. Odlet označených/kontrolních jedinců *L. rufoscutellatus* během 6 dnů.

	pohlaví	odletělo <i>L. rufoscutellatus</i>	zůstalo <i>L. rufoscutellatus</i>
označení jedinci	♀♀	9	1
	♂♂	10	0
kontrolní jedinci	♀♀	10	0
	♂♂	10	0

Negativní vliv na reprodukční chování se neprojevil, kopulace byla pozorována u všech druhů testovaných ploštic a to jak u označených, tak kontrolních jedinců. Ovipozice byla mimo druh *V. caprai* zaznamenána také u všech sledovaných skupin.

4.3 Individuální značení na tekoucích vodách

Během experimentu, který probíhal od října 2008 do října 2009, bylo na hlavním toku A celkem označeno 686 jedinců *V. caprai*, z nichž bylo nejméně jednou zpětně odchyceno 269 jedinců. Nejvyšší počet odchytů u jednoho jedince byl 6. Podrobnější popis poskytuje Tab. XII.

Tab. XII. Počet/procenta označených a zpětně odchycených jedinců *V. caprai* (♂♂/♀♀) na hlavím toku A.

	celkem označeno	odchyceno 1x	odchyceno 2x	odchyceno 3x	odchyceno 4x	odchyceno 5x	odchyceno 6x
počet	686	269	90	21	6	2	1
procenta	100	39,2	13,1	3,1	0,9	0,3	0,1
♂♂	272	87	22	3	0	0	0
♀♀	415	182	68	18	6	2	1

Na přítoku B bylo označeno pouze 36 jedinců *V. caprai*, a z nich bylo zpětně odchyceno jen 5 jedinců (Tab. XIII). Proto byla data z hlavního toku A i přítoku B sloučena dohromady. Celkem bylo tak testováno 394 zpětně odchycených jedinců (součet prvního až posledního odchyty).

Tab. XIII. Počet/procenta označených a zpětně odchycených jedinců *V. caprai* (♂♂/♀♀) na přítoku B.

	celkem označeno	odchyceno 1x
počet	36	5
procenta	100	13,9
♂♂	14	3
♀♀	22	2

Při každé kontrole sledovaného toku byl zaznamenán celkový počet odchycených jedinců hladinatek *V. caprai*. Z tohoto počtu byli dále zaznamenáni ti, kteří již byli označeni a poté ti, kteří byli k danému datu nově označeni a vypuštěni. Podrobnější přehled nabízí Tab. XIV.

Tab. XIV. Přehled jedinců *V. caprai* (♀♀ x ♂♂), k danému datu celkem odchytených, z toho označených a nově označených.

datum	celkem odchytených ♀♀ x ♂♂		z toho značených ♀♀ x ♂♂		nově označených ♀♀ x ♂♂	
	9. 10. 2008	43	14	/	/	43
12. 10. 2008	11	5	11	5	/	/
31. 10. 2008	5	1	5	1	/	/
30. 4. 2009	31	10	/	/	31	10
7. 5. 2009	84	17	9	0	75	17
16. 5. 2009	85	21	18	2	67	19
13. 6. 2009	34	15	13	5	21	10
19. 6. 2009	69	94	19	5	50	89
1. 7. 2009	60	41	22	4	38	37
22. 7. 2009	46	27	20	6	26	21
24. 7. 2009	27	18	22	9	5	9
4. 8. 2009	10	9	2	2	8	7
12. 8. 2009	41	26	21	7	20	19
29. 8. 2009	73	38	42	18	31	20
12. 9. 2009	29	21	29	21	/	/
19. 9. 2009	43	27	43	27	/	/

„/“ = značení nebo odchyt neproběhli

4.3.1 Pohyb po vodním toku

Sledovaným jevem bylo, zda se *V. caprai* pohybuje² v rámci vodního toku (mezi úseky), a jestli se tato míra pohybu liší mezi pohlavími (♂♂ x ♀♀) a generacemi (G0 x G1). Data byla vyhodnocována pomocí statistických testů. Výsledky byly zaznamenány vždy pro 1. – 2. odchyt a celkem pro všechny odchyty (první až poslední) (Tab. XV – XVIII).

² pohyb = změna pozici označeného jedince z úseku vypuštění na jiný úsek

Ze všech 394 zaznamenaných zpětných odchyťů, byl 235x zjištěn pohyb mezi úseky, 159x zůstal jedinec na stejném úseku. Lze tedy konstatovat, že hladinatky *V. caprai* se pohybují podél sledovaného potoka a dokonce se průkazně pohybují ve větší míře, než zůstávají na místě ($\chi^2 = 14,66$; $df = 1$; $p < 10^{-3}$).

Tab. XV. Pohyb *V. caprai* mezi 1. – 2. odchytem v závislosti na pohlaví.

pohlaví	pohyb ano	pohyb ne	součet
♂♂	60	30	90
♀♀	115	69	184
♂♂ + ♀♀	175	99	274

Tab. XVI. Pohyb *V. caprai* celkem (mezi prvním až posledním odchytem) v závislosti na pohlaví.

pohlaví	pohyb ano	pohyb ne	součet
♂♂	71	44	115
♀♀	164	115	279
♂♂ + ♀♀	235	159	394

Rozdíl v pohybu mezi pohlavími není statisticky průkazný jak mezi 1. – 2. odchytem ($\chi^2 = 0,46$; $df = 1$; $p = 0,5$), tak mezi prvním až posledním odchytem ($\chi^2 = 0,30$; $df = 1$; $p = 0,59$). Shodně je statisticky neprůkazný i rozdíl v pohybu mezi generacemi a to u obou zkoumaných skupin, tedy mezi 1. – 2. odchytem ($\chi^2 = 0,05$; $df = 1$; $p = 0,83$) a mezi prvním až posledním odchytem ($\chi^2 = 0,53$; $df = 1$; $p = 0,47$).

Tab. XVII. Pohyb *V. caprai* mezi 1. – 2. odchytem v závislosti na generaci.

pohlaví	pohyb ano	pohyb ne	součet
G0	157	88	245
G1	18	11	29
G0 + G1	175	99	274

Tab. XVIII. Pohyb *V. caprai* celkem (mezi prvním až posledním odchytem) v závislosti na generaci.

pohlaví	pohyb ano	pohyb ne	součet
G0	215	142	357
G1	20	17	37
G0 + G1	235	159	394

4.3.2 Směr pohybu po vodním toku

Dalším zkoumaným rysem bylo, zda u hladinatek *V. caprai* převažuje směr pohybu dolů či nahoru po potoce. Výsledky získané tímto experimentem ukazují na průkazně vyšší pohyb ve směru proti proudu potoka, bez ohledu na pohlaví či generaci. Tento závěr byl prokázán jak u 1. – 2. odchyty ($\chi^2 = 49,42$; $df = 1$; $p < 10^{-6}$), tak u odchyty celkového ($\chi^2 = 60,30$; $df = 1$; $p < 10^{-6}$).

Směr pohybu byl testován také ve vztahu k pohlaví a generaci (Tab. XIX – XXII). Výsledky, zda se liší směr pohybu mezi pohlavími, ukázaly, že tento rozdíl není signifikantní a to jak pro 1. – 2. odchyt ($\chi^2 = 2,33$; $df = 1$; $p = 0,13$), tak pro všechny odchty celkem ($\chi^2 = 2,22$; $df = 1$; $p = 0,14$).

Tab. XIX. Směr pohybu *V. caprai* mezi 1. – 2. odchytem v závislosti na pohlaví.

pohlaví	směr nahoru	směr dolů	součet
♂♂	50	10	60
♀♀	84	31	115
♂♂+♀♀	134	41	175

Tab. XX. Směr pohybu *V. caprai* celkem (mezi prvním až posledním odchytem) v závislosti na pohlaví.

pohlaví	směr nahoru	směr dolů	součet
♂♂	58	13	71
♀♀	119	45	164
♂♂+♀♀	177	58	235

Směr pohybu *V. caprai* se mezi generacemi statisticky nelišil (Tab. XX - XXI). U 1. – 2. odchytu nebyl zaznamenán průkazný rozdíl ($\chi^2 = 0,02$; $df = 1$; $p = 0,90$), stejně jako u odchytu celkového ($\chi^2 = 0,26$; $df = 1$; $p = 0,61$).

Tab. XI. Směr pohybu *V. caprai* mezi 1. – 2. odchytom v závislosti na generaci.

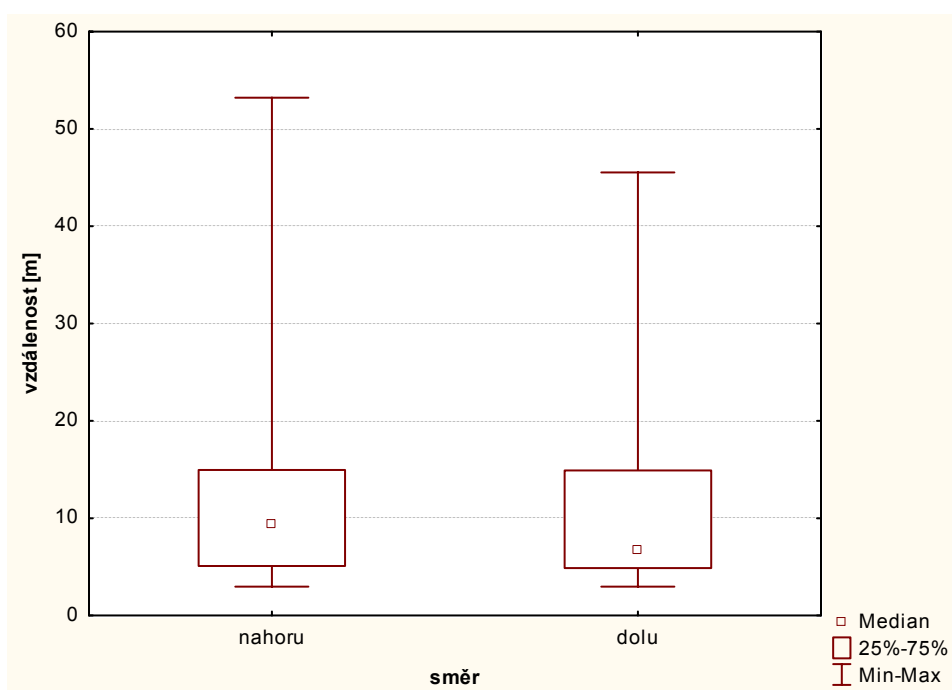
pohlaví	směr nahoru	směr dolů	součet
G0	120	37	157
G1	14	4	18
G0 + G1	134	41	175

Tab. XXII. Směr pohybu *V. caprai* celkem (mezi prvním až posledním odchytem) v závislosti na generaci.

pohlaví	směr nahoru	směr dolů	součet
G0	161	54	215
G1	16	4	20
G0 + G1	177	58	235

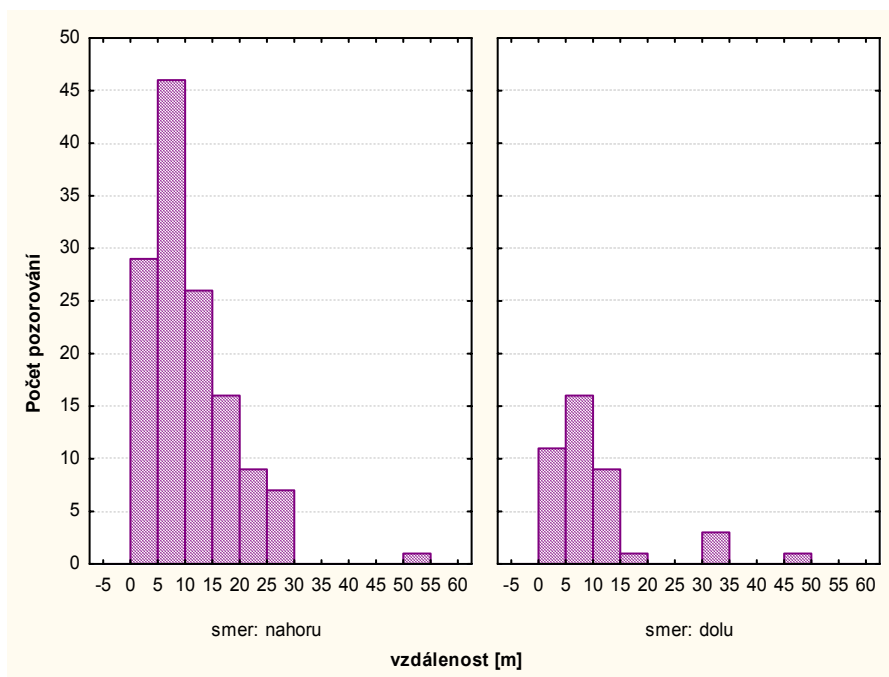
4.3.3 Vzdálenost pohybu

Během experimentu bylo zjišťováno, zda se liší vzdálenost pohybu jedinců ve směru nahoru a dolů po vodním toku. Nulová hypotéza předpokládá stejnou ujitou³ vzdálenost v obou směrech. Medián překonané vzdálenosti proti proudu byl vyšší, než medián vzdálenosti po proudu, stejně jako maximální překonaná vzdálenost (Obr. 17). V obou směrech byl nejčastěji zaznamenán relativně krátký pohyb (do 10 m) (Obr. 18). Pro 1. – 2. odchyt bez ohledu na pohlaví či generaci byl rozdíl překonané vzdálenosti směrem nahoru/dolů neprůkazný ($U = 2393,5$; $p = 0,21$).



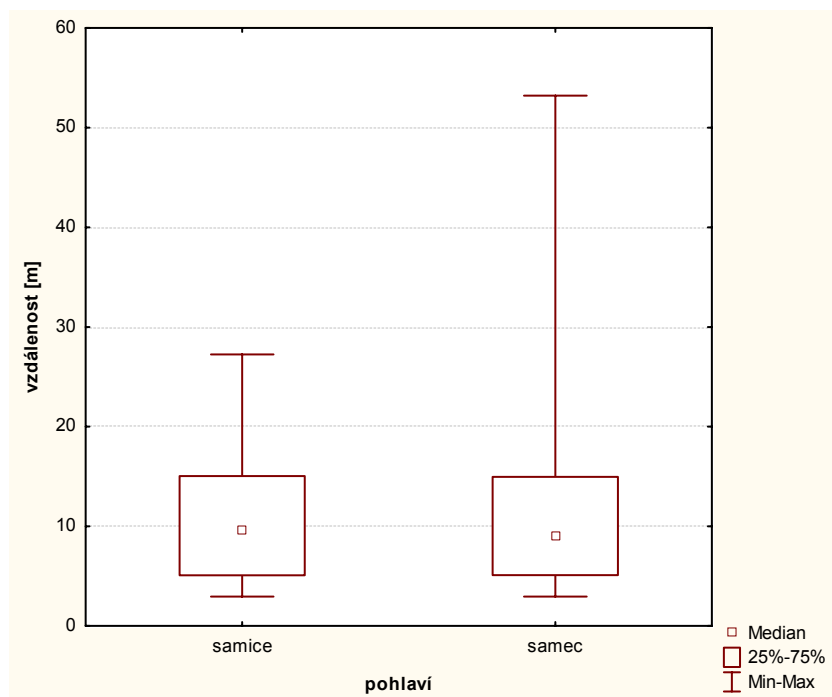
Obr. 17. Graf překonaných vzdáleností jedinci *V. caprai* ve směru nahoru/dolů po vodním toku (1. – 2. odchyt).

³ „ujitá vzdálenost“ = vzdálenost, která byla jedincem daného druhu překonána po zemi nebo po vodní hladině

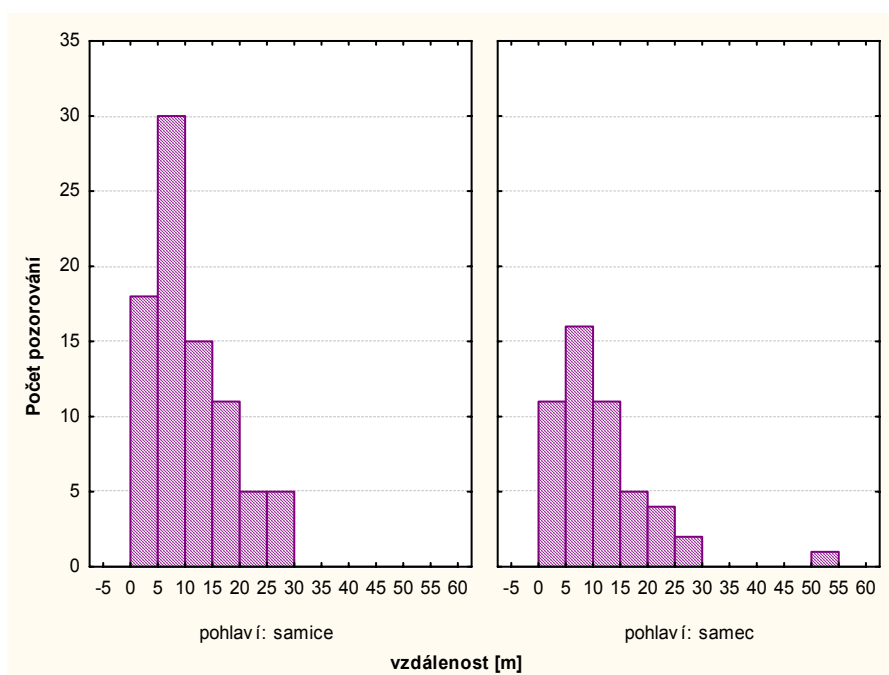


Obr. 18. Histogram znázorňující vzdálenost migrace jedinců *V. caprai* ve směru nahoru/dolů po vodním toku (1. – 2. odchyt).

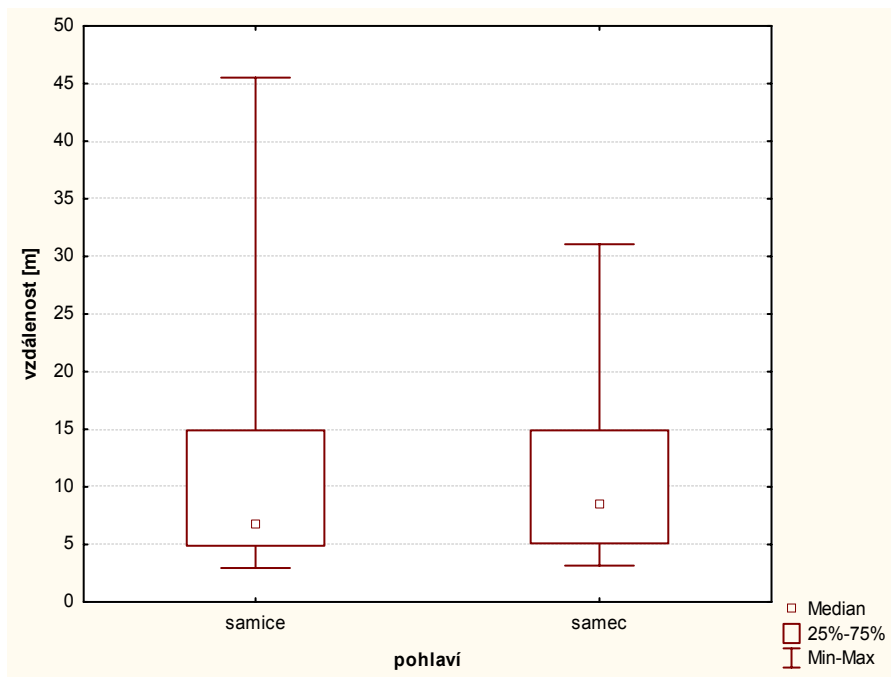
Následně byl testován stejný jev mezi 1. – 2. odchytem, ovšem ve vztahu k pohlaví a generaci. Samostatně probíhalo hodnocení ve směru nahoru, poté ve směru dolů. Mezi samci a samicemi nebyl potvrzen signifikantní rozdíl ve vzdálenostech ujitých jak ve směru nahoru ($U = 2066,5$; $p = 0,88$), tak ve směru dolů ($U = 134$; $p = 0,52$) po potoce. Podrobnější výsledky jsou patrné na následujících grafech (Obr. 19 – 22).



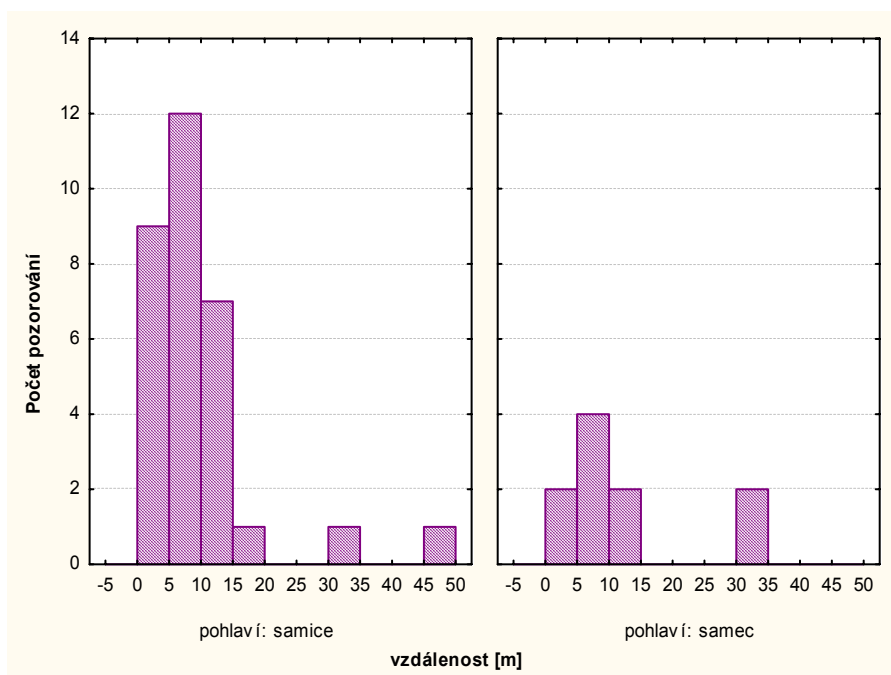
Obr. 19. Graf porovnání ušlých vzdáleností jedinců *V. caprai* mezi pohlavími ve směru nahoru po vodním toku (1. – 2. odchyt).



Obr. 20. Histogram znázorňující vzdálenost migrace jedinců *V. caprai* ve směru nahoru po vodním toku, v závislosti na pohlaví (1. – 2. odchyt).

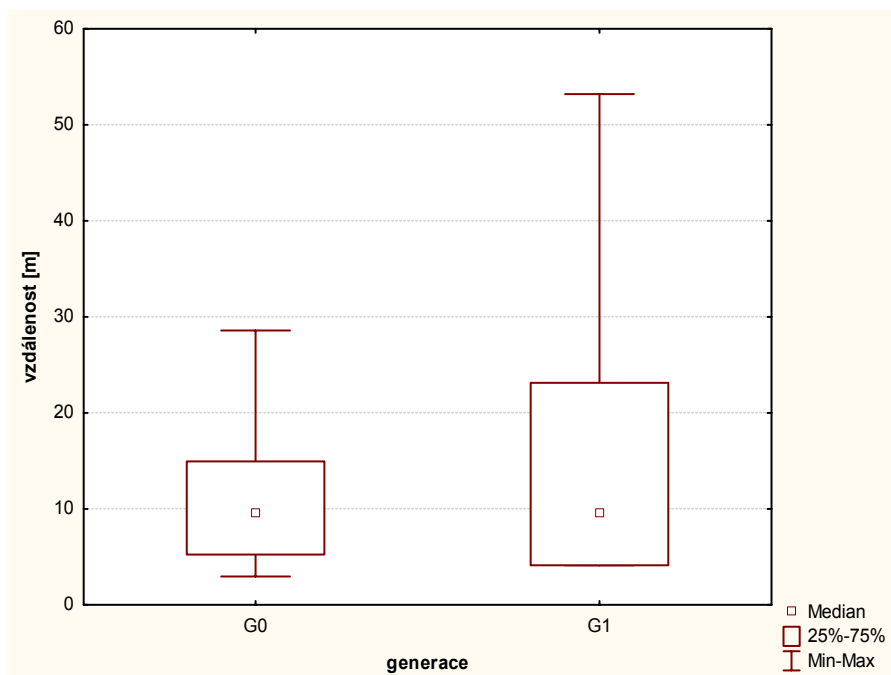


Obr. 21. Graf porovnání ušlých vzdáleností jedinců *V. caprai* mezi pohlavími ve směru dolů po vodním toku (1. – 2. odchyt).

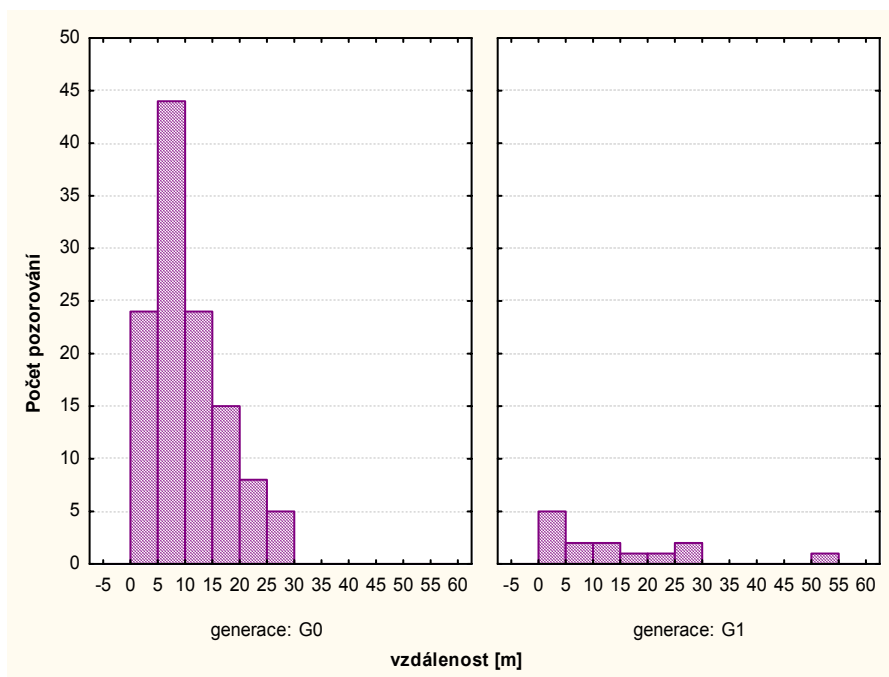


Obr. 22. Histogram znázorňující vzdálenost migrace jedinců *V. caprai* ve směru dolů po vodním toku, v závislosti na pohlaví (1. – 2. odchyt).

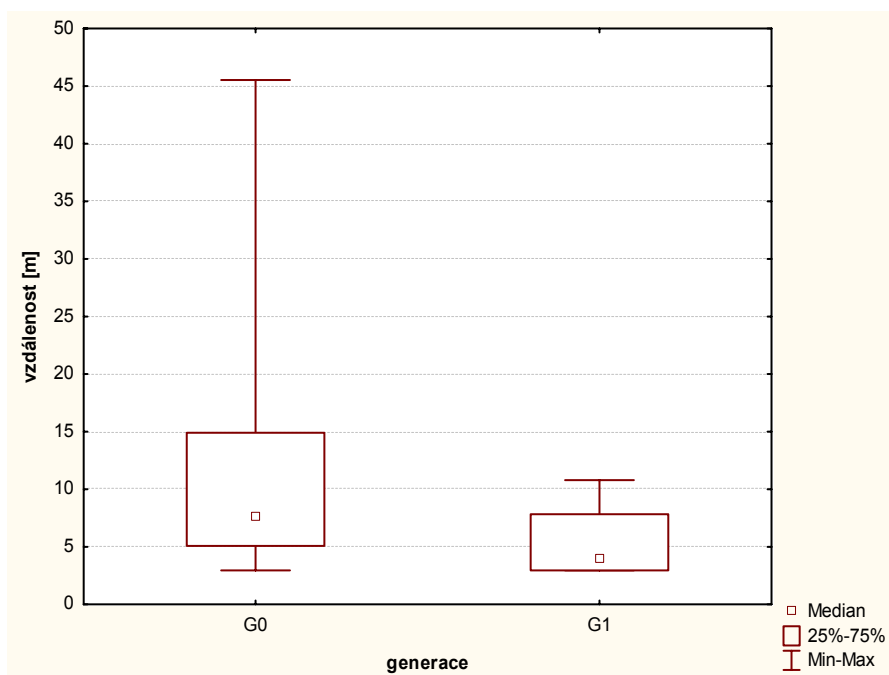
Rozdíl v překonaných vzdálenostech mezi přezimující a novou generací u 1. – 2. odchyty byl analyzován rovněž Mann-Whitney U testem a stejně jako mezi pohlavími nebyl tento rozdíl shledán průkazným jak ve směru nahoru ($U = 826,5$; $p = 0,92$), tak ve směru dolů ($U = 33,5$; $p = 0,08$). Obrázky 23 – 26 opět poskytují podrobnější představu o získaných závěrech.



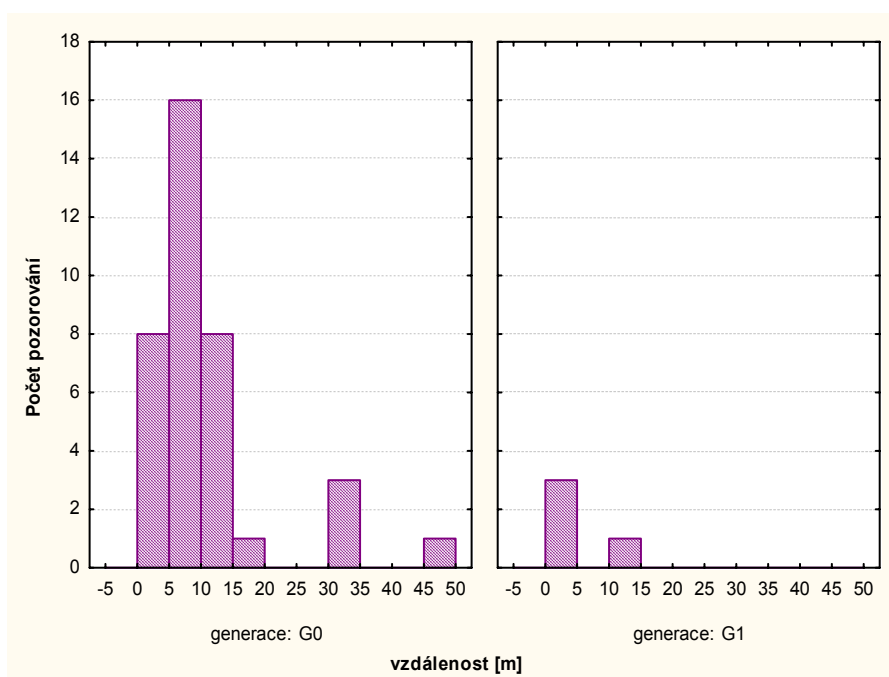
Obr. 23. Graf porovnání ušlých vzdáleností jedinců *V. caprai* mezi generacemi ve směru nahoru po vodním toku (1. – 2. odchyt).



Obr. 24. Histogram znázorňující vzdálenost migrace jedinců *V. caprai* ve směru nahoru po vodním toku, v závislosti na generaci (1. – 2. odchyt).

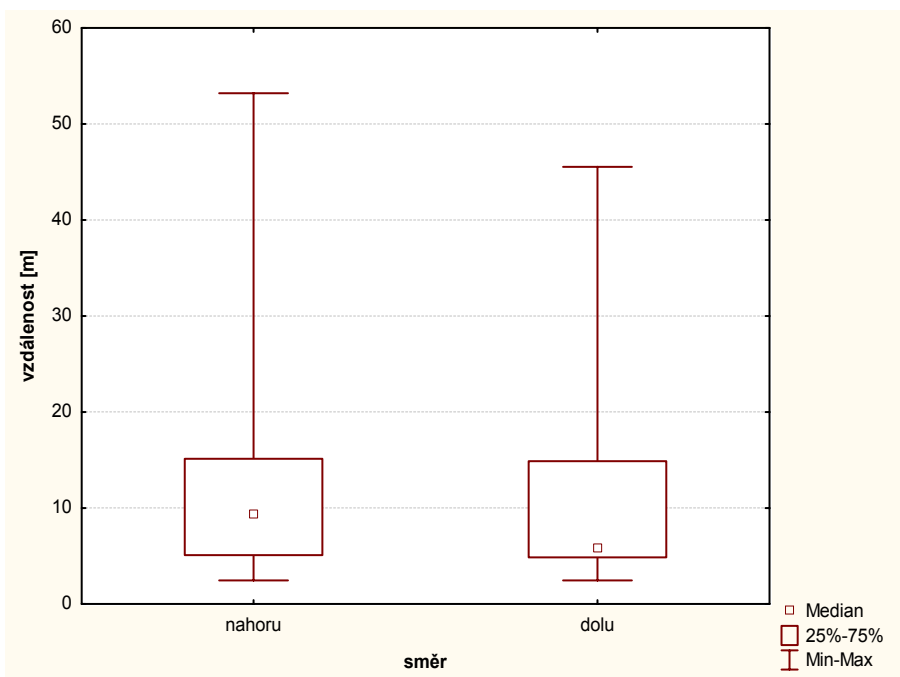


Obr. 25. Graf porovnání ušlých vzdáleností jedinců *V. caprai* mezi generacemi ve směru dolů po vodním toku (1. – 2. odchyt).

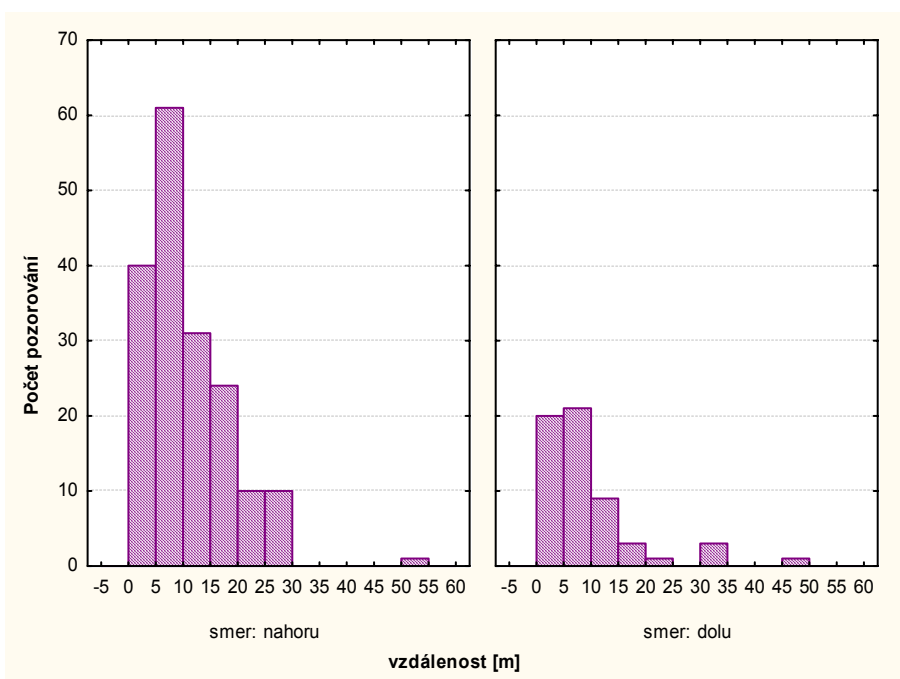


Obr. 26. Histogram znázorňující vzdálenost migrace jedinců *V. caprai* ve směru dolů po vodním toku, v závislosti na generaci (1. – 2. odchyt).

Pro celkový počet označených jedinců, tedy pro první až poslední odchyt, byly provedeny stejné testy jako pro 1. – 2. odchyt. Mann-Whitney U testem byla hodnocena jednak překonaná vzdálenost pro všechny odchyty celkem, ve směru nahoru a dolů po vodním toku, bez ohledu na pohlaví či generaci. Dále byla testována hypotéza, zda se liší v ušlých vzdálenostech ve směru nahoru a dolů samci a samice, nebo přezimující a nová generace. Nulová hypotéza opět předpokládá rovnocenný poměr překonaných vzdáleností ve směru nahoru a dolů po vodním toku. Tato hypotéza byla ovšem pro první až poslední odchyt celkem, bez ohledu na pohlaví a generaci zamítnuta, jelikož Mann-Whitney U testem byla průkazně potvrzena tendence jedinců *V. caprai* k větší vzdálenosti překonané při pohybu směrem nahoru ($U = 4157,5$; $p = 0,03$). Další informace jsou zřehledněny pomocí grafů (Obr. 27, 28).

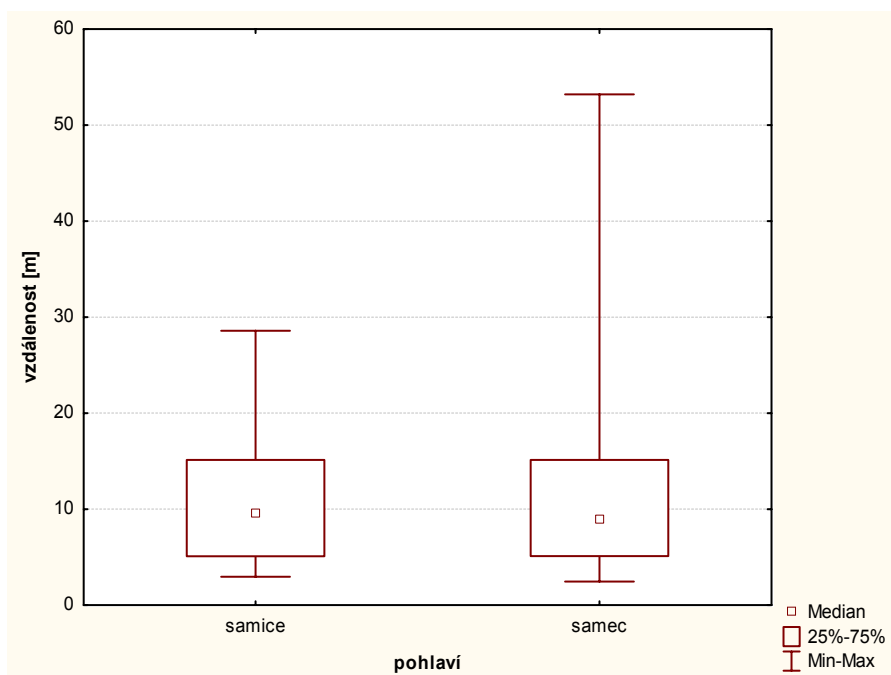


Obr. 27. Graf ušlých vzdáleností jedinci *V. caprai* ve směru nahoru/dolů po vodním toku (první – poslední odchyt).

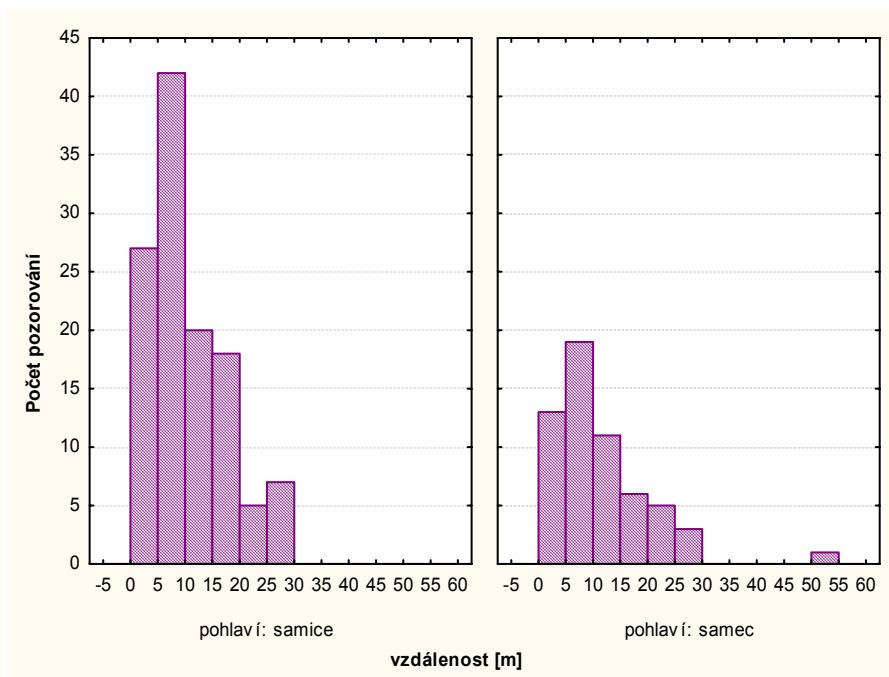


Obr. 28. Histogram znázorňující vzdálenost migrace jedinců *V. caprai* ve směru nahoru/dolů po vodním toku (první – poslední odchyt).

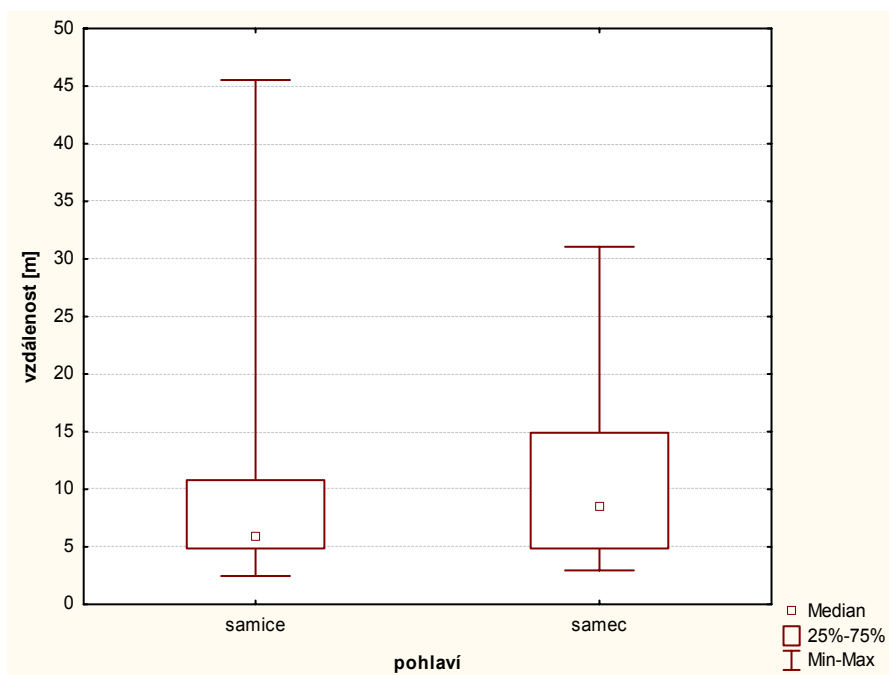
Rozdíl v překonaných vzdálenostech mezi pohlavími byl statisticky vyhodnocen jako neprůkazný a to jak ve směru nahoru ($U = 3333,5$; $p = 0,71$), tak ve směru dolů ($U = 263,5$; $p = 0,59$) po potoce. Na následujících grafech jsou znázorněny podrobnější charakteristiky (Obr. 29 – 32).



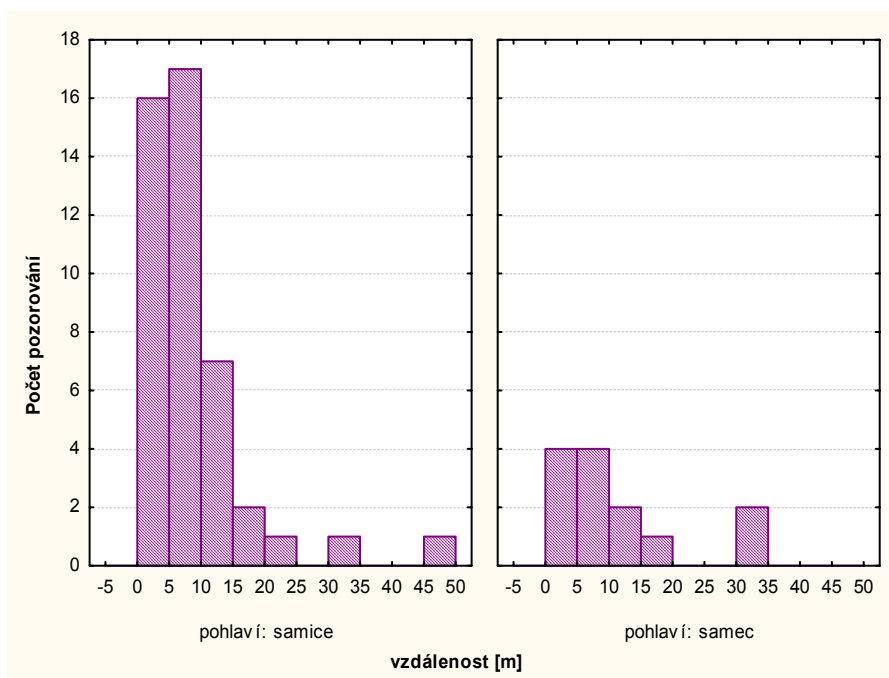
Obr. 29. Graf porovnání ušlých vzdáleností jedinců *V. caprai* mezi pohlavími ve směru nahoru po vodním toku (první – poslední odchyt).



Obr. 30. Histogram znázorňující vzdálenost migrace jedinců *V. caprai* ve směru nahoru po vodním toku, v závislosti na pohlaví (první – poslední odchyt).

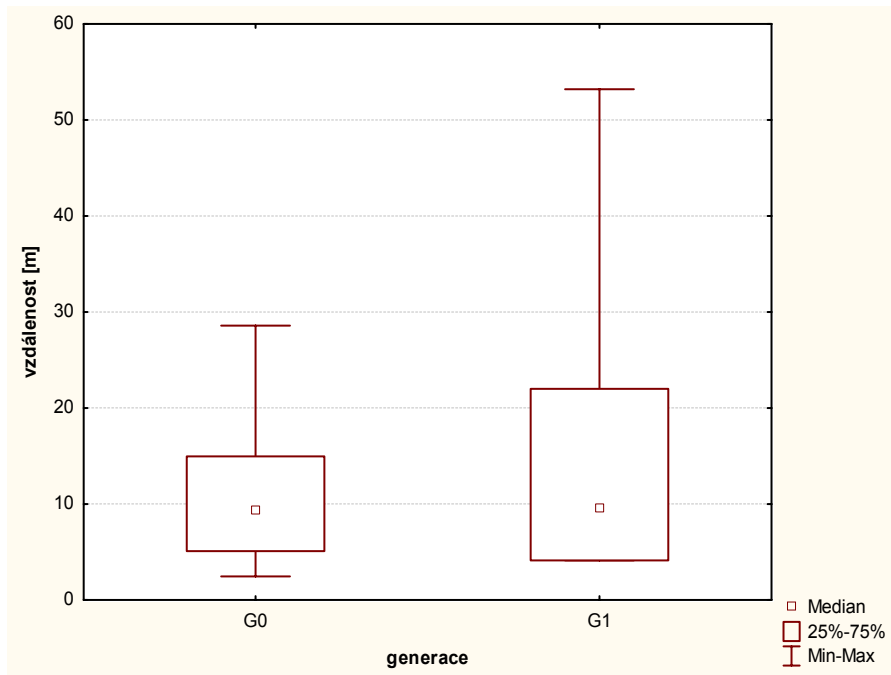


Obr. 31. Graf porovnání ušlých vzdáleností jedinců *V. caprai* mezi pohlavími ve směru dolů po vodním toku (první – poslední odchyt).

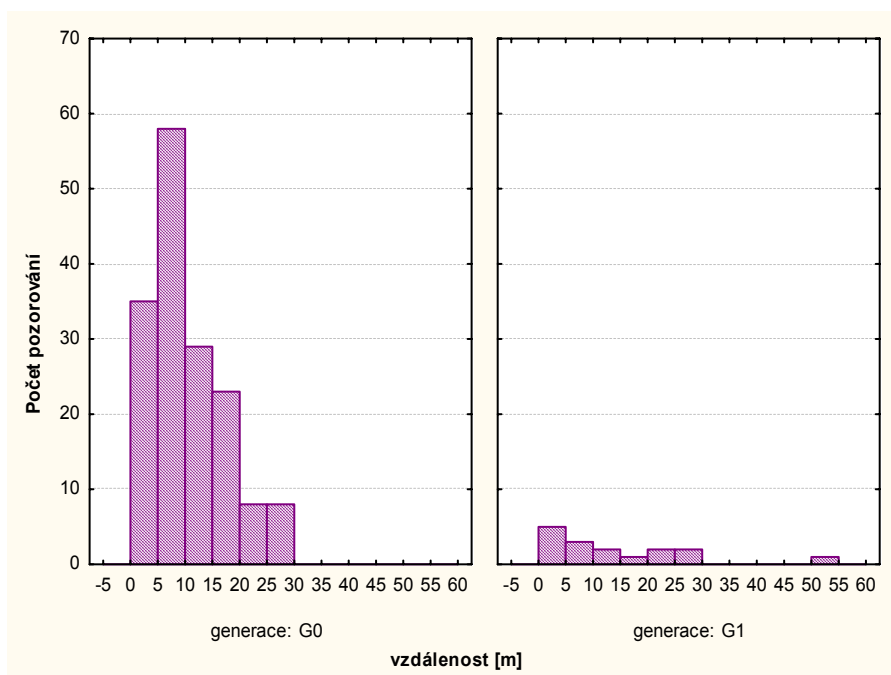


Obr. 32. Histogram znázorňující vzdálenost migrace jedinců *V. caprai* ve směru dolů po vodním toku, v závislosti na pohlaví (první – poslední odchyt).

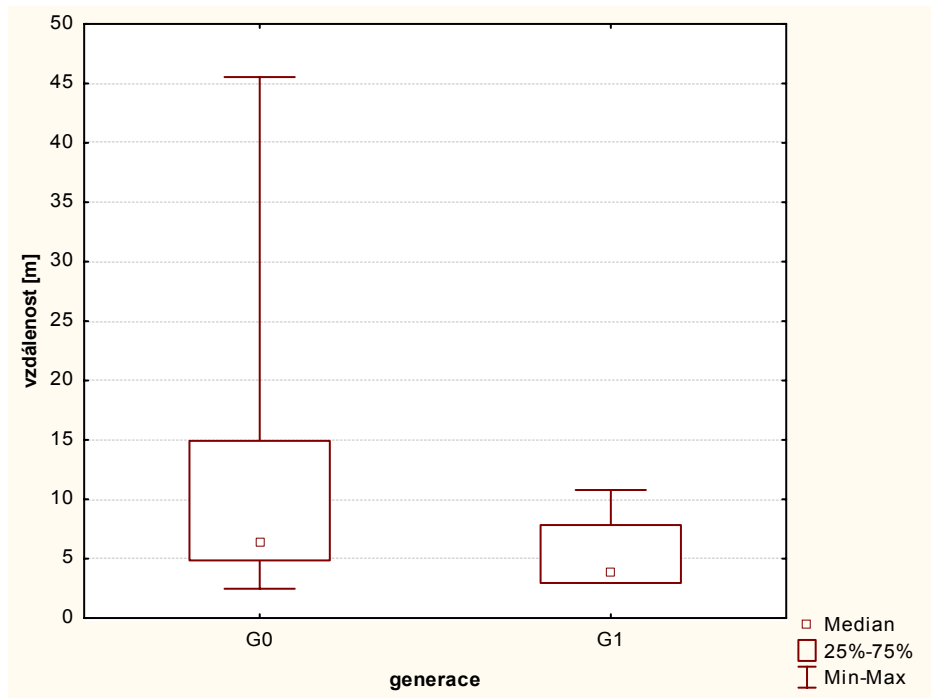
Testování hypotézy, zda se liší vzdálenost migrace mezi přezimující a novou letní generací probíhalo opět Mann-Whitney U testem. Ze získaných výsledků vyplývá závěr, že mezi generacemi se signifikantně neliší ušlá vzdálenost jedinců. To se týká jak směru pohybu nahoru ($U = 1208$; $p = 0,68$), tak směru pohybu dolů ($U = 58,5$; $p = 0,13$) po vodním toku. Obrázky 33 – 36 poskytují přehlednější výsledky získané z pozorování.



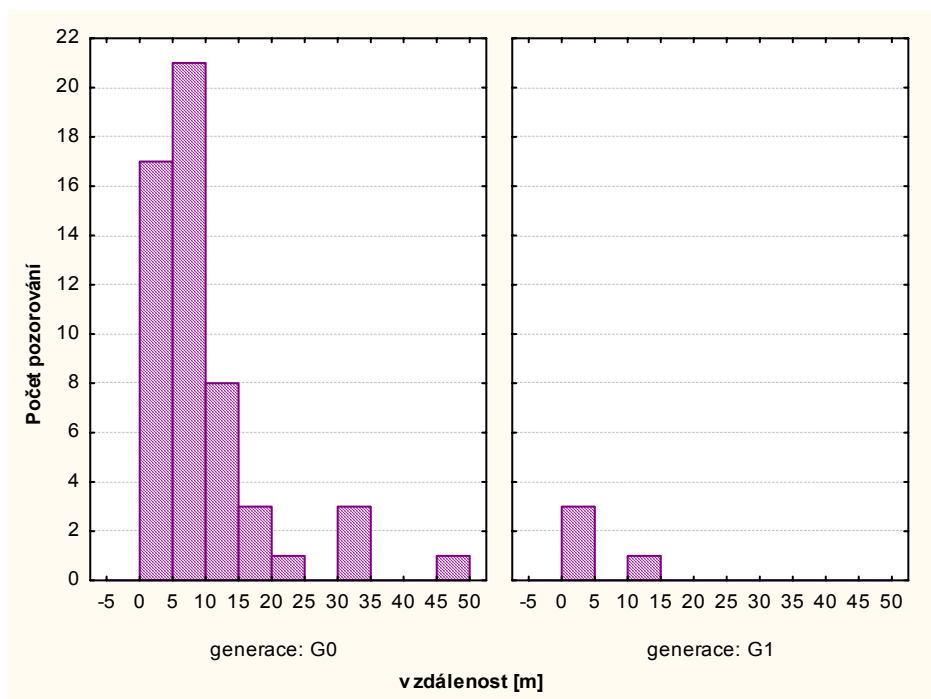
Obr. 33. Graf porovnání ušlých vzdáleností jedinců *V. caprai* mezi generacemi ve směru nahoru po vodním toku (první – poslední odchyt).



Obr. 34. Histogram znázorňující vzdálenost migrace jedinců *V. caprai* ve směru nahoru po vodním toku, v závislosti na generaci (první – poslední odchyt).



Obr. 35. Graf porovnání ušlých vzdáleností jedinců *V. caprai* mezi generacemi ve směru dolů po vodním toku (první – poslední odchyt).



Obr. 36. Histogram znázorňující vzdálenost migrace jedinců *V. caprai* ve směru dolů po vodním toku, v závislosti na generaci (první – poslední odchyt).

Zaznamenaná ujitá vzdálenost sledovaných jedinců *V. caprai* činila, jak je patrné z grafu (Obr. 27), u některých jedinců dvacet až padesát metrů proti proudu potoka. Z označených jedinců, kteří překonali největší vzdálenost ve směru nahoru nebo dolů, bylo jako příklad vybráno šest jedinců:

a) Směr nahoru

- Největší ujitá vzdálenost ve směru nahoru, proti proudu potoka, byla zaznamenána u jedince s individuální značkou „v2“. Jedná se o samce nové generace, který překonal vzdálenost 53 m, z úseku 2. - 3. na úsek 10. - 11., a to během 46 dní (4. 8. 2009 – 19. 9. 2009). Výškový rozdíl jeho pohybu činil 236 cm, přičemž musel překonat troje peřeje o celkové výšce 55 cm.
- Dalším jedincem, pohybujícím se relativně daleko ve směru proti proudu potoka, byl samec „1w“ přezimující generace. Překonal vzdálenost 28,6 m, z úseku 10. - 11. na úsek 17. - 18., během 338 dní (9. 10. 2008 – 12. 9. 2009). Zjištěný výškový rozdíl byl 121 cm, překonány byly opět troje peřeje o celkové výšce 59 cm.
- Posledním z vybraných daleko se pohybujících jedinců, je samice „ip“ přezimující generace, která ušla vzdálenost 27,3 m, z úseku 2. - 3. na 6. - 7., během 85 dní (19. 6. 2009 – 12. 9. 2009). Naměřený překonaný výškový rozdíl byl 166 cm, přičemž v cestě byly troje peřeje o celkové výšce 55 cm.

b) Směr dolů

- Největší překonaná vzdálenost ve směru dolů, po proudu potoka, byla zaznamenána u jedince s individuální značkou „bw“. Jedná se o samici přezimující generace, která překonala vzdálenost 45,5 m, z úseku 21. - 22. na úsek 10. - 11., a to během 21 dní (22. 7. 2009 – 12. 8. 2009). Výškový rozdíl jejího pohybu činil 223 cm.
- Dalším jedincem pohybujícím se daleko po proudu vodního toku byla samice „3p“ přezimující generace, která překonala vzdálenost 31 m, z úseku 11. - 12. na úsek 6. - 7., během 55 dní (1. 7. 2009 – 19. 9. 2009). Zaznamenaný výškový rozdíl byl 80 cm.

- Posledním z vybraných jedinců, je samec „jh“ přezimující generace, který ušel vzdálenost 30,2 m, z úseku 6. - 7. na 1. - 2., během 34 dní (1. 7. 2009 – 2. 8. 2009). Zjištěný výškový rozdíl byl 184 cm.

Z nákresů je zřejmé, že potok je v několika místech přehrazen nižšími i vysokými peřejemi, které nutně brání hladinatkám *V. caprai* v cestě po vodní hladině. Lze tedy předpokládat, že jedinci, kteří během pohybu překonali některé z vyšších peřejí („vodopádky“ až 35 cm vysoké), museli ke svému pohybu použít spíše břeh potoka, než obtížně schůdnou cestu korytem vodního toku. Na sledovaném hlavním toku A jsou tři relativně vysoké peřeje (dvě o velikosti 35 cm a jedna 30 cm). Pro názornost je uveden počet jedinců, kteří při svém pohybu tyto peřeje překonali. Peřej vysokou 30 cm v úseku 6. - 7. překonalo 25 ♀♀, 11 ♂♂ (Obr. 37). Z hlediska generace se jednalo o 27 jedinců přezimující generace a 9 jedinců generace nové.



Obr. 37. Peřej v úseku 6. – 7. vysoká 30 cm. Foto T. Ditrich.

Peřej v úseku 13. - 14., která je vysoká 35 cm, překonalo 18 ♀♀ a 15 ♂♂. Vzhledem ke generaci, šlo o 30 jedinců generace přezimující a 3 jedince nové generace. Třetí peřej za úsekem 18. - 19., kde následně potok pokračuje rourou, je vysoká 35 cm. Ti jedinci, kteří překonali tuto peřej, se tak zároveň dostali přes cestu, pod kterou vede roura spojující dvě části potoka (Obr. 38). Jednalo se o 4 ♀♀ a 1 ♂♂, všichni jedinci byli z přezimující generace. Vzhledem k tomu, že potok protéká rourou relativně prudce a stěny roury jsou kluzké, lze předpokládat, že tito jedinci překonali danou vzdálenost po zemi.

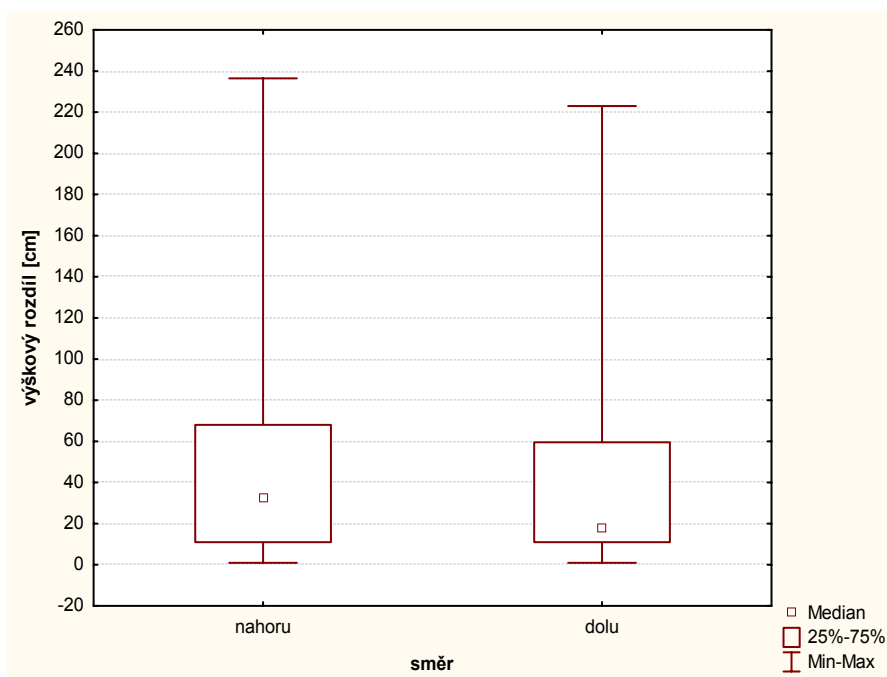


Obr. 38. Peřej (35cm) a betonová roura, spojující dvě části potoka. Foto T. Ditrich.

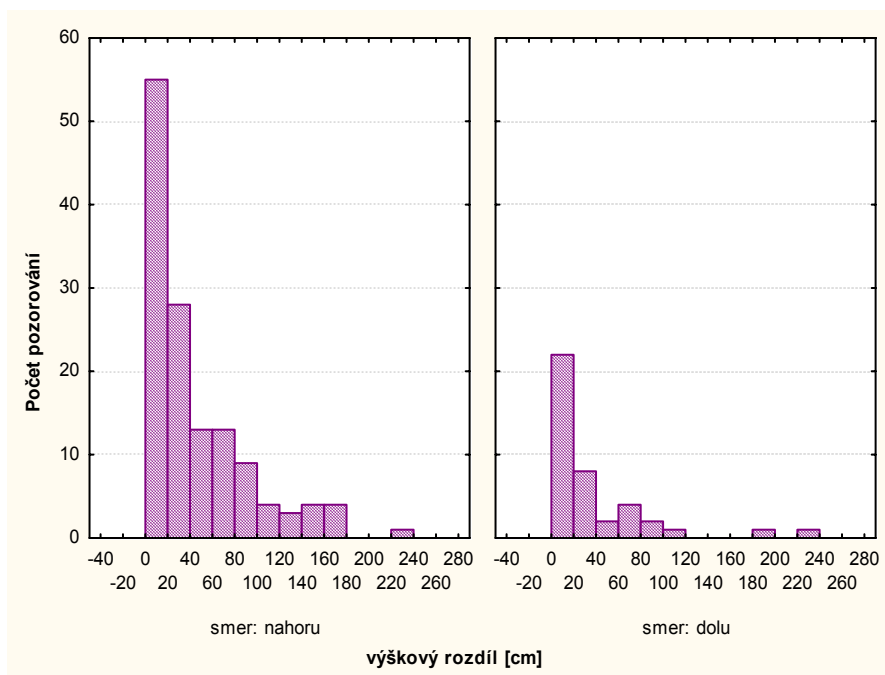
Důkazem toho, že hladinatky *V. caprai* se nepohybují pouze po vodní hladině, ale chodí i po březích skrz vegetaci, jsou také dva označení jedinci odchycení v podmáčené oblasti úseku A1, tedy cca 8 – 10 m od potoka.

4.3.4 Výškový rozdíl

Dalším jevem sledovaným během experimentu byl výškový rozdíl hladin, který při svém pohybu překonali označení jedinci *V. caprai*. Tento výškový rozdíl byl opět hodnocen jak ve směru nahoru, tak ve směru dolů po vodním toku. Nejprve byly testy provedeny pro 1. - 2. odchyt a poté pro první až poslední odchyt. Pro 1. – 2. odchyt bez ohledu na pohlaví či generaci byl výškový rozdíl směrem nahoru/dolů neprůkazný ($U = 2325$; $p = 0,14$). Medián výškového rozdílu proti proudu byl vyšší než medián výškového rozdílu po proudu, stejně jako maximální výškový rozdíl (Obr. 39). V obou směrech byl nejčastěji zaznamenán relativně malý překonaný výškový rozdíl (do 40 m) (Obr. 40).

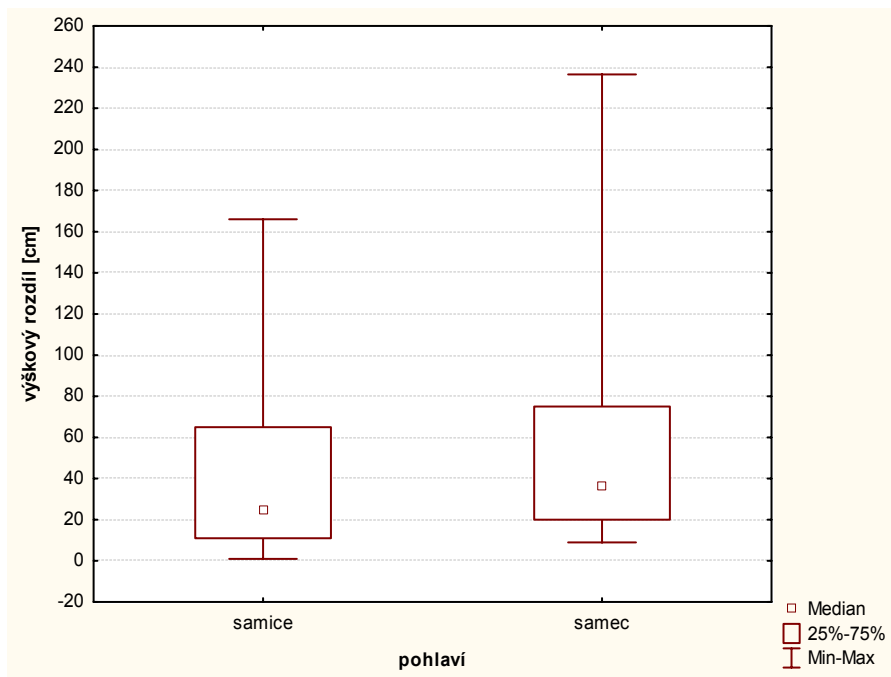


Obr. 39. Graf výškového rozdílu překonaného jedinci *V. caprai* ve směru nahoru/dolů po vodním toku (1. – 2. odchyt).

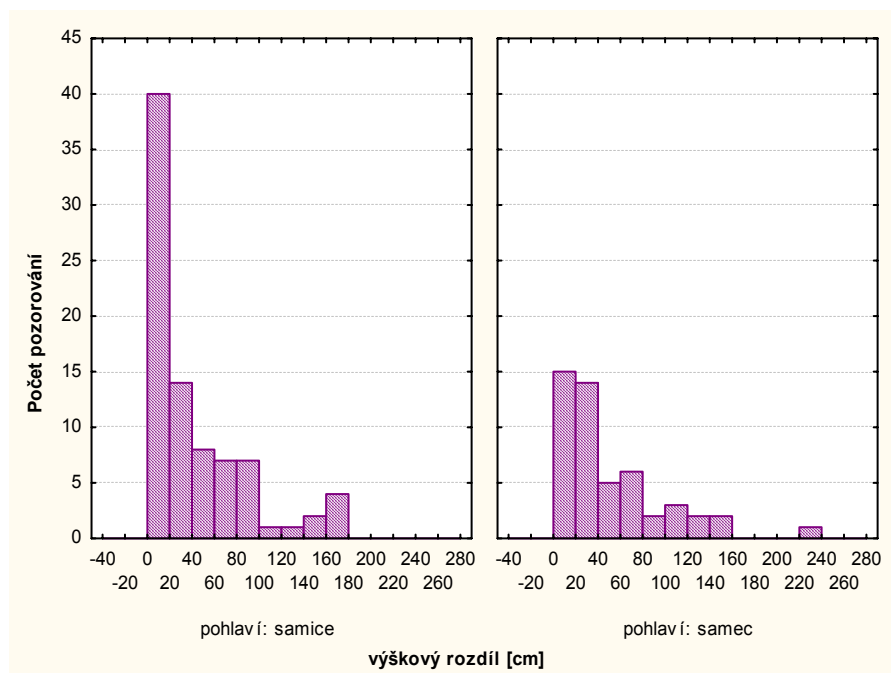


Obr. 40. Histogram znázorňující překonaný výškový rozdíl jedinců *V. caprai* ve směru nahoru/dolů po vodním toku (1. – 2. odchyt).

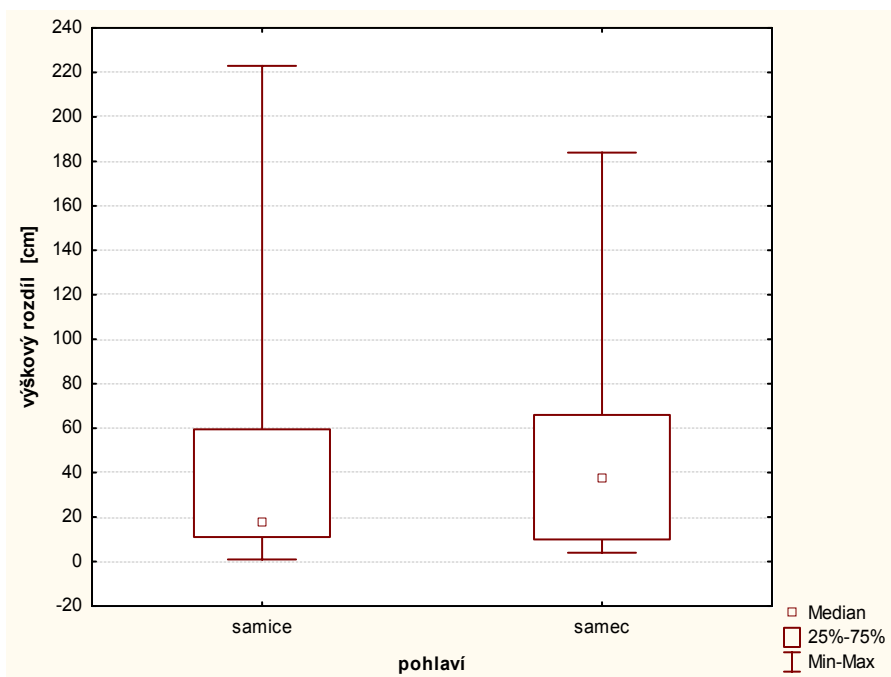
Pro 1. – 2. odchyt byl poté testován stejný jev, ovšem ve vztahu k pohlaví a generaci. Samostatně probíhalo hodnocení výškového rozdílu ve směru nahoru a ve směru dolů. Mezi samci a samicemi nebyl prokázán signifikantní rozdíl v překonané výšce, jak ve směru nahoru ($U = 1735$; $p = 0,09$), tak ve směru dolů ($U = 130$; $p = 0,45$) po vodním toku. Podrobnější výsledky jsou znázorněny na následujících grafech (Obr. 41 – 44).



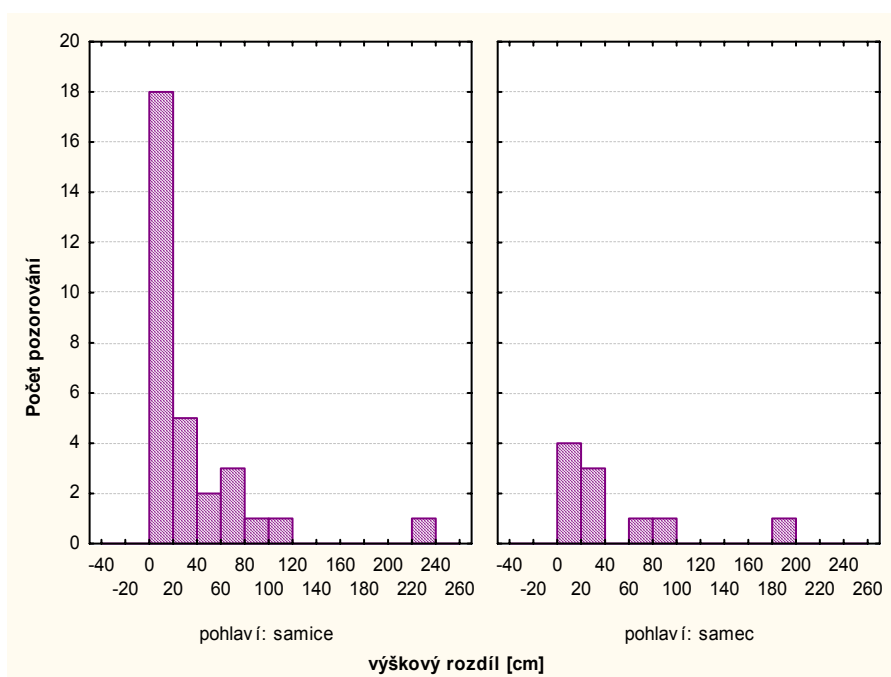
Obr. 41. Graf porovnání překonaných výškových rozdílů jedinci *V. caprai* mezi pohlavími, ve směru nahoru po vodním toku (1. – 2. odchyt).



Obr. 42. Histogram znázorňující překonaný výškový rozdíl jedinci *V. caprai* ve směru nahoru po vodním toku, v závislosti na pohlaví (1. – 2. odchyt).

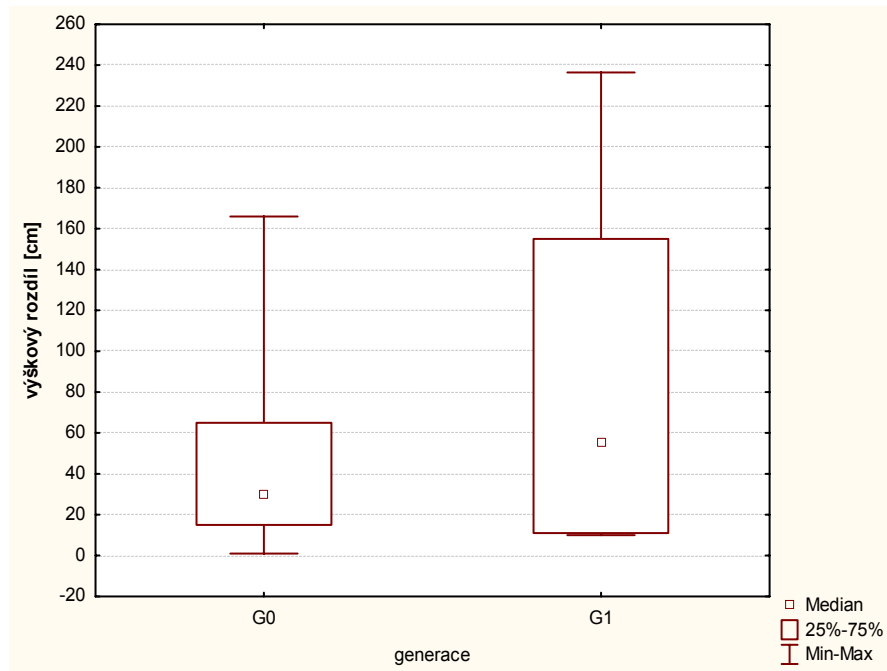


Obr. 43. Graf porovnání překonaných výškových rozdílů jedinci *V. caprai* mezi pohlavími, ve směru dolů po vodním toku (1. – 2. odchyt).

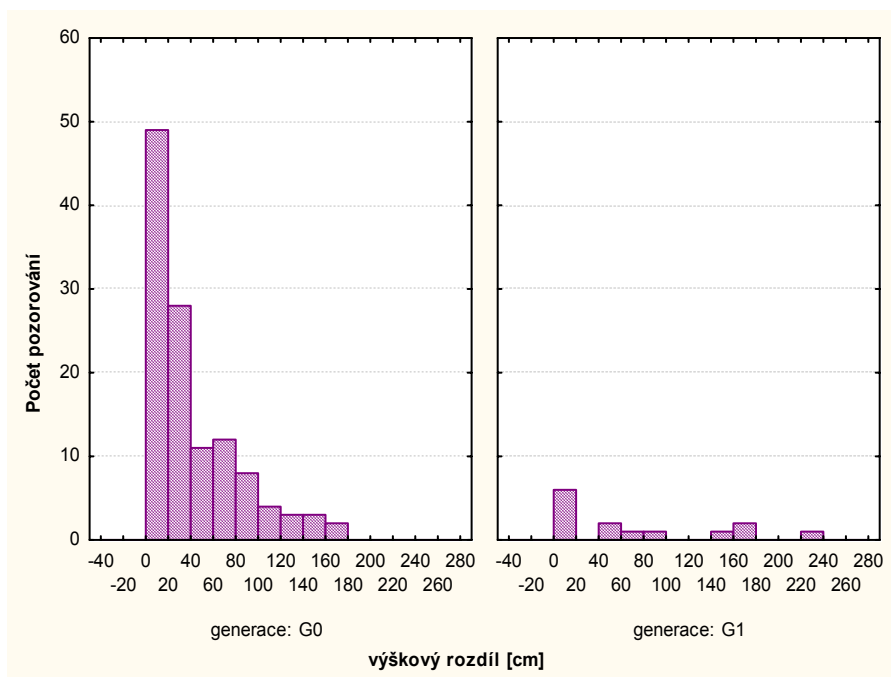


Obr. 44. Histogram znázorňující překonaný výškový rozdíl jedinci *V. caprai* ve směru dolů po vodním toku, v závislosti na pohlaví (1. – 2. odchyt).

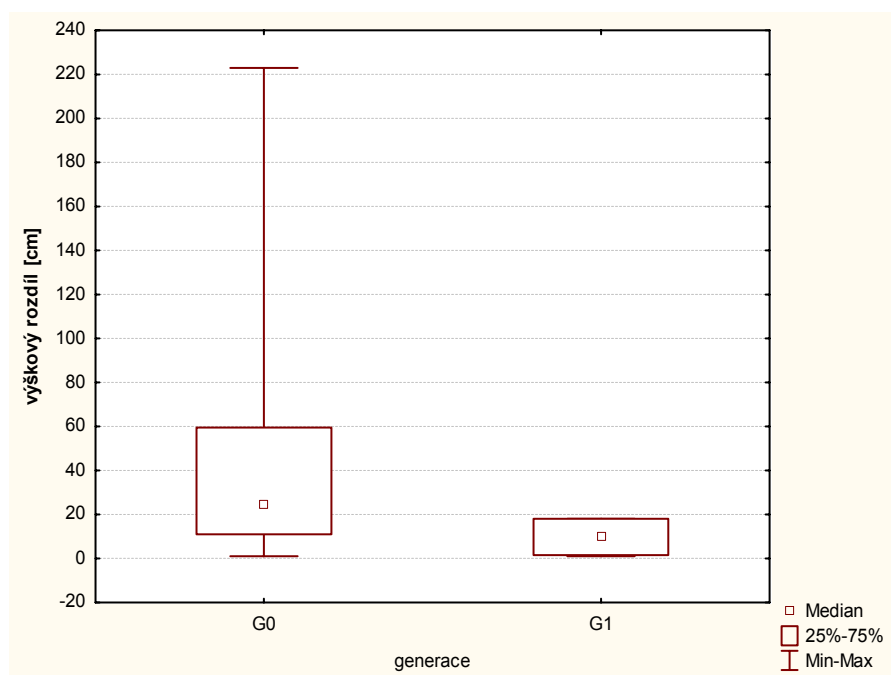
Zda se překonané výškové rozdíly liší mezi přezimující a novou letní generací bylo posuzováno opět Mann-Whitney U testem. Výsledky ukázaly, že tento rozdíl není mezi generacemi průkazný a to jak ve směru nahoru ($U = 705,5$; $p = 0,33$), tak ve směru dolů ($U = 38,5$; $p = 0,12$) po vodním toku. Ostatní zjištěné charakteristiky jsou zaznamenány pomocí grafů (Obr. 45 – 48).



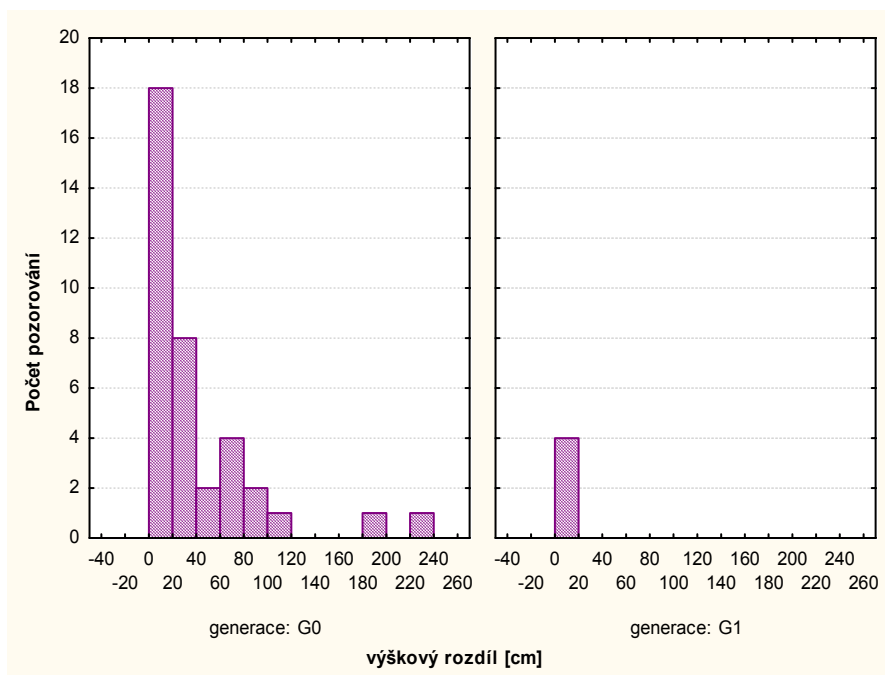
Obr. 45. Graf porovnání překonaných výškových rozdílů jedinci *V. caprai* mezi generacemi, ve směru nahoru po vodním toku (1. – 2. odchyt).



Obr. 46. Histogram znázorňující překonaný výškový rozdíl jedinci *V. caprai* ve směru nahoru po vodním toku, v závislosti na generaci (1. – 2. odchyt).

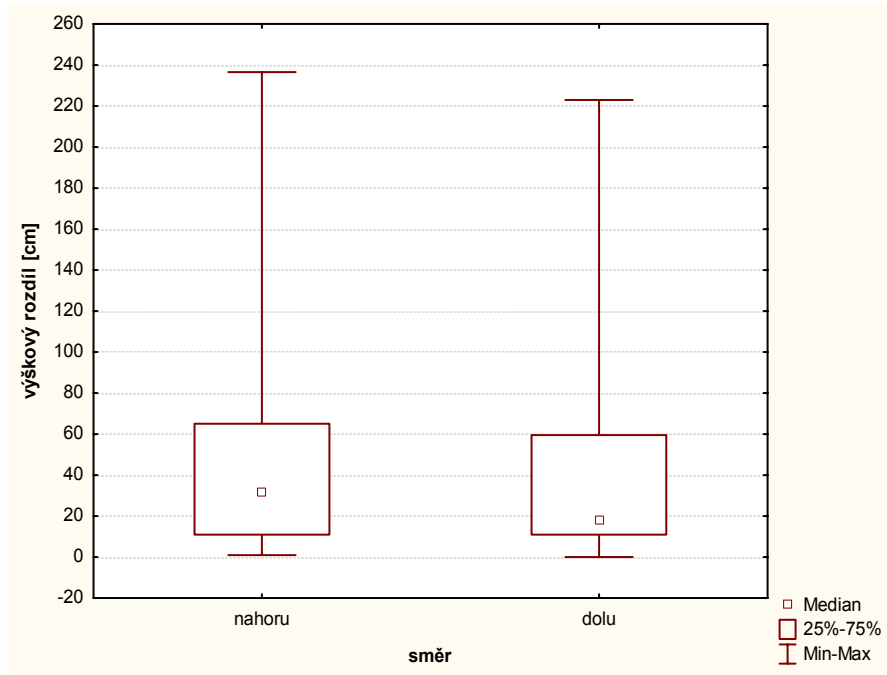


Obr. 47. Graf porovnání překonaných výškových rozdílů jedinci *V. caprai* mezi generacemi, ve směru dolů po vodním toku (1. – 2. odchyt).

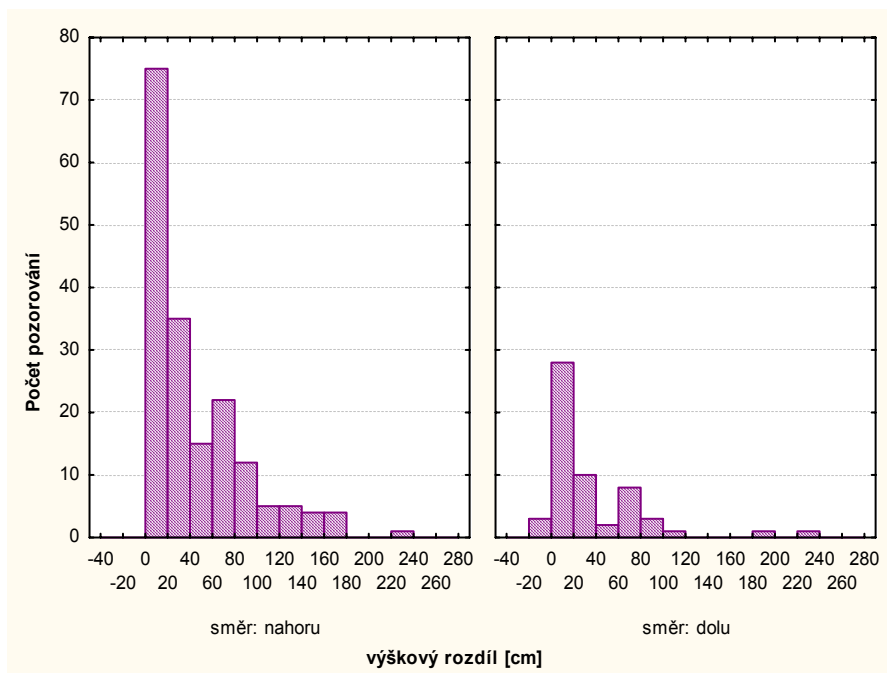


Obr. 48. Histogram znázorňující překonaný výškový rozdíl jedinci *V. caprai* ve směru dolů po vodním toku, v závislosti na generaci (1. – 2. odchyt).

Pro první až poslední odchyt, tedy pro celkový počet označených a zpětně odchytených jedinců *V. caprai*, byly provedeny tytéž testy, jako pro 1. – 2. odchyt. Překonaný výškový rozdíl byl analyzován Mann-Whitney U testem nejprve pro všechny odchyty celkem, ve směru nahoru/dolů bez ohledu na pohlaví a generaci. Tento test byl statisticky neprůkazný ($U = 4350$; $p = 0,11$). Podrobnější představu o získaných závěrech poskytují následující grafy (Obr. 49, 50).

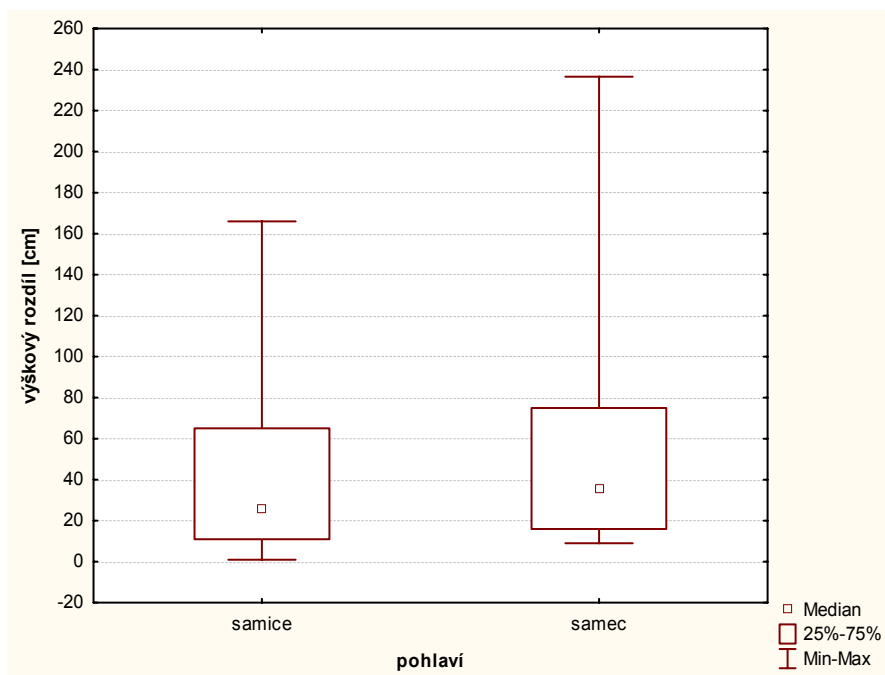


Obr. 49. Graf výškového rozdílů překonaného jedinci *V. caprai* ve směru nahoru/dolů po vodním toku (první – poslední odchyt).

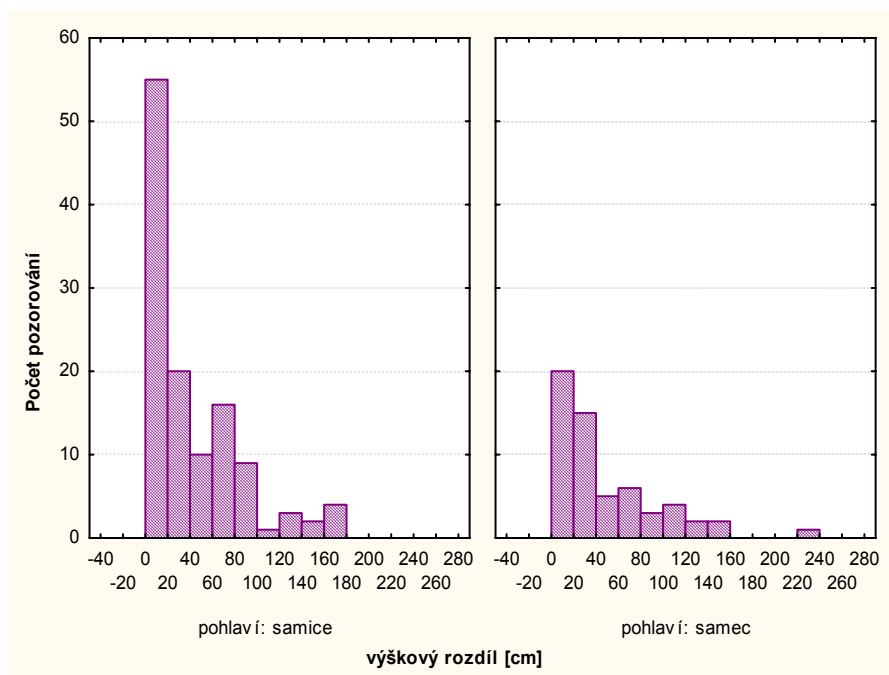


Obr. 50. Histogram znázorňující překonaný výškový rozdíl jedinci *V. caprai* ve směru nahoru/dolů po vodním toku (první – poslední odchyt).

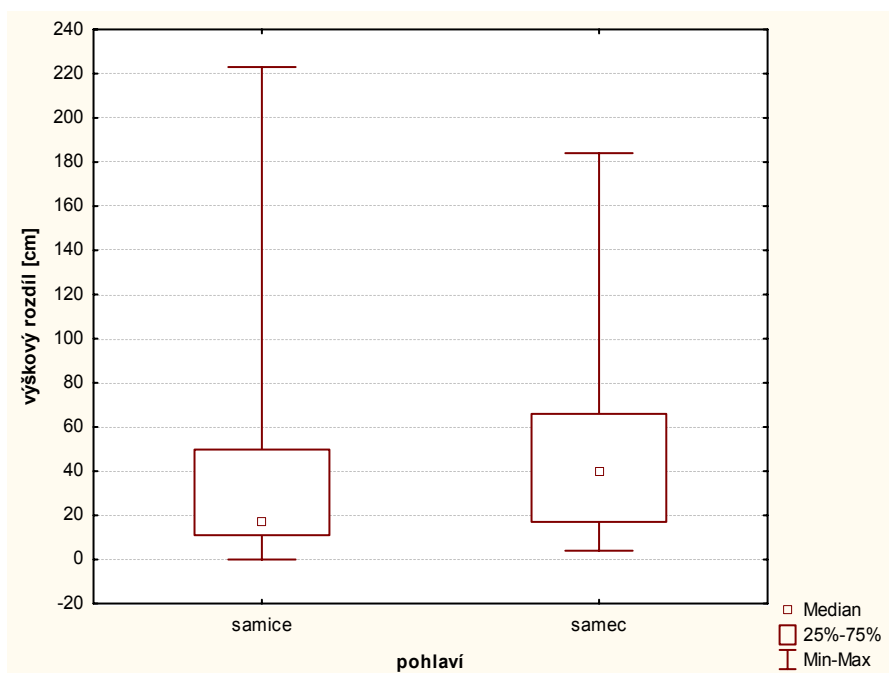
Následně byly analyzovány výškové rozdíly pro celkové odchyty v souvislosti s pohlavím a generací. Mezi samci a samicemi nebyl nalezen signifikantní rozdíl mezi překonanými výškami a to v obou směrech po vodním toku (nahoru: $U = 2967$; $p = 0,11$ a dolů: $U = 201$; $p = 0,11$). Další zjištěné charakteristiky jsou zřehledněny v grafech (Obr. 51 – 54).



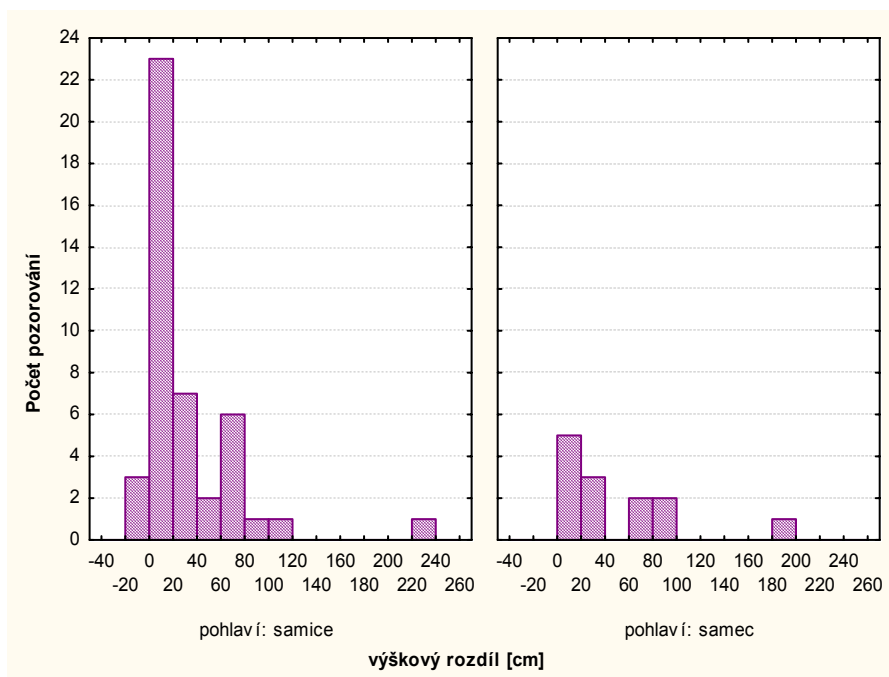
Obr. 51. Graf porovnání překonaných výškových rozdílů jedinci *V. caprai* mezi pohlavími, ve směru nahoru po vodním toku (první – poslední odchyt).



Obr. 52. Histogram znázorňující překonaný výškový rozdíl jedinci *V. caprai* ve směru nahoru po vodním toku, v závislosti na pohlaví (první – poslední odchyt).

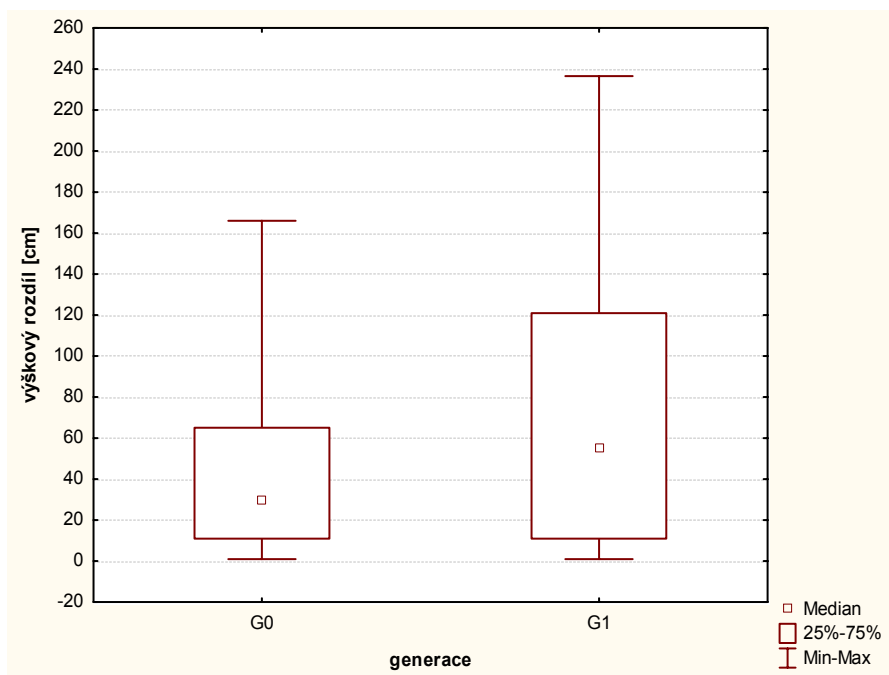


Obr. 53. Graf porovnání překonaných výškových rozdílů jedinci *V. caprai* mezi pohlavími, ve směru dolů po vodním toku (první – poslední odchyt).

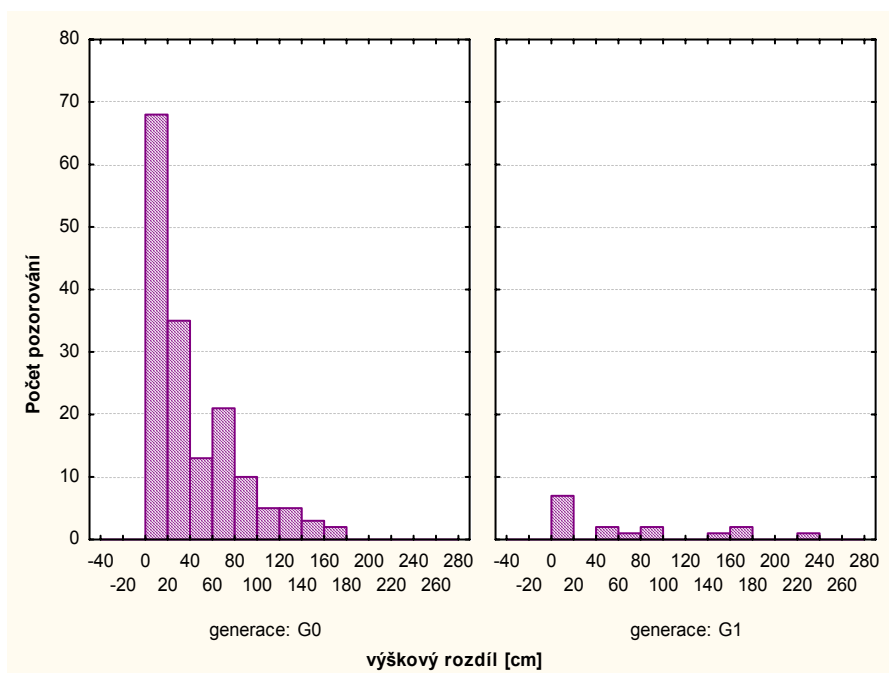


Obr. 54. Histogram znázorňující překonaný výškový rozdíl jedinci *V. caprai* ve směru dolů po vodním toku, v závislosti na pohlaví (první – poslední odchyt).

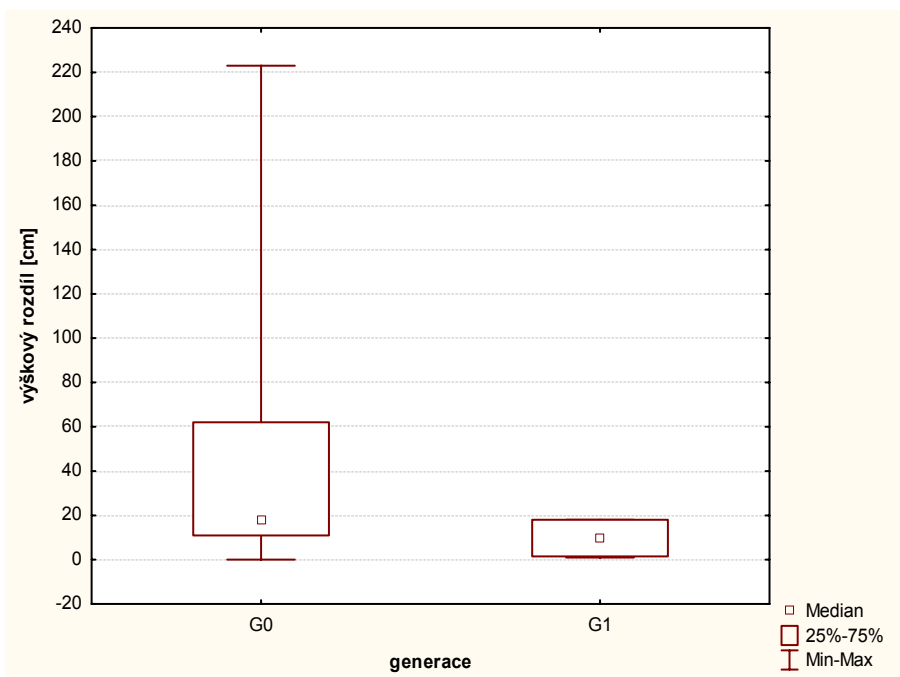
Překonané výškové rozdíly, hodnocené z hlediska generace, byly testovány také Mann-Whitneyovým testem. Statisticky průkazný rozdíl mezi přezimující a novou letní generací nebyl potvrzen. Tento závěr se týká jak směru pohybu nahoru ($U = 1113$; $p = 0,35$), tak směru pohybu dolů ($U = 63$; $p = 0,18$) po vodním toku. Přehlednější výsledky získané z pozorování jsou uvedeny v grafech (Obr. 55 – 58).



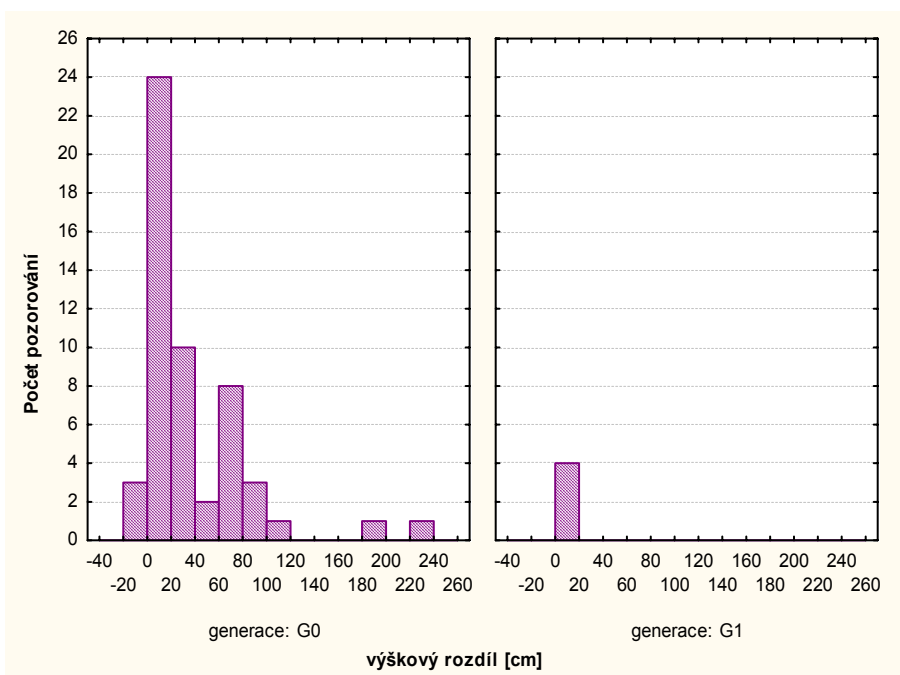
Obr. 55. Graf porovnání překonaných výškových rozdílů jedinci *V. caprai* mezi generacemi, ve směru nahoru po vodním toku (první – poslední odchyt).



Obr. 56. Histogram znázorňující překonaný výškový rozdíl jedinci *V. caprai* ve směru nahoru po vodním toku, v závislosti na generaci (první – poslední odchyt).



Obr. 57. Graf porovnání překonaných výškových rozdílů jedinci *V. caprai* mezi generacemi, ve směru dolů po vodním toku (první – poslední odchyt).



Obr. 58. Histogram znázorňující překonaný výškový rozdíl jedinci *V. caprai* ve směru dolů po vodním toku, v závislosti na generaci (první – poslední odchyt).

4.3.5 Abundance populace

Odhad abundance byl proveden pomocí Lincoln-Petersonova indexu, který udává poměr mezi označenými jedinci, k celkovému počtu jedinců v rámci dvou odchyťů. K výpočtu byl použit vzorec:

$$G = \frac{y \cdot M}{m}$$

Jelikož ale tento odhad může být vychýlený, byl použit také vzorec pro méně vychýlený odhad:

$$G = \frac{(M + 1) \cdot (y + 1)}{(m + 1)}$$

V jarním období roku 2009 (30. 4. 2009 – 7. 5. 2009) činila zjištěná abundance populace na sledovaném potoku 592, respektive 536 jedinců *V. caprai*. Během měsíce května (7. 5. 2009 – 16. 5. 2009) početnost populace vzrostla na 821, respektive 777 jedinců. Na konci července (22. 7. 2009 – 24. 7. 2009), kdy byla naposledy značena přezimující generace, se abundance snížila na 320, respektive 280 jedinců *V. caprai*. V období srpna (12. 8. 2009 – 29. 8. 2009) byla zaznamenána početnost populace 728, respektive 646 jedinců *V. caprai*.

Pomocí programu MARK byla zjištěna jednak průměrná hodnota přežití jedinců *V. caprai* mezi dvěma odchyty (0,972801413), a jednak pravděpodobnost zpětného odchyty jedinců *V. caprai* (0,177361).

4.4 Individuální značení na stojatých vodách

Část experimentu, která se uskutečnila na stojatých vodách, probíhala od srpna 2009 do října 2009. Během pokusu bylo označeno 215 jedinců druhu *G. lacustris* a 78 jedinců druhu *A. paludum*. Zpětně odchyceno nejméně jednou pak bylo 101 jedinců druhu *G. lacustris* a 31 jedinců druhu *A. paludum*. Nejvýše došlo k odchytu jednoho jedince 4x. Podrobnější informace jsou zaznamenány v tabulkách (Tab. XXIII - XXIV).

Tab. XXIII. Počet/procenta označených a zpětně odchycených jedinců *A. paludum* (♂♂/♀♀, MP/BP).

	celkem označeno A.pal.	odchyceno 1x A.pal.	odchyceno 2x A.pal.	odchyceno 3x A.pal.	odchyceno 4x A.pal.
počet	78	31	12	4	0
procenta	100	39,7	15,4	5,1	0
♂♂	22	10	5	0	0
♀♀	56	21	7	4	0
MP/BP	67/11	27/4	9/3	3/1	0/0

Tab. XXIV. Počet/procenta označených a zpětně odchycených jedinců *G. lacustris* (♂♂/♀♀, MP/BP).

	celkem označeno G.lac.	odchyceno 1x G.lac.	odchyceno 2x G.lac.	odchyceno 3x G.lac.	odchyceno 4x G.lac.
počet	215	101	33	10	2
procenta	100	47	15,3	4,7	0,9
♂♂	78	42	13	4	1
♀♀	137	59	20	6	1
MP/BP	156/59	75/26	21/12	7/3	2/0

4.4.1 Pohyb po vodní hladině

Při experimentu bylo sledováno, zda u označených jedinců druhu *G. lacustris* a *A. paludum* dochází k pohybu po vodní hladině. Další otázkou bylo, jestli se liší míra pohybu mezi pohlavími (♂♂ x ♀♀) a mezi křídelními morfami (MP x BP). Byla testována změna úseku mezi 1. – 2. odchytem a mezi prvním a posledním odchytem.

Nejprve byly testy provedeny pro druh *G. lacustris*. Nulová hypotéza byla formulována jako stejná míra toho, že se jedinci *G. lacustris* pohybují a zůstávají na místě. Pro 1. – 2. odchyt celkem, bez ohledu na pohlaví či křídelní morfy, byl výsledek statisticky neprůkazný ($\chi^2 = 0,25$; $df = 1$; $p = 0,62$). Z výsledků vyplývá závěr, že jedinci *G. lacustris* se pohybují po vodní hladině, ale ne ve větší míře, než zůstávají na místě. Dále byl hodnocen pohyb ve vztahu k pohlaví a křídelním morfám (Tab. XXV - XXVI). Mezi 1. – 2. odchytem nebyl zaznamenán signifikantní rozdíl v pohybu mezi pohlavími ($\chi^2 = 0,68$; $df = 1$; $p = 0,41$), ani mezi křídelními morfami ($\chi^2 = 0,38$; $df = 1$; $p = 0,54$).

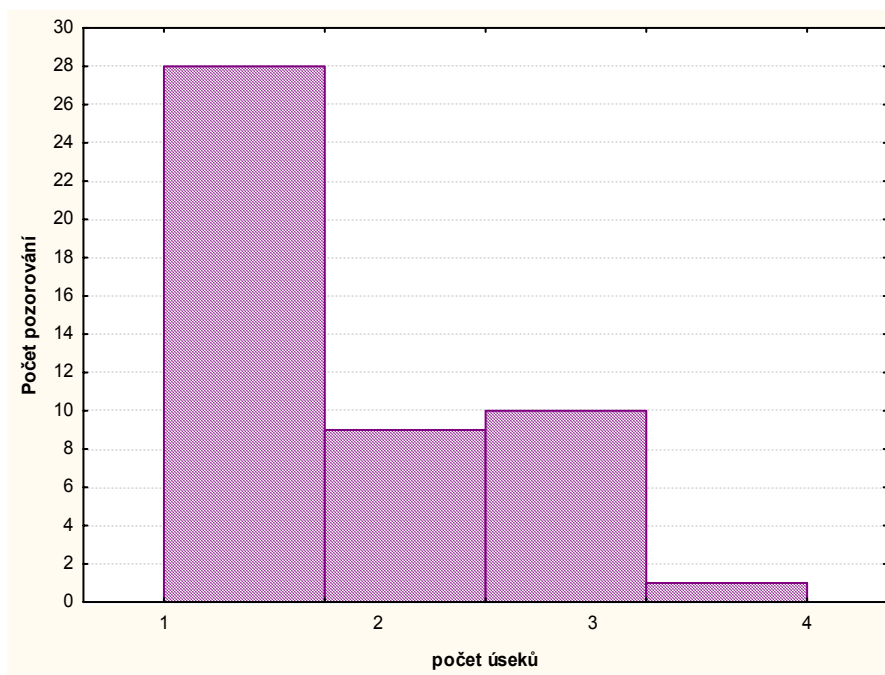
Tab. XXV. Pohyb *G. lacustris* mezi 1. – 2. odchytom v závislosti na pohlaví.

pohlaví	pohyb ano	pohyb ne	součet
♂♂	22	20	42
♀♀	26	33	59
♂♂ + ♀♀	48	53	101

Tab. XXVI. Pohyb *G. lacustris* mezi 1. – 2. odchytom v závislosti na křídelních morfách.

morfa	pohyb ano	pohyb ne	součet
MP	37	38	75
BP	11	15	26
MP + BP	48	53	101

S pohybem souvisí také otázka, týkající se překonaných úseků během pohybu po vodní hladině. Nejvíce z označených jedinců *G. lacustris* mezi 1. – 2. odchytom bylo zaznamenáno o jeden úsek vedle místa, kde byli po označení vypuštěni. Přibližně stejný počet jedinců překonal dva až tři úseky a pouze jeden jedinec byl zjištěn o čtyři úseky dále (Obr. 59).



Obr. 59. Počet překonaných úseků během pohybu jedinci *G. lacustris*, mezi 1. – 2. odchytem.

Stejně testy byly u druhu *G. lacustris* provedeny i pro všechny odchyty celkem. Pro první až poslední odchyt, bez ohledu na pohlaví a křídelní morfy, nebyl získaný výsledek signifikantní ($\chi^2 = 1,0$; $df = 1$; $p = 0,32$). Poté byl analyzován pohyb *G. lacustris* ve vztahu k pohlaví a křídelním morfám (Tab. XXVII - XXVIII). Mezi prvním a posledním odchytem byl zjištěný rozdíl neprůkazný a to jak v pohybu mezi pohlavími ($\chi^2 = 1,89$; $df = 1$; $p = 0,12$), tak mezi křídelními morfami ($\chi^2 = 0,20$; $df = 1$; $p = 0,65$).

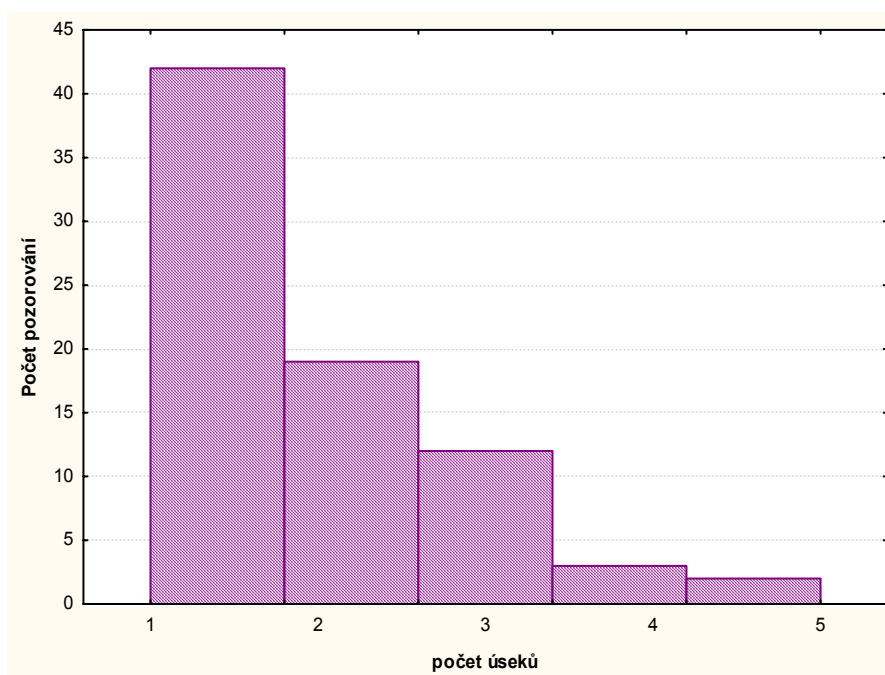
Tab. XXVII . Pohyb *G. lacustris* mezi prvním a posledním odchytem v závislosti na pohlaví.

pohlaví	pohyb ano	pohyb ne	součet
♂♂	42	43	85
♀♀	36	23	59
♂♂ + ♀♀	78	66	144

Tab. XXVIII. Pohyb *G. lacustris* mezi prvním a posledním odchytem v závislosti na křídelních morfách.

morfa	pohyb ano	pohyb ne	součet
MP	57	46	103
BP	21	20	41
MP + BP	78	66	144

Počet překonaných úseků jedinci *G. lacustris* mezi prvním a posledním odchytem rozložením odpovídá počtu překonaných úseků mezi 1. – 2. odchytem. Navíc jsou v grafu pouze dva jedinci, kteří se vzdálili pět úseků od místa svého vypuštění (Obr. 60).



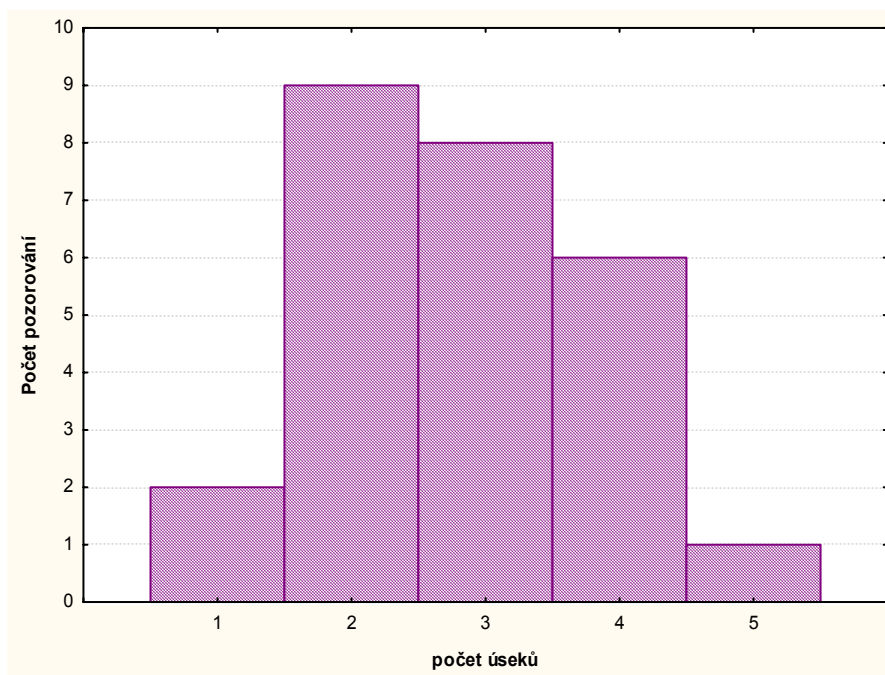
Obr. 60. Počet překonaných úseků během pohybu jedinci *G. lacustris*, mezi prvním a posledním odchytem.

Data pro druh *A. paludum* byla analyzována testem dobré shody (χ^2 testem) jako u druhu *G. lacustris*. Jediný rozdíl spočívá v tom, že u druhu *A. paludum* nebyl samostatně hodnocen rozdíl v pohybu mezi křídelnými morfami. Důvodem byl velmi nízký počet BP jedinců ($n = 4$), kteří se všichni vzdálili ze svého místa vypuštění. Data pro MP a BP jedince byla proto sloučena dohromady. Pro 1. – 2. odchyt celkem, bez ohledu na pohlaví, byl zaznamenán průkazný rozdíl v pohybu ($\chi^2 = 14,23$; $df = 1$; $p < 10^{-3}$). Lze tedy konstatovat, že jedinci *A. paludum* se s větší pravděpodobností vzdálí z místa vypuštění, než že zůstanou na místě. Poté byl hodnocen pohyb ve vztahu k pohlaví (Tab. XXIX). Mezi 1. – 2. odchylem nebyl zjištěn signifikantní rozdíl v pohybu mezi pohlavími ($\chi^2 = 2,1$; $df = 1$; $p = 0,15$).

Tab. XXIX. Pohyb *A. paludum* mezi 1. – 2. odchylem v závislosti na pohlaví.

pohlaví	pohyb ano	pohyb ne	součet
♂♂	19	2	21
♀♀	7	3	10
♂♂ + ♀♀	26	5	31

Během pohybu jedinců *A. paludum* po vodní hladině, mezi 1. – 2. odchylem, byly nejčastěji překonány dva až čtyři úseky. O jeden úsek se vzdálili pouze dva jedinci a o pět úseků pouze jeden jedinec (Obr. 61).



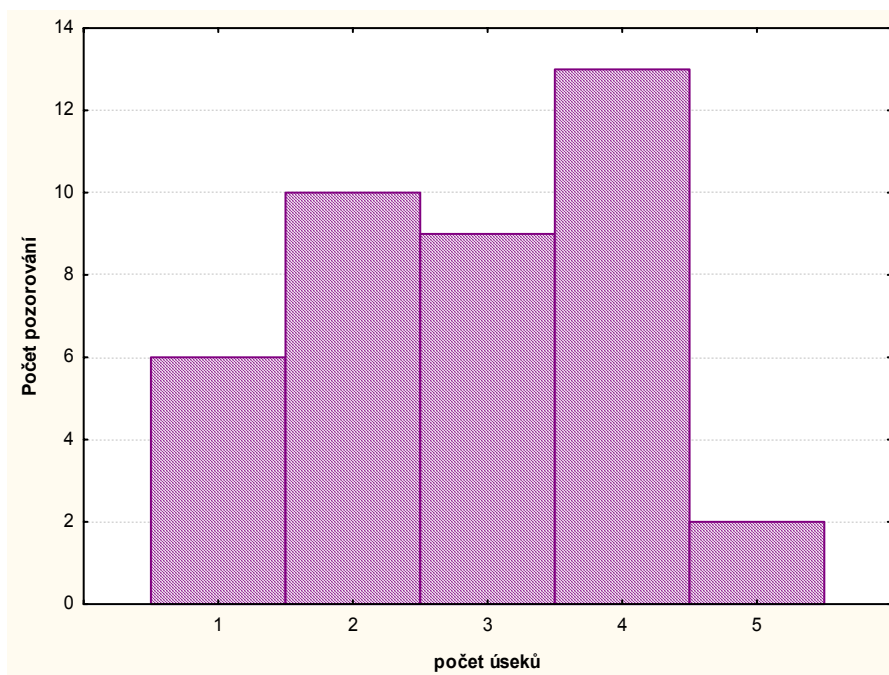
Obr. 61. Počet překonaných úseků během pohybu jedinci *A. paludum*, mezi 1. – 2. odchytem.

Pro všechny odchyty celkem byly u druhu *A. paludum* provedeny tytéž testy, jako pro 1. – 2. odchyt. Pro první až poslední odchyt, bez ohledu na pohlaví, byl výsledek vyhodnocen jako statisticky vysoce průkazný ($\chi^2 = 23,17$; $df = 1$; $p < 10^{-5}$). Závěr je tedy stejný jako mezi 1. -2. odchytem – jedinci *A. paludum* se průkazně vzdalují z místa vypuštění, spíše než zůstávají na místě. Následně byl analyzován pohyb *A. paludum* ve vztahu k pohlaví (Tab. XXX). Mezi prvním a posledním odchytem nebyl signifikantní rozdíl v pohybu mezi pohlavími ($\chi^2 = 0,45$; $df = 1$; $p = 0,50$).

Tab. XXX. Pohyb *A. paludum* mezi prvním a posledním odchytem v závislosti na pohlaví.

pohlaví	pohyb ano	pohyb ne	součet
♂♂	28	4	32
♀♀	12	3	15
♂♂ + ♀♀	40	7	47

Mezi prvním a posledním odchytem byly opět nejčastěji překonávány dva až čtyři úseky. Jen dva jedinci *A. paludum* se vzdálili o pět úseků oproti místu svého vypuštění (Obr. 62).



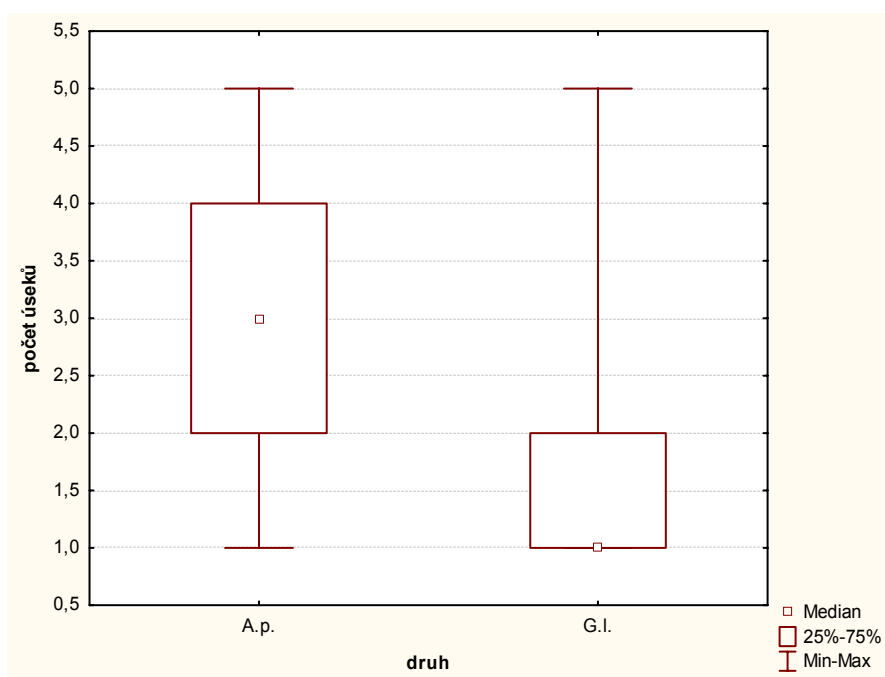
Obr. 62. Počet překonaných úseků během pohybu jedinci *A. paludum*, mezi prvním a posledním odchytem.

Nakonec byla testována míra pohybu v závislosti na jednotlivých druzích (*G. lacustris*, *A. paludum*) a to pro všechny odchyty celkem, bez ohledu na pohlaví či křídelní morfy (Tab. XXXI). Míra pohybu mezi oběma druhy se statisticky průkazně lišila ($\chi^2 = 14,37$; $df = 1$; $p < 10^{-3}$). Můžeme tedy říci, že jedinci druhu *A. paludum* se pohybují ve větší míře, než jedinci druhu *G. lacustris*. Porovnání překonaných úseků mezi oběma druhy bylo testováno za pomoci Mann-Whitney *U* testu, kde vyšel také průkazný rozdíl v počtu překonaných úseků mezi sledovanými druhy ($U = 753,5$; $p < 10^{-5}$).

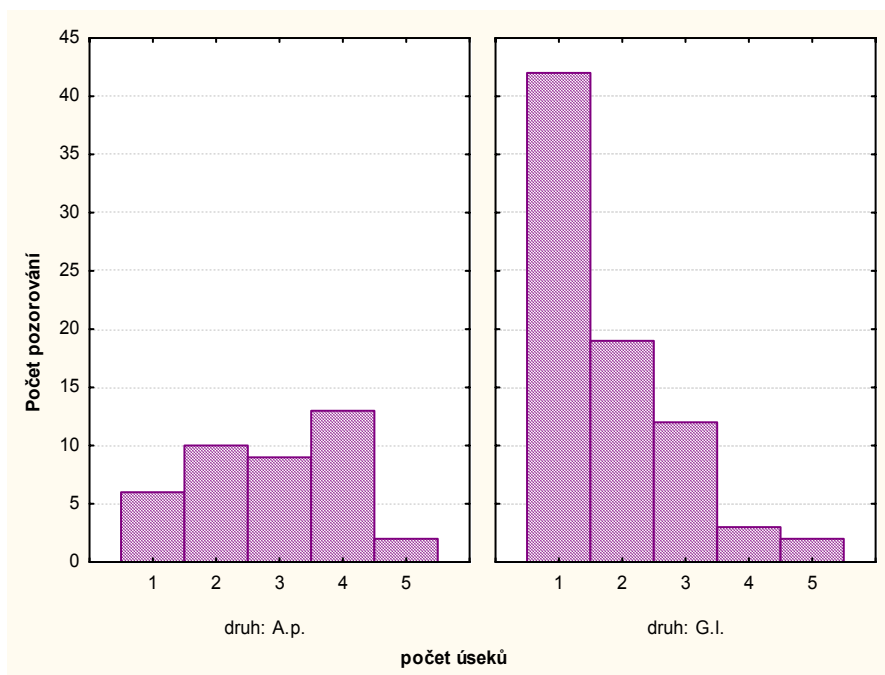
Tab. XXXI. Pohyb *A. paludum* a *G. lacustris* mezi prvním a posledním odchytem.

druh	pohyb ano	pohyb ne	součet
A.p.	40	7	47
G.l.	78	66	144
A.p. + G.l.	118	73	191

Na následujících grafech jsou znázorněny podrobnější charakteristiky. Medián druhu *A. paludum* (3) je vyšší než medián druhu *G. lacustris* (1). Také nejčastější počet překonaných úseků je u druhu *A. paludum* vyšší (4), než u druhu *G. lacustris* (1) (Obr. 63, 64). Z toho vyplývá, že jedinci druhu *A. paludum* se při pohybu vzdálili z místa vypuštění o více úseků, než jedinci druhu *G. lacustris*.



Obr. 63. Graf překonaných úseků jedinci *A. paludum* a *G. lacustris* mezi prvním a posledním odchytem.



Obr. 64. Histogram znázorňující počet překonání úseků jedinci *A. paludum* a *G. lacustris* mezi prvním a posledním odchytem.

4.4.2 Abundance populace

Odhad abundance populace na stojatých vodách byl proveden stejným způsobem a za pomoci stejných vzorců jako u tekoucích vod. Početnost populace byla hodnocena zvlášť pro oba sledované druhy (*G. lacustris*, *A. paludum*). U druhu *G. lacustris* byla v srpnu (16. 8. 2009 – 17. 8. 2009) vypočtena abundance populace na 106, respektive 104 jedinců. Na přelomu září a října (13. 9. 2009 – 4. 10. 2009) pak byl zjištěná početnost populace 241, respektive 205 jedinců *G. lacustris*. U druhu *A. paludum* byla ve stejném časovém období (16. 8. 2009 – 17. 8. 2009) abundance 58, respektive 54 jedinců. Na přelomu září a října (13. 9. 2009 – 4. 10. 2009) činila početnost populace 68, respektive 54 jedinců *A. paludum*.

Programem MARK byla u obou druhů zjištěna průměrná hodnota přežití jedinců mezi dvěma odchyty (*G. lacustris*: 0,962437186, *A. paludum*: 0,909022243). Dále byla zaznamenána pravděpodobnost zpětného odchyty jedinců (*G. lacustris*: 0,333025, *A. paludum*: 0,38768).

5 Diskuse a závěry

Tato studie prezentuje výsledky získané za pomoci nově modifikované metody individuálního značení semiakvatických ploštic (Heteroptera: Gerromorpha). Experiment byl veden s cílem pokusit se pomocí této metody popsat jednak abundanci sledované populace a jednak disperzi vybraných druhů semiakvatických ploštic (*Aquarius paludum*, *Gerris lacustris* (Gerridae) a *Velia caprai* (Veliidae)).

5.1 Test přežívání, letový test

Již dříve testovaná metoda individuálního značení drobného hmyzu podle Pipera (2003) se na semiakvatických plošticích neosvědčila, byla tedy modifikována (viz. „Materiál a metodika“). Nově vyvinutá metoda individuálního značení byla poté ve vnitřních prostorách vyzkoušena na jedincích druhu *G. lacustris*, *A. paludum* a *V. caprai*. Cílem testu přežívání bylo zjistit, zda štítky použité ke značení neovlivňují mortalitu označených jedinců, v porovnání s jedinci kontrolními. Dále bylo sledováno, zda má značení vliv na životní projevy, jako je kopulace a ovipozice. U žádného z testovaných druhů nebyl zjištěn signifikantní rozdíl v přežívání mezi označenými a neoznačenými jedinci. Druh *L. rufoscutellatus* byl vybrán pro otestování letových schopností označených a kontrolních jedinců. Z výsledků lze konstatovat, že nebyl zaznamenán negativní vliv štítků použitých ke značení na schopnost jedinců *L. rufoscutellatus* opustit stanoviště letem. Negativní vliv na reprodukční chování se také neprojevil. Kopulace byla pozorována u všech druhů testovaných ploštic a to jak u označených, tak u kontrolních jedinců. Ovipozice byla mimo druh *V. caprai* zaznamenána také u všech sledovaných skupin. Metoda individuálního značení vyvinutá pro tuto studii se tedy ukázala jako vhodná pro značení semiakvatických ploštic. I u jedinců, kteří byli zpětně odchyceni téměř po roce od vypuštění, byli štítky jasně čitelné a držely na pronotu. Tato metoda značení by tak mohla být základem pro další studie využívající individuálního značení semiakvatických ploštic.

5.2 Individuální značení na tekoucích vodách

Individuální značení semiakvatických ploštic na tekoucích vodách bylo zaměřeno především na zjištění, zda dochází k pohybu označených jedinců sledovaného druhu (*V. caprai*) po směru či proti směru proudu vodního toku. Během pokusu bylo na hlavním sledovaném toku A označeno 686 jedinců *V. caprai*, z nichž bylo nejméně jednou zpětně odchyceno 269 jedinců. Na vedlejším toku B bylo označeno jen 36 jedinců *V. caprai* a zpětně odchyceno bylo pouze 5 jedinců. Z důvodu malého počtu označených a zpětně odchycených jedinců *V. caprai* na přítoku B, byla data z tohoto přítoku sloučena dohromady s daty z hlavního toku A. Celkem bylo tedy ve všech analýzách testováno 394 zpětně odchycených jedinců *V. caprai* (první až poslední odchyt).

■ Prvním testovaným jevem bylo, zda se jedinci *V. caprai* pohybují po vodním toku, tedy z úseku kde byli vypuštěni, na jiný úsek. Dílčí otázkou pak bylo, zda se zjištěný pohyb liší mezi pohlavími (♂♂ x ♀♀), nebo mezi generacemi (G0 x G1). Data byla testována vždy pro 1. – 2. odchyt, a poté celkem pro všechny odchvy (první až poslední). Z výsledků pro všechny zaznamenané odchvy celkem pak vyplývá závěr, že jedinci *V. caprai* se průkazně pohybují mezi sledovanými úseky potoka. Tato tendence k pohybu je větší, než tendence zůstat na místě vypuštění. Mezi pohlavími ani mezi generacemi nebyl shledán statisticky významný rozdíl v pohybu jedinců *V. caprai* a to jak mezi 1. – 2. odchtem, tak mezi prvním a posledním odchtem. Podobný výzkum disperze bruslařka *A. remigis* prováděla Fairbairn (1985). Došla k závěru, že z přezimujících jedinců pouze 15,2 % nezměnilo svoji pozici, zatímco 40,7 % jedinců se vzdálilo nejméně 50 m po nebo proti proudu vodního toku. Naproti tomu u letní generace zůstalo 63,1 % jedinců na místě a jen 5,1 % překonalo vzdálenost 50 a více metrů nahoru nebo dolů po vodním toku. V našem experimentu byly také srovnávány přezimující a letní generace, ovšem v letní generaci byl označen mnohem menší počet jedinců než u přezimující generace. Tudíž výsledky získané pro tuto generaci je nutné brát s ohledem na tento fakt. Pro přezimující generaci byly zjištěny tyto závěry: 39,8 % jedinců *V. caprai* zůstalo na místě a 60,2 % jedinců se vzdálilo s místa vypuštění nahoru/dolů po vodním toku. U letní generace zůstalo na svém úseku vypuštění 45,9 % jedinců *V. caprai* a odešlo z něj pro nebo proti proudu toku 54,1 % jedinců. Přezimující generace druhu *V. caprai* se tedy pohybuje méně, než přezimující generace *A. remigis*, zatímco letní generace *V. caprai* se

pohybuje více, než letní generace *A. remigis*. Při porovnávání pohybu jedinců v souvislosti s pohlavím nebyl zaznamenán průkazný rozdíl mezi samci a samicemi. Tento závěr uvádí i Fairbairn (1985).

■ Jako druhý byl testován směr pohybu jedinců *V. caprai*, tedy jestli dochází k pohybu směrem nahoru či dolů od úseku, na kterém byl jedinec vypuštěn. Z výsledků lze konstatovat, že u jedinců *V. caprai* existuje statisticky průkazný vyšší pohyb ve směru nahoru, tedy proti proudu vodního toku. V rámci pohlaví a generace nebyl u jedinců *V. caprai* vyhodnocen signifikantní rozdíl ve směru pohybu nahoru/dolů po vodním toku. Fairbairn (1985) ve své práci uvádí, že u přezimující generace *A. remigis* nebyl průkazný rozdíl v pohybu jedinců nahoru/dolů po vodním toku. Směrem nahoru změnilo pozici 66 jedinců, dolů 57 jedinců. Naproti tomu u letní generace byl zjištěn signifikantní rozdíl: průkazně více jedinců se pohybovalo proti proudu ($n = 51$), než po proudu ($n = 29$) toku. Naproti tomu jak přezimující, tak letní generace *V. caprai* jeví vyšší tendenci k pohybu proti proudu (nahoru 161 jedinců, dolů 54 jedinců; respektive 16 a 4 jedinci).

■ Ve vztahu ke směru pohybu jedinců *V. caprai* byla sledována také vzdálenost, která byla při tomto pohybu překonána. Z pozorování plyne, že nejvíce jedinců překonalo relativně krátkou vzdálenost (cca do 15 m) v obou směrech. Maximální naměřená ujitá vzdálenost směrem nahoru byla 53 m (♂♂ , G1), směrem dolů 45 m (♀♀ , G0). Zatímco se ale ve směru dolů předpokládá vliv proudového driftu a jde tedy o pasivní pohyb, ve směru nahoru se s určitostí jedná o aktivní pohyb jedince. Mezi 1. – 2. odchytom bez ohledu na pohlaví a generaci ukázaly testy neprůkazný rozdíl v překonané vzdálenosti směrem nahoru/dolů po vodním toku. Pro první až poslední odchyt však byl z výsledků formulován závěr, že jedinci *V. caprai* signifikantně chodí dále při pohybu ve směru nahoru. Byla tedy zamítnuta nulová hypotéza, že překonané vzdálenosti ve směru nahoru/dolů jsou u jedinců *V. caprai* shodné. Stejný jev byl analyzován také v souvislosti s pohlavím a generacemi, kde testy však neprokázaly signifikantní rozdíl v překonaných vzdálenostech v obou směrech a to jak mezi 1. – 2. odchytom, tak mezi všemi odchytom celkem. Porovnání překonané vzdálenosti mezi generacemi může být ovšem zkresleno relativně malým počtem označených jedinců nové generace, vzhledem k označeným jedincům generace přezimující. Výsledky však naznačují, že ti jedinci nové generace, kteří se pohybovali, překonali relativně velkou vzdálenost

vzhledem k počtu označených jedinců, a to především ve směru nahoru. Naproti tomu u přezimující generace překonalo větší vzdálenost pouze málo jedinců *V. caprai*. Porovnání přezimující a nové generace z hlediska překonaných vzdáleností při pohybu by tedy mohlo být zajímavé pro další studie.

■ Z překonané vzdálenosti, která byla u některých jedinců relativně vysoká (cca 20 – 50 m) a z nákresů sledovaného potoka (viz. „Materiál a metodika“) lze konstatovat, že hladinatky *V. caprai* jsou schopné se, kromě pohybu po vodní hladině, pohybovat i po zemi. Tento závěr byl formulován z terénních pozorování. Jedinci, kteří při svém pohybu překonali některé z vyšších peřejí, jimiž je potok na několika místech přehrazen (až 35 cm vysoké) nemohli tuto cestu uskutečnit korytem vodního toku, nýbrž museli jít po břehu potoka. Druhá a třetí část potoka je navíc přehrazena lesní cestou, pod kterou vede betonová roura spojující obě části potoka. Potok protéká rourou relativně prudce a stěny roury jsou kluzké, můžeme tedy předpokládat, že 5 označených jedinců přezimující generace, kteří při pohybu tuto rouru překonali, ušli danou vzdálenost po zemi. K danému závěru o terestrické migraci přispěli i dva označení jedinci, kteří byli odchyceni v podmáčené oblasti úseku A1, tedy cca 8 – 10 m od sledovaného vodního toku. Terestrickou disperzi hladinatek *V. caprai* ve stejné oblasti konstatují i Ditrich & Papáček (2009).

■ Další otázkou, kterou se tento experiment zabýval, bylo zjištění výškového rozdílu, který při pohybu nahoru/dolů překonávají jedinci *V. caprai*. Nejčastěji byl v obou směrech zaznamenán relativně malý výškový rozdíl (do 40 m). Maximální překonaný výškový rozdíl ve směru nahoru (236 cm), byl zjištěn u téhož samce nové generace, který překonal při svém pohybu i největší vzdálenost proti proudu toku. Taktéž maximální překonaný výškový rozdíl ve směru dolů (223 cm), byl zaznamenán u též samice přezimující generace, která překonala největší vzdálenost po proudu potoka. Žádné testy provedené mezi 1. – 2. odchytom a mezi prvním a posledním odchytom, nepotvrdily průkazně odlišný překonaný výškový rozdíl v obou směrech. Stejně neprůkazného výsledku bylo dosaženo i při testování výškového rozdílu v souvislosti s pohlavím a generacemi.

■ Početnost populace, vypočítaná pomocí Lincoln-Petersonova indexu méně vychýleného odhadu, byla v jarním období roku 2009 536 jedinců *V. caprai*. Hned následující týden (2. týden v květnu) však abundance vzrostla na 777 jedinců. To mohlo být způsobeno teplejším počasím, které umožnilo dalším jedincům opustit stanoviště, kde přezimovali a vrátit se na hladinu vodního toku. Na konci července se početnost populace výrazně snížila (280 jedinců). Za příčinu tohoto poklesu lze považovat jednak přirozený úhyn přezimujících jedinců, ale také letní aestivaci, které jsou jedinci *V. caprai* schopni. Ditrich & Papáček (2008) popisují, že v letním období velká část jedinců přezimující i nové generace aestivuje. Tato aestivace se následně projeví v poklesu jejich počtu při odchycích. Během srpna byla pak zjištěná abundance populace 646 jedinců *V. caprai*. Ke zvýšení početnosti mohlo dojít z důvodu dospívání jedinců nové letní generace, či z důvodu možného ukončování období aestivace jedinců *V. caprai*.

5.3 Individuální značení na stojatých vodách

Sledování pohybu označených semiakvatických ploštic na stojaté vodě rybníka bylo jedním z dílčích úkolů této studie. Během experimentu bylo označeno 215 jedinců druhu *G. lacustris* a 78 jedinců druhu *A. paludum*. Nejméně jednou pak bylo zpětně odchyceno 101 jedinců druhu *G. lacustris* a 31 jedinců druhu *A. paludum*. Odchyt probíhal pomocí cedníku z břehu rybníka, což se ukázalo jako nevhodná metoda pro odchyt druhu *A. paludum*. Jedinci tohoto druhu jsou velmi pohybliví, tudíž bylo obtížné je do cedníku zachytit, navíc mají tendenci zdržovat se především na volné hladině, dále od břehu.

■ Sledovaným jevem bylo, jestli se označení jedinci druhu *G. lacustris* a *A. paludum* pohybují po vodní hladině rybníka. Dále pak bylo posuzováno, zda je míra pohybu rozdílná mezi pohlavími (♂♂ x ♀♀) a u druhu *G. lacustris* i mezi křídelními morfami (MP x BP). U druhu *A. paludum* nebyl hodnocen rozdíl v pohybu mezi křídelními morfami, jelikož byl označen velmi nízký počet BP jedinců. Proto byla data pro MP a BP jedince u druhu *A. paludum* sloučena. Stejně jako u individuálního značení na tekoucích vodách byla porovnávána data pro 1. – 2. odchyt a pro první až poslední odchyt. Testy byly provedeny samostatně pro každý druh.

■ U druhu *G. lacustris* nebyl mezi 1. – 2. odchytem potvrzen průkazný rozdíl v četnosti pohybu (změny úseku). Tedy závěr lze formulovat tak, že jedinci *G. lacustris* se po vodní hladině pohybují, ne však více, než zůstávají na místě vypuštění. Shodně neprůkazný výsledek vyšel i při hodnocení pohybu ve vztahu k pohlaví a křídelním morfám. Testy, které byly provedeny pro všechny odchty celkem, poskytly stejné závěry.

■ Hodnocen byl také počet úseků, který při svém pohybu jedinci daného druhu překonali. Data získaná pro druh *G. lacustris* ukazují, že nejvíce označených jedinců se vzdálilo o jeden úsek od místa, kde byli vypuštěni. Přibližně poloviční počet jedinců pak překonal dva až tři úseky a nejméně jedinců (3, respektive 2) se vzdálili o čtyři, respektive pět úseků od místa vypuštění. Z toho lze usuzovat, že jedinci druhu *G. lacustris* se pohybují spíše po břehu rybníka, než že by překonávali volnou hladinu. To potvrzují i terénní pozorování, jelikož jedinci *G. lacustris* byli odchyťováni především v oblasti cca 50 cm od břehu rybníka, kde se zdržovali hlavně v porostu vegetace.

■ Pro druh *A. paludum* byly získané výsledky následující: mezi 1. – 2. odchytem i mezi prvním a posledním odchytem, bez ohledu na pohlaví, byl nalezen statisticky průkazný rozdíl v pohybu jedinců *A. paludum*. Můžeme tedy konstatovat, že jedinci *A. paludum* se s větší pravděpodobností vzdálí z úseku, na kterém byli vypuštěni, než že zůstanou na místě. Testování pohybu jedinců *A. paludum* v souvislosti s pohlavím přineslo jak mezi 1. – 2. odchytem, tak mezi prvním a posledním odchytem závěr, že rozdíl v pohybu mezi samci a samicemi není signifikantní.

■ Počet překonaných úseků jedinci *A. paludum* při pohybu naznačuje, že nejvíce jedinců se vzdálilo o dva až čtyři úseky z místa vypuštění. Jeden úsek překonalo méně jedinců, a nejméně došlo k pohybu o pět úseků. Toto rozložení změny počtu úseků jakožto sledované veličiny můžeme považovat téměř za normální, na rozdíl od rozložení překonaných úseků u druhu *G. lacustris*. Z toho lze usuzovat, že jedinci druhu *A. paludum* při svém pohybu využívají spíše volné hladiny rybníka, než litorální oblasti. Tento jev byl zaznamenán při každém terénním odchytu, neboť jedince tohoto druhu bylo velmi nesnadné z břehu odchyťit. Právě již při těchto odchtech většina jedinců *A. paludum* překonala alespoň jeden úsek, než byli zachyceni cedníkem.

■ Na závěr byla mezi oběma sledovanými druhy (*G. lacustris*, *A. paludum*) hodnocena míra pohybu, pro všechny odchyty, bez ohledu na pohlaví a křídelní morfy. Zjištěný průkazný rozdíl v míře pohybu naznačuje, že jedinci druhu *A. paludum* se pohybují ve větší míře, než jedinci druhu *G. lacustris*. Testován byl také počet překonaných úseků mezi sledovanými druhy, kde výsledek ukázal signifikantní rozdíl. Z toho vyplývá, že jedinci druhu *A. paludum* se z úseku, na kterém byli vypuštěni, vzdálili o více úseků, než jedinci druhu *G. lacustris*.

■ Zjištěná početnost populace (Lincoln-Petersonovým indexem méně vychýleného odhadu) činila u druhu *G. lacustris* v srpnu 2009 104 jedinců. Tato nižší abundance mohla být zapříčiněna deštivými dny, ve kterých byl prováděn odchyt. Mnoho jedinců bylo ukryto ve vegetaci, odchyt byl tedy obtížnější. Na konci září byla abundance vyšší, odhad byl 205 jedinců *G. lacustris*. Ve stejných časových obdobích byla zjišťována i abundance u druhu *A. paludum*. V srpnu byla početnost tohoto druhu odhadnuta na 54 jedinců a v září pak taktéž na 54 jedinců *A. paludum*.

5.4 Závěry

Tato práce přinesla některé nové poznatky, které by mohly být využity pro další studie. Podařilo se, na základě modifikací, vyvinout novou metodu individuálního značení semiakvatických ploštic. Tato metoda se po řadě testů a terénním výzkumu ukázala jako vhodná, neboť splnila základní podmínky pro značení hmyzu (čitelnost značky i po delším časovém úseku, trvanlivost, nezávadnost pro označeného jedince, nenarušení životního cyklu, snadná aplikace, dostatek unikátních značek, cenová dostupnost). Pomocí této metody byla odhadnuta abundance sledované populace a dále byla sledována disperze vybraných druhů. Bylo zodpovězeno na následující dílčí otázky:

■ Zda se vybrané druhy pohybují?

Jedinci *V. caprai* se průkazně pohybují mezi sledovanými úseky potoka. Tato tendence k pohybu je větší než tendence zůstat na místě vypuštění.

Jedinci *G. lacustris* se pohybují po vodní hladině rybníka, ale ne ve větší míře, než zůstávají na místě.

Jedinci *A. paludum* se průkazně vzdalují z místa vypuštění, spíše než zůstávají na místě.

■ Jakým směrem se pohybují?

Výsledky ukazují na průkazně vyšší pohyb jedinců *V. caprai* ve směru proti proudu vodního toku. Podle Fairbairn (1985) právě tento výsledek je nutnou podmínkou ke kompenzaci proudového driftu nedospělých stádií. Tímto mechanismem je udržována populace i v horních oblastech vodního toku.

■ Liší se překonaná vzdálenost ve směru nahoru/dolů?

Průkazně byla potvrzena tendence jedinců *V. caprai* k větší vzdálenosti překonané při pohybu směrem nahoru.

■ Liší se překonaný výškový rozdíl ve směru nahoru/dolů?

Nebyl potvrzen signifikantní rozdíl v překonaném výškovém rozdílu, ve směru nahoru/dolů po vodním toku.

■ Liší se v těchto čtyřech předchozích jevech samci a samice, nebo přezimující a nová generace?

V žádné z předchozích otázek se rozdíl mezi pohlavími a generacemi statisticky neprokázal.

6 Dodatek

V dubnu 2010 byl proveden ještě jeden kontrolní odchyt v Novohradských horách na sledovaném vodním toku (data z tohoto doplňkového odchytu nebyla do zpracovaných analýz zahrnuta). Bylo odchyceno 12 označených jedinců *V. caprai*. Dva z těchto jedinců byli označeni již v říjnu roku 2008, štítek tedy vydržel na pronotu a v dobré čitelnosti 559 dní. Tito jedinci tedy s určitostí přezimovali nejméně dvě zimní období. Mimo to byl zaznamenán další jedinec *V. caprai* (♀♀, G0), který překonal při svém pohybu směrem nahoru peřej (35 cm) i betonovou rouru, spojující dvě části potoka. Jak bylo již popsáno, lze v tomto případě předpokládat, že tato vzdálenost byla překonána po zemi. Údaje, týkající se pohybu těchto 12 jedinců, jsou zpřehledněny v následující tabulce (Tab. XXXII). Mezi prvním odchytem a odchytem z 21. 4. 2010 změnilo svoji pozici 91,7 % jedinců *V. caprai*, z toho 90,9 % směrem nahoru a 9,1 % směrem dolů po vodním toku. Mezi posledním odchytem (v roce 2009) a odchytem z 21. 4. 2010 se z úseku vypuštění vzdálilo 71,4 % jedinců *V. caprai*, z toho 80 % směrem nahoru a 20 % směrem dolů.

Tab. XXXII. Přehled označených jedinců *V. caprai* odchycených 21. 4. 2010

pohlaví	generace	datum 1. odchytu	vzdálenost [m]	výška [cm]	datum posledního odchytu	vzdálenost [m]	výška [cm]
♀♀	G0	9. 10. 2008	-46,8	-184,5	/	/	/
♀♀	G0	1. 7. 2009	6,4	79	19. 9. 2009	6,4	79
♂♂	G0	19. 6. 2009	0	0	/	/	/
♂♂	G1	4. 8. 2009	27,3	166	19. 9. 2009	0	0
♂♂	G1	29. 8. 2009	4,1	11	/	/	/
♂♂	G0	1. 7. 2009	9,9	7	29. 8. 2009	-5,1	-10
♀♀	G0	9. 10. 2008	5,1	10	/	/	/
♀♀	G1	12. 8. 2009	5,1	10	/	/	/
♂♂	G1	12. 8. 2009	19,9	85	12. 9. 2009	19,9	85
♂♂	G1	12. 8. 2009	19,9	85	19. 9. 2009	7,3	30
♀♀	G0	22. 7. 2009	3,1	20	19. 9. 2009	0	0
♀♀	G0	7. 5. 2009	16,9	102	24. 7. 2009	16,9	102

„/“ = jedinci byli odchyceni pouze jednou

¹ = data zaznamenaná mezi prvním odchytem daného jedince a odchytem 21. 4. 2010

² = data zaznamenaná mezi posledním odchytem daného jedince a odchytem 21. 4. 2010

7 Seznam literatury

- Andersen, N.M. (1982) The Semiaquatic Bugs (Hemiptera, Gerromorpha). Phylogeny, adaptations, biogeography, and classification. *Entomonograph*, **3**, 1-455.
- Begon, M., Townsend, C.R., & Harper, J.L. (2006) Ecology : from individuals to ecosystems, 4th edn. Blackwell Pub., Malden, MA, 738 pp.
- Blake, J.G. & Loiselle, B.A. (2008) Estimates of apparent survival rates for forest birds in eastern Ecuador. *Biotropica*, **40**, 485-493.
- Brinkhurst, R.O. (1959) Alary Polymorphism in the Gerroidea (Hemiptera-Heteroptera). *Journal of Animal Ecology*, **28**, 211-230.
- Coulianos, C.C., Okland, J., & Okland, K.A. (2008) Norwegian water bugs. Distribution and ecology (Hemiptera-Heteroptera: Gerromorpha and Nepomorpha). *Norwegian Journal of Entomology*, **55**, 179-222.
- Ditrich, T. (2005) Životní cyklus a vývoj reprodukčních orgánů hladinatky *Velia caprai* Tamanini, 1947 (Hemiptera: Heteroptera: Veliidae) Diplomová práce, Jihočeská univerzita, České Budějovice, 139 s.
- Ditrich, T. & Papáček, M. (2008) Neobvyklá životní strategie u semiakvatických ploštic: bionomie *Velia caprai* Tamanini 1947. [An unusual life history within semiaquatic bugs: bionomy of *Velia caprai* Tamanini 1947.] In Zoologické dny České Budějovice 2008 (ed. by J. Bryja, O. Nedvěd, F. Sedláček & J. Zukal), České Budějovice, 44 - 45.
- Ditrich, T. & Papáček, M. (2009) Correlated traits for dispersal pattern: Terrestrial movement of the water cricket *Velia caprai* (Heteroptera: Gerromorpha: Veliidae). *European Journal of Entomology*, **106**, 551-555.
- Ditrich, T., Papáček, M., & Broum, T. (2008) Spatial distribution of semiaquatic bugs (Heteroptera: Gerromorpha) and their wing morphs in a small scale of the Pohořský Potok stream spring area (Novohradské Hory Mts.). *Silva Gabreta* **14**, 173 - 178.
- Fairbairn, D. & Desranleau, L. (1987) Flight Threshold, Wing Muscle Histolysis, and Alary Polymorphism - Correlated Traits for Dispersal Tendency in the Gerridae. *Ecological Entomology*, **12**, 13-24.
- Fairbairn, D.J. (1985) A Test of the Hypothesis of Compensatory Upstream Dispersal Using a Stream-Dwelling Waterstrider, *Gerris-Remigis* Say. *Oecologia*, **66**, 147-153.
- Fairbairn, D.J. & Butler, T.C. (1990) Correlated Traits for Migration in the Gerridae (Hemiptera, Heteroptera): a Field Test. *Ecological Entomology*, **15**, 131-142.
- Gangwere, S.K., Chavin, W., & Evans, F.C. (1964) Methods of marking insects, with especial reference to Orthoptera (sens. lat.). *Annals of the Entomological Society of America*, **57**, 662-669.
- Griffiths, G.J.K., Alexander, C.J., Birt, A., Holland, J.M., Kennedy, P.J., Perry, J.N., Preston, R., & Winder, L. (2005) A method for rapidly mass laser-marking individually coded ground beetles (Coleoptera : Carabidae) in the field. *Ecological Entomology*, **30**, 391-396.
- Griffiths, G.J.K., Winder, L., Bean, D., Preston, R., Moate, R., Neal, R., Williams, E., Holland, J., & Thomas, G. (2001) Laser marking the carabid *Pterostichus melanarius* for mark-release-recapture. *Ecological Entomology*, **26**, 662-663.
- Hagler, J.R. & Jackson, C.G. (2001) Methods for marking insects: current techniques and future prospects. *Annu Rev Entomol*, **46**, 511-543.

- Hagmeier, K.R., Smith, B.D., & Boyd, W.S. (2008) Estimating numbers of black brant using sequential spring-staging sites. *Journal of Wildlife Management*, **72**, 1342-1351.
- Hannon, E.R. & Hafernik, J.E. (2007) Reintroduction of the rare damselfly *Ischnura gemina* (Odonata: Coenagrionidae) into an urban California park. *Journal of Insect Conservation*, **11**, 141-149.
- Hedvíková, M. (2009) Určování velikosti populace metodami zpětných odchytů. Bakalářská práce, Univerzita Karlova Praha, 31 s.
- Hornung, C.L.R. & Pacas, C. (2006) Investigating damselfly populations at springs in Banff National Park, Canada, with special focus on *Argia vivida*, *Amphiagrion abbreviatum*, and *Ischnura cervula* (Odonata: Coenagrionidae). *Aquatic Ecology*, **40**, 49-58.
- Hovestadt, T. & Nowicki, P. (2008) Investigating movement within irregularly shaped patches: Analysis of mark release-recapture data using randomization procedures. *Israel Journal of Ecology & Evolution*, **54**, 137-154.
- Chambers, L.K. & Dickman, C.R. (2002) Habitat selection of the long-nosed bandicoot, *Perameles nasuta* (Mammalia, Peramelidae), in a patchy urban environment. *Austral Ecology*, **27**, 334-342.
- Krebs, C.J. (1999) Ecological methodology, 2nd Edition edn. Benjamin/Cummings, Menlo Park, 620 pp.
- Lehnert, M.S. (2008) The population biology and ecology of the *Homerus swallowtail*, *Papilio (Pterourus) homerus*, in the Cockpit Country, Jamaica. *Journal of Insect Conservation*, **12**, 179-188.
- Lepš, J. (1989) Metody studia populací. In: Dykyjová D. [ed.]: Metody studia ekosystémů. Academia, Praha. pp. 230-302.
- Mattioli, F. & Walsh, G.C. (2008) Performance of marking techniques in the field and laboratory for *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae) *Journal of applied Entomology*, **132**, 382-386.
- McCall, P.J., Mosha, F.W., Njunwa, K.J., & Sherlock, K. (2001) Evidence for memorized site-fidelity in *Anopheles arabiensis*. *Transactions of the royal society of tropical medicine and hygiene* **95**, 587-590.
- Muller, K. (1982) The Colonization Cycle of Fresh-Water Insects. *Oecologia*, **52**, 202-207.
- Murdoch, W.W. (1963) A method for marking Carabidae (Col.). *Entomologist's Monthly Magazine*, **99**, 22-24.
- Nowicki, P., Richter, A., Glinka, U., Holzschuh, A., Toelke, U., Henle, K., Woyciechowski, M., & Settele, J. (2005) Less input same output: simplified approach for population size assessment in Lepidoptera. *Population Ecology*, **47**, 203-212.
- Piper, R.W. (2003) A novel technique for the individual marking of smaller insects. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, **106**, 155-157.
- Savage, A.A. (1989) Adult of the british aquatic Hemiptera Heteroptera. *Freshwater biological association*, 173 pp.
- Tupper, S.K., Cummings, J.L., & Engeman, R.M. (2009) Longevity of DayGlo fluorescent particle marker used to mark birds in flight pen and field. *Wildlife research* **36**, 319-323.
- Urquhart, F.A. & Urquhart, N.R. (1978) Autumnal Migration Routes of Eastern Population of Monarch Butterfly (*Danaus-P-Plexippus* L-Danidae-Lepidoptera) in North-America to Overwintering Site in Neovolcanic Plateau of Mexico. *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie*, **56**, 1759-1764.

- Urquhart, F.A. & Urquhart, N.R. (1979) Vernal Migration of the Monarch Butterfly (*Danaus Plexippus* P Lepidoptera, Danaidae) in North-America from the Overwintering Site in the Neo-Volcanic Plateau of Mexico. *Canadian Entomologist*, **111**, 15-18.
- Vepsäläinen, K. (1973) The distribution and habitats of *Gerris* Fabr. species (Heteroptera, Gerridae) in Finland. *Annales Zoologici Fennici*, **10**, 419-444.
- Votier, S.C., Birkhead, T.R., Oro, D., Trinder, M., Grantham, M.J., Clark, J.A., McCleery, R.H., & Hatchwell, B.J. (2008) Recruitment and survival of immature seabirds in relation to oil spills and climate variability. *Journal of Animal Ecology*, **77**, 974-983.
- Walker, T.J. & Wineriter, S.A. (1981) Marking Techniques for Recognizing Individual Insects. *Florida Entomologist*, **64**, 18-29.
- Walker, T.J. & Wineriter, S.A. (1984) Insect marking techniques: durability of materials. *Entomological News*, **95**, 117-123.
- Ward, L. & Mill, P. (2007) Long range movements by individuals as a vehicle for range expansion in *Calopteryx splendens* (Odonata: Zygoptera). *European Journal of Entomology*, **104**, 195-198.
- White, G.C. & Burnham K. P. (1999) Program MARK: Survival estimation from populations of marked animals. *Bird Study* 46 Supplement, 120-138.

8 Seznam příloh

8.1 Příloha č. 1: Příspěvek ve sborníku mezinárodní konference SIEEC 21 (Symposium Internationale Entomofaunisticum Europae Centralis 21).

8.2 Příloha č. 2: Poster prezentovaný na mezinárodní konferenci SIEEC 21 (Symposium Internationale Entomofaunisticum Europae Centralis 21).

8.1 Příloha č. 1: Příspěvek ve sborníku mezinárodní konference SIEEC 21 (Symposium Internationale Entomofaunisticum Europae Centralis 21).

Zkrácená verze literární rešerše byla prezentována formou posteru a příspěvku ve sborníku na mezinárodní konferenci SIEEC 21 (Symposium Internationale Entomofaunisticum Europae Centralis 21), konané 28. 6. - 3. 7. 2009 v Českých Budějovicích.

Úplná citace:

Vojířová, E. & Ditrich, T. 2009: A new approach to individual marking of insects: usability confirmed in semiaquatic bugs . P. 86 – 89. In Soldán, T., Papáček, M. & Boháč, J. (Eds) Communications and Abstracts, SIEEC 21, June 28 – July 3, 2009. University of South Bohemia, České Budějovice, 96 pp.

A new approach to individual marking of insects: usability confirmed in semiaquatic bugs

EVA VOJÍŘOVÁ¹ and TOMÁŠ DITRICH^{1,2}

¹ Pedagogical Faculty, University of South Bohemia, Jernýmova 10,
České Budějovice, Czech Republic, e.vojirova@email.cz

² Faculty of Sciences, University of South Bohemia, Branišovská 31,
České Budějovice, Czech Republic

Abstract. Individual marking is used in many mark–recapture experiments. Due to this method, we have the best view on natural populations, including dispersion and migration. An individual marking of semiaquatic bugs was found necessary for understanding their population ecology, but ordinary methods failed. We tested modification of Piper’s method (2003) using photographic paper with printed char combination. Pronotum of Gerridae and Veliidae was primarily repainted by nail varnish; consequently, a label with a code was fixed and repainted by varnish again. Purpose was to check out a survival, flying abilities and a reproduction behavior in marked and control groups of semiaquatic bugs together with a durability of the codes. No difference in survival of marked and control specimens was found, the same as no influence in flight capability. The reproduction behavior was not affected, too. The tested method of individual marking allows monitoring of natural populations.

Key words: Gerridae, Veliidae, individual marking, mark-recapture experiment, semiaquatic bugs, insect

Introduction

Mark-recapture experiments are used for many zoological surveys. Individual marking gives us best view on natural populations, including potential dispersion and migration. Due to the necessity of a significant number of individual marks, however, this method is technically rather demanding. It is most often used for study of bigger animals such as mammals or birds (e.g. CHAMBERS & DICKMAN, 2002; BLAKE & LOISELLE, 2008). Among insects, individual marking is often used for monitoring populations of butterflies (e.g. HOVESTADT, NOWICKI, 2008; LEHNERT, 2008), dragonflies (e.g. HANNON & HAFERNIK, 2007; WARD & MILL, 2007) and beetles (e.g. KRESLAVSKY et al., 1996; GOLDWASSER et al., 1993). However these systems are only suitable for bigger organisms (colored dot systems), or are relatively expensive and technically demanding (laser or isotopic marking – see SERVICE, 1993; GRIFFITHS et al., 2005; MATYUKHIN & GONGALSKY, 2007). More recently, PIPER (2003) introduced a method for individual marking of smaller insects (see below).

Study of ecology of some semiaquatic bugs (Heteroptera: Gerromorpha) proved the need of use individual marking of this group of insects (see DITRICH & PAPÁČEK, 2009). Water strider *Aquarius remigis* was marked individually by FAIRBAIRN (1985). Yet, her method combining colored spots is not suitable for smaller Gerridae or Veliidae. An attempt to use PIPER’s (2003) method of marking for individual marking of semiaquatic bugs was not successful – the tags did not adhered on a pronotum of *Aquarius paludum* (Gerridae) nor *Velia caprai* (Veliidae) (Ditrich, unpubl. data). Thus we wanted to develop a method

for individual marking of semiaquatic bugs. Consequently, the aim was to test whether the used label affects (a) survival, (b) flying abilities and (c) reproduction behavior of selected types of semiaquatic bugs.

Material and methods

Common semiaquatic bugs *Aquarius paludum* Fabricius, 1794, *Gerris lacustris* Linnaeus, 1758, *Limnoporus rufoscutellatus* Latreille, 1807 (Gerridae) and *Velia caprai* TAMANINI 1947 (Veliidae) were selected for the tested method of individual marking of semiaquatic bugs. The specimens were caught in South Bohemia, Czech Republic. *V. caprai* is almost exclusively apterous (AP) (DITRICH & PAPÁČEK, 2009), *L. rufoscutellatus* is a macropterous species (MP) (VEPSÄLÄINEN, 1973). *A. paludum* and *G. lacustris* are wing-polymorphic, i.e. both MP and brachypterous (BP) (BRINKHURST, 1959).

The method of labeling by PIPER (2003) is based on the use of tags with printed code (combination of a letter and number), glued to pronotum of the leaf-beetle (*Cryptocephalus coryli*) using a two-sided tape, and then repainted using a nail varnish. We tested modification of this method, using photographic paper with printed combination of a number and a letter (printer Canon IR2018, font no. 2 for *G. lacustris*, *V. caprai* and *L. rufoscutellatus*, font no. 3 for *A. paludum*). Pronotum of each specimen was first repainted by nail varnish. A tag with a code was placed on the pronotum and repainted using varnish for the second time.

Survival test of species *A. paludum*, *G. lacustris* and *V. caprai* took place in laboratory conditions (ca 22 °C). Groups of 20 specimens (sex-ratio of 1:1) were marked using our method and kept in aquaria (35 x 70 cm for Gerridae, 20 x 30 cm for *V. caprai*, water level ca 5 cm). Control groups (unmarked individuals from the same population) were established equally. All groups were maintained for 14 days, feeding *ad libitum* was secured using frozen fruit flies (*Drosophila melanogaster*). In each aquarium, 2 – 3 pieces of polystyrene were placed as resting and oviposition sites. Along with testing of survival, reproduction manifestations were monitored and recorded (copulation and oviposition).

Effect of glued tags on flying abilities was tested on the *L. rufoscutellatus*, because all individuals of this species fly often. The experiment was run outdoors. Labeling of specimens was conducted in the same way as the survival test. Two groups (marked and control) of 20 individuals (sex ratio 1:1) were kept in mesocosm tanks (110 x 60 cm, water level ca 5 cm, moss and twigs as imitation of natural shore). Edges of the tanks were smeared with fluon to prevent escape of the tested specimens. As a protection against natural predators, wire-netting was placed around both tanks. Monitoring was conducted in 3-day intervals during the period of 9 days. The first 3 days the specimens were not fed, then with every monitoring were fed *ad libitum* with frozen fruit flies (*D. melanogaster*) and unspecified Diptera.

Results

Since there was not significant difference in survival between the sexes of each species in particular treatments (Yates χ^2 ; d.f. = 1, all $p > 0.30$), data was pooled

for both sexes. The survival difference among MP and BP individuals was marginal for the marked *G. lacustris* (Yates $\chi^2 = 3.58$; d.f. = 1, $p = 0.06$), difference between survival of other groups was not significant (Yates χ^2 ; d.f. = 1, all $p > 0.29$). For this reason, data for all wing morphs were pooled.

After 14 days, 60 % of marked and 75 % of control specimens of *A. paludum* survived. With the *G. lacustris* species, 70 % of marked and 90 % of control specimens survived. For *V. caprai* species the percentage is 100 % of surviving marked and 90 % of control specimens. The differences were not significant (Gehan-Wilcoxon test; $GW = -0.76$, $p = 0.45$; $GW = -1.58$, $p = 0.11$; $GW = 1.41$, $p = 0.16$, respectively). *L. rufoscutellatus* showed no negative effect of marking on the ability of leaving the habitat by flight, since 95 % of the marked and 100 % of control specimens left during 6 days. The last remaining specimen left during the next 3 days. Copulation and oviposition was observed in all treatments with Gerridae, both marked and control.

Conclusions

No difference in survival of marked and of control specimens was found in any of the species. Codes on the tags were easily legible after 14 days, the results are comparable with PIPER (2003), where the tags were legible even after 24 days. Marking did not influence the ability of *L. rufoscutellatus* to leave the habitat by flying. Flight of marked specimens was comparable to the control specimens. Migratory abilities were not further tested, however. No effect on reproduction behavior of the individual species was observed; therefore it can be argued that marking does not affect dynamics in natural population. This method of individual marking of semiaquatic bugs can therefore be used in practice, even in the field, as is shown by preliminary studies.

References

- BLAKE, J.G. & B.A. LOISELLE (2008) Estimates of apparent survival rates for forest birds in eastern Ecuador. *Biotropica*, 40: 485-493.
- BRINKHURST, R.O. (1959) Alary Polymorphism in the Gerroidea (Hemiptera-Heteroptera). *Journal of Animal Ecology*, 28: 211-230.
- CHAMBERS, L.K. & C.R. DICKMAN (2002) Habitat selection of the long-nosed bandicoot, *Perameles nasuta* (Mammalia, Peramelidae), in a patchy urban environment. *Austral ecology*, 27: 334-342.
- DITRICH, T. & M. PAPÁČEK (2009) Correlated traits for dispersal behavior in semiaquatic bugs: terrestrial migration of *Velia caprai* (Heteroptera: Gerromorpha: Veliidae). *European Journal of Entomology*, accepted.
- FAIRBAIRN, D.J. (1985) A test of the hypothesis of compensatory upstream dispersal using a stream-dwelling waterstrider, *Gerris remigis* Say. *Oecologia*, 66: 147-153.
- GOLDWASSER, L. SCHATZ, G.E. & H.J. YOUNG (1993) A new method for marking Scarabaeidae and other Coleoptera. *Coleopterists Bulletin*, 47: 21-26.
- GRIFFITHS, G.J.K., ALEXANDER, C.J. & BIRT, A. et al. (2005) A method for rapidly mass laser-marking individually coded ground beetles (Coleoptera: Carabidae) in the field. *Ecological entomology*, 30: 391-396.
- HANNON, E.R. & J.E. HAFERNIK (2007) Reintroduction of the rare damselfly *Ischnura gemina* (Odonata: Coenagrionidae) into an urban California park. *Journal of insect conservation*, 11: 141-149.

- HOVESTADT, T. & P. NOWICKI (2008) Investigating movement within irregularly shaped patches: Analysis of mark release-recapture data using randomization procedures. *Israel journal of ecology & evolution*, 54: 137-154.
- KRESLAVSKY, A.G., SOLOMATIN, V.M. & MIKHEEV A.V., et al. (1996) Migrations, dispersion and population structure in three species of leaf-beetles (Coleoptera, Chrysomelidae). *Zoologichesky Zhurnal*, 75: 1021-1033.
- LEHNERT, M.S. (2008) The population biology and ecology of the *Homerus swallowtail*, *Papilio (Pterourus) homerus*, in the Cockpit Country, Jamaica. *Journal of insect conservation*, 12: 179-188.
- MATYUKHIN, A.V. & K.B. GONGALSKY (2007) The home range size of two darkling beetle species (Coleoptera, Tenebrionidae) from southern Kazakhstan. *Zoologichesky Zhurnal*, 86: 1446-1451.
- PIPER, R.W. (2003) A novel technique for the individual marking of smaller insects. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 106: 155-157.
- SERVICE, M.W. (1993) *Mosquito Ecology: Field Sampling Methods*, New York: Elsevier. 998 pp.
- VEPSÄLÄINEN, K. (1973) The distribution and habitats of *Gerris* Fabr. species (Heteroptera, Gerridae) in Finland. *Annales Zoologici Fennici*, 10: 419-444.
- WARD, L. & P. MILL. (2007) Long range movements by individuals as a vehicle for range expansion in *Calopteryx splendens* (Odonata: Zygoptera). *European Journal of Entomology*, 104: 195-198.

**8.2 Příloha č. 2: Poster prezentovaný na mezinárodní konferenci
SIEEC 21 (Symposium Internationale Entomofaunisticum
Europae Centralis 21).**

A new approach to individual marking of insects: usability confirmed in semiaquatic bugs

Eva Vojířová (1*) and Tomáš Ditrich (1, 2)

1 University of South Bohemia, Pedagogical Faculty, Jeronýmova 10, 371 15 České Budějovice, Czech Republic;

2 University of South Bohemia, Faculty of Science, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, Czech Republic;

*e.vojirova@email.cz

Introduction:

Individual marking is used in many mark-recapture experiments. Due to this method, we have the best view on natural populations, including dispersion and migration. Among insects, individual marking is often used for monitoring populations of butterflies (e.g. Hovestadt, Nowicki, 2008), dragonflies (e.g. Hannon & Hafernik, 2007) and beetles (e.g. Kreslavsky et al., 1996). Water strider *Aquarius remigis* was marked individually by Fairbairn (1985). Yet, her method combining colored spots is not suitable for smaller Gerridae or Veliidae.

An attempt to use Piper's (2003) method of marking for individual marking of semiaquatic bugs was not successful. The tags did not adhere on a pronotum of *Aquarius paludum* (Gerridae) nor *Velia caprai* (Veliidae) (Ditrich, unpubl. data). Thus we wanted to develop a method for individual marking of semiaquatic bugs. Consequently, the aim was to test whether the used label affects (a) survival, (b) flying abilities and (c) reproduction behavior of selected types of semiaquatic bugs.

Experimental organisms:

Common semiaquatic bugs *Aquarius paludum* Fabricius, 1794, *Gerris lacustris* Linnaeus, 1758, *Limnoporus rufoscutellatus* Latreille, 1807 (Gerridae) and *Velia caprai* Tamarin 1947 (Veliidae) were selected for the tested method of individual marking of semiaquatic bugs.

V. caprai is almost exclusively apterous (AP) (Ditrich & Papáček, 2009), *L. rufoscutellatus* is a macropterous species (MP) (Vepsäläinen 1973), *A. paludum* and *G. lacustris* are wing-polymorphic, i.e. both MP and brachypterous (BP) (Brinkhurst, 1959).

Experimental design:

Survival test of species *A. paludum*, *G. lacustris* and *V. caprai* took place in laboratory conditions. Groups of 20 specimens (sex-ratio of 1:1) were marked using our method and kept in aquaria. Control groups (unmarked individuals) were established equally. All groups were maintained for 14 days, feeding ad libitum was secured using frozen fruit flies (*Drosophila melanogaster*). In each aquarium, 2 – 3 pieces of polystyrene were placed as resting and oviposition sites. Effect of glued tags on flying abilities was tested on the *L. rufoscutellatus*. The experiment was run outdoors. Two groups (marked and control) of 20 individuals (sex ratio 1:1) were kept in mesocosm tanks. Monitoring was conducted in 3-day intervals during the period of 9 days.

Results:

Since there was not significant difference in survival between the sexes of each species in particular treatments (Yates χ^2 , d.f. = 1, all $p > 0.30$), data was pooled for both sexes. The survival difference among MP and BP individuals was marginal for the marked *G. lacustris* (Yates $\chi^2 = 3.58$; d.f. = 1, $p = 0.06$), difference between survival of other groups was not significant (Yates χ^2 , d.f. = 1, all $p > 0.29$). For this reason, data for all wing morphs were pooled.

After 14 days, 60% of marked and 75% of control specimens of *A. paludum* survived. With the *G. lacustris* species, 70% of marked and 90% of control specimens survived. For *V. caprai* species the percentage is 100% of surviving marked and 90% of control specimens (Tab. 1). The differences were not significant (Gehan-Wilcoxon test; GW = -0.76, $p = 0.45$; GW = -1.58, $p = 0.11$; GW = 1.41, $p = 0.16$, respectively).

L. rufoscutellatus showed no negative effect of marking on the ability of leaving the habitat by flight, since 95% of the marked and 100% of control specimens left during 6 days.

Tab 1. The ratio of surviving / initial individuals in marked and control groups. AP – apterous, BP – brachypterous, MP – macropterous

		<i>Aquarius paludum</i>	<i>Gerris lacustris</i>	<i>Velia caprai</i>	
marked	♀♀	AP/BP	3/4	4/4	10/10
		MP	4/6	2/6	-
	♂♂	AP/BP	3/4	4/4	10/10
		MP	2/6	4/6	-
control	♀♀	AP/BP	6/6	8/8	8/10
		MP	3/4	1/2	-
	♂♂	AP/BP	3/5	4/4	10/10
		MP	3/5	5/6	-

Marking method:

The method of labeling by Piper (2003) is based on the use of tags with printed code, glued to pronotum of the leaf-beetle (*Cryptocephalus coryli*) using a two-sided tape, and then repainted using a nail varnish.

We tested modification of this method, using photographic paper with printed combination of a number and a letter (printer Canon IR2018, font no. 2). Pronotum of each specimen was first repainted by nail varnish. A tag with a code was placed on the pronotum and repainted using varnish for the second time.



Fig. 1. Marked and control individual of *Gerris lacustris*.

Conclusion:

There was no difference in survival of marked and of control specimens in any of the species. Codes on the tags were easily legible after 14 days, the results are comparable with Piper (2003), where the tags were legible even after 24 days. Marking did not influence the ability of *L. rufoscutellatus* to leave the habitat by flying. Flight of marked specimens was comparable to the control specimens.

No effect on reproduction behavior of the individual species was observed.

This method of individual marking of semiaquatic bugs can therefore be used in practice even in the field, as is shown by preliminary studies.



Fig. 2. Marked individual of *Velia caprai* feeding on a fly.



Fig. 3. Control individual of *Velia caprai*. All photos T. Ditrich

Acknowledgements

The project was supported by MSM 6007665801.

References:

- Brinkhurst, R.O. (1959) Alary Polymorphism in the Gerroidea (Hemiptera-Heteroptera). *Journal of Animal Ecology*, 28, 211-230.
- Ditrich, T. & Papáček, M. (2009) Correlated traits for dispersal behavior in semiaquatic bugs: terrestrial migration of *Velia caprai* (Heteroptera: Gerromorpha: Veliidae). *European Journal of Entomology*, accepted.
- Fairbairn, D.J. (1985) A test of the hypothesis of compensatory upstream dispersal using a stream-dwelling waterstrider, *Gerris remigis* Say. *Oecologia*, 66, 147-153.
- Hannon, E.R., Hafernik, J.E. (2007) Reintroduction of the rare damselfly *Ischnura gemina* (Odonata: Coenagrionidae) into an urban California park. *Journal of Insect Conservation*, 11, 141-149.
- Hovestadt, T., Nowicki, P. (2008) Investigating movement within irregularly shaped patches: Analysis of mark release-recapture data using randomization procedures. *Israel Journal of Ecology & Evolution*, 54, 137-154.
- Kreslavsky, A.G., Solomatin, V.M., Mishnev, A.V., et al. (1996) Migrations, dispersion and population structure in three species of leaf-beetles (Coleoptera, Chrysomelidae). *Zoologicheskii Zhurnal*, 75, 1021-1033.
- Piper, R.W. (2003) A novel technique for the individual marking of smaller insects. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 106, 155-157.
- Vepsäläinen, K. (1973) The distribution and habitats of *Gerris* Fabr. species (Heteroptera, Gerridae) in Finland. *Annales Zoologici Fennici*, 10, 419-444.