

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Katedra zoologie



**Metody individuálního značení jedinců
u Apoidea a jejich využití**

Bakalářská práce

Lenka Macháčková

Školitel: Mgr. Jakub Straka

Praha 2009

Ráda bych poděkovala svému školiteli Mgr. Jakobovi Strakovi za pomoc při psaní této bakalářské práce. Děkuji také Katce Rezkové za pomoc při poskytnutí některých článků a cenných rad ohledně značících metod a včelaři Zdeňkovi Žákovi za zodpovězení mých dotazů. V neposlední řadě patří dík také mým rodičům a přátelům za podporu, pomoc a trpělivost, kterou se mnou měli v období psaní této práce.

Prohlášení o původnosti práce

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracovala samostatně pod vedením Mgr. Jakuba Straky a s použitím citované literatury.

V Praze dne 6.8.2009

.....

Lenka Macháčková

Obsah

Abstrakt.....	3
Abstract.....	3
1. Úvod.....	4
2. Charakteristiky efektivního značení - jaké charakteristiky má mít/ nemá mít značící materiál	5
3. Typy značení a studií.....	8
3. 1. Typy studií, které vyžadují značení.....	8
3. 1. 1. Značení-vypuštění-znovuodchycení (Mark-Release-Recapture-MRR).....	8
3. 1. 2. Značení- odchycení (Mark-Capture-MC)	8
3. 2. Značení je také možno rozlišit na:	8
3. 2. 1. Vnější značení.	8
3. 2. 2. Vnitřní značení	9
3. 2. 3. Individuální značení.	9
3. 2. 4. Hromadné značení.....	9
4. Materiály a techniky používané ke značení jedinců	10
4. 1. Značení pomocí štítků	10
4. 2. Značení poškozením	11
4. 3. Značení pomocí barev a inkoustů	12
4. 4. Značení pomocí barevných prášků.....	13
4. 5. Vnitřní značení	14
4. 6. Značení pomocí pylu	15
4. 7. Značení radioaktivními izotopy	15
4. 8. Značení stopovými prvky	16
4. 9. Proteinové značení.....	17
4. 10. Harmonický radar.....	18
5. Značení používané u Apoidea a jeho využití	20
5. 1. Značení pomocí barevných očíslovaných štítků	20
5. 1. 1. Značení matek včel.....	20
5. 1. 2. Značení samotářských včel	23
5. 1. 3. Využití u čmeláků	23
5. 2. Metoda magnetických štítků	23
5. 3. Barevné kódy	25
5. 3. 1. Čmeláci.....	25
5. 3. 2. Samotářské včely.....	26
5. 3. 3. Značení matek včel.....	27
5. 4. Harmonický radar.....	27
5. 4. 1. Využití u čmeláků a včel.....	28
6. Diskuse.....	32
7. Závěr.....	34
8. Seznam použité literatury.....	35

Abstrakt

Monitorování pohybu zvířat je základem pro pochopení jejich biologie, demografie a etologie. Díky široké nabídce značícího materiálu, můžeme zhodnotit populační dynamiku hmyzu, teritorialitu, potravní návyky, chování a další ekologické interakce.

Ideální značící látka by měla být trvanlivá, přilnavá, netoxická, rychle schnoucí, bezpečná pro životní prostředí, cenově přijatelná a neměla by ovlivňovat normální biologii hmyzu. Tato práce pojednává o značení hmyzu a výhodách a nevýhodách jednotlivých metod.

Práce se speciálně zaměřuje na značící metody u Apoidea, kde se nejčastěji využívá značení pomocí očíslovaných štítků a značení pomocí barevných kódů. V současné době dochází k rozvoji monitorování jedinců pomocí harmonického radaru. Tento radar umožňuje sledování hmyzu na stovky metrů a tvorbu prostorově geometrických map.

Klíčová slova: značící techniky, individuální značení, hmyz, včely, Apoidea

Abstract

Monitoring the movement of animals is essential for understanding of its basic biology, demography and ethology. Thanks to wide diversity of markers, we can assess insect population dynamic, territoriality, feeding, behavioral and other ecological interactions.

The ideal marker should be persistent, adhesive, non-toxic, quick drying, environmentally safe, cost-effective and it should persist without affects to the normal biology of insect. This thesis treat insect marking, advantages and disadvantages of each technique.

This thesis is focused on the marking techniques in Apoidea, where numbered tags and colour codes are the most applied. Recently, monitoring of individuals with harmonic radar is beginning to be used. This radar enable tracking of insects through hundreds meters and making spatially geometric maps.

Key words: marking technique, individual marking, insect, bee, Apoidea

1. Úvod

Jedinci hmyzu na sobě nemají žádná jména, ani žádné rodné listy, tak abychom je mohli od sebe rozlišit a jasně identifikovat. Snadno od sebe odlišíme včelu medonosnou a vosu obecnou, ale pokud potřebujeme od sebe rozeznat dva jedince stejného druhu, nastává problém. Žádný člověk není schopen se podívat na dva neoznačené mravence a po minutě opět vybrat stejného jedince (Tschinkel, 2006). To je možné až tehdy, pokud bude mít na sobě jedinečnou značku. Značení jedinců pomocí značek se využívá již řadu let a hledají se stále nové a lepší metody, aby značení bylo, co nejpohodlnější pro člověka i pro hmyz a data, co možná nejpřesnější.

Značení hmyzu pomocí nejrůznějších technik značení a široké škály značícího materiálu (Hagler & Jackson, 2001; Walker & Wineriter, 1981) může být využito k celé řadě účelů: (1) při sledování pohybu a aktivity jednotlivých zvířat, což zahrnuje letové schopnosti, pohyb po povrchu země, pohyby zvířat uvnitř půdy či na rostlinách. Dále může být využito ke sledování přednostního výběru určité lokality a potravního a sexuálního chování a zvyklostí; (2) při odhalování počtu instarů hmyzu a jejich ekdysí; (3) při dispersních studiích, rozsahu letového okrsku, migračních tazích a jiných velkých přesunech jedinců a populací z jednoho místa na druhé; a (4) při určování populační hustoty, rozlišování věkových skupin, poměru pohlaví v populaci, délce života a úmrtnosti. V prvním případě je vyžadováno, aby příslušní jedinci byli dobře rozpoznatelní od ostatních v populaci, proto musí být tedy používány číselné či barevné kódy nebo jiná technika umožňující rozpoznání jedince. U (2 a 3) není nutné použití jedinečných kódů, záleží na tom, zda je důraz kladen na sledování jedince či populace (Gangwere a kol., 1964).

Na následujících stránkách se vám pokusím přiblížit jednotlivé metody, které se pro značení hmyzu používají, ať ty klasické nebo metody odzkoušené teprve v nedávné době. Budu se snažit upozornit na klady a zápory jednotlivých metod, různá jejich úskalí i nejrůznější omezení a nevýhody. V druhé části práce se zaměřím na individuální značení jedinců skupiny Apoidea, kde budou charakterizovány jednotlivé typy značení i jejich praktické využití.

2. Charakteristiky efektivního značení - jaké charakteristiky má mít/ nemá mít značící materiál

Rozmanitost materiálů dostupných jako potencionální značící materiál stále stoupá (Walker & Wineriter, 1981). Pro značení živočichů byla použita široká paleta materiálů a metod. Pro hmyz jsou často používány jedinečné metody vyvinuté speciálně pro jejich značení (Hagler & Jackson, 2001). Problémem je však nalézt materiály kvalitnější a efektivnější, než jsou ty stávající. Perfektní materiál určený ke značení by měl kombinovat řadu vlastností popsaných níže a ty by měly být vždy brány v potaz (Walker & Wineriter, 1981). V řadě studií výsledky ukazují, že jeden ideální značící materiál použitelný pro jeden druh hmyzu není použitelný pro jiný druh, jak bylo zjištěno např. v práci Su & Ban (1991) prováděné u různých druhů termitů.

Vždy by měly být prováděny předběžné studie před započítím konkrétní výzkumné práce, ve které se značení používá, aby se zabezpečilo, že značka bude trvanlivá po celou dobu studie a nebude mít nepříznivý vliv na hmyz (Hagler & Jackson, 2001). Nesmí ovlivňovat jeho chování, ani pozměnit jeho roli v ekosystému (Gangwere a kol., 1964). Metoda výběru techniky závisí na podmínkách, se kterými se hmyz setkává a na povaze experimentu (Hagler & Jackson, 2001). Po výběru vhodné značící techniky je důležité zvážit manipulaci se zvířaty a jejich vhodné vypuštění, přičemž nepatřičný stress zvířete musí být minimalizován (Southwood & Henderson, 2000).

Manipulace by měla být minimální, aby se předešlo zranění a zmrzačení zvířat. Také by se mělo zabránit nepatřičnému přenosu zápachu na zvířata (Gangwere a kol., 1964). V krajních případech může být nevhodná manipulace dokonce smrtící a měla by být pečlivě zvážena. Mnoho výzkumných návrhů předpokládá, že značení jedinci se chovají normálně, ale pokud je manipulace s nimi špatná, nemusí to být vždy pravda (Southwood & Henderson, 2000).

Vhodný materiál určený ke značení hmyzu by měl kombinovat tyto vlastnosti:

Trvanlivost: Materiál musí zůstat připevněný na hmyzu po celou dobu vedené studie. Musí vydržet i značky, které jsou do těla hmyzu vydřené (Walker & Wineriter, 1981). Jestliže potřebujeme sledovat jedince po řadu instarů, musí být trvanlivý přes tato životní stádia (Gangwere a kol., 1964).

Přilnavost: Materiál se nesmí loupat či odlupovat z těla hmyzu. Některé materiály, které jsou trvanlivé jsou však náchylné k odloupení, například butyrátový nátěr prodáváný jako nátěr na

modely aut. Pokud se celá značka kompletně odloupne, ze značeného jedince se stává jedinec neznačený, a tudíž neodlišitelný od ostatních neznačených jedinců. Pokud se však sloupne pouze část značky, jedinec může být zaměněn s jiným takto označeným jedincem a chybně identifikován (Walker & Wineriter, 1981). Toho bychom se měli snažit vždy vyvarovat, poněvadž chybná data by mohla zmařit celou studii.

Toxicita: Žádné materiály, ani jejich rozpouštědla by neměly být používány, pokud by měly měnit chování hmyzu či jej dokonce zabít a jinak deformovat (Walker & Wineriter, 1981). Ačkoliv většina pigmentů používaných pro značení je netoxická, jejich roztoky často toxické být mohou (Southwood & Henderson, 2000). Materiály nesmí být též škodlivé pro životní prostředí (Gangwere a kol., 1964) a k jiným zvířatům, která by hmyz mohla pozřít.

Snadné použití a jednoduchá aplikace: Velký počet individuí je odchyceno, označeno a opět vypuštěno bez použití komplikovaných zařízení a procedur (Gangwere a kol., 1964). To je výhodné ve složitém terénu, neboť vědec s sebou nemusí nosit těžké vybavení.

Rychlé schnutí: Hmyz musí být držen po dobu značení, dokud materiál není suchý a nemůže se smazat či rozmazat, nebo pokud by se mohl chovat jako přilnavý pro různé organické zbytky, které by se mohly na tělo hmyzu nalepit a být tak pro něj přítěží. Z tohoto důvodu jsou pomale schnoucí materiály nežádoucí a neměly by se používat ke značení hmyzu (Walker & Wineriter, 1981).

Lehkost: Některé druhy hmyzu jsou velmi drobné a i sebemenší nadměrná váha značky by mohla jejich život ovlivnit v řadě kritérií (Walker & Wineriter, 1981). Značky nesmí překážet, dráždit hmyz a nesmí ovlivňovat jeho normální behaviorální projevy, růst, schopnost reprodukce a životnost (Hagler & Jackson, 2001).

Dostupnost v několika snadno odlišitelných barvách: V řadě případů musí být použita více než jedna barva za účelem dosažení dostatečné jedinečnosti jednotlivých značek u různých jedinců (Walker & Wineriter, 1981).

Viditelnost: Značený jedinec či skupina musí být snadno rozpoznatelní výzkumníkem pokud možno jednoduchou technikou (Gangwere a kol., 1964). Ačkoliv je žádoucí, aby predátoři více či méně neupřednostňovali značené jedince, toto kritérium je jen zřídka splněno.

Řešením by bylo například používání fluorescenčních pigmentů, které jsou detekovatelné pouze pod UV-světlem. To je však velmi nepraktické u studií denního hmyzu. Pouze u jeskynních či nočních živočichů, kteří zůstávají ve tmě během dne je takové použití praktické (Walker & Wineriter, 1981).

Cena a dostupnost: Materiály pro značení by měly být za přijatelnou cenu (Coviella a kol., 2006) a měly by být snadno k dostání na trhu.

3. Typy značení a studií

3. 1. Typy studií, které vyžadují značení

Výběr specifického značícího materiálu závisí na typu studie, kterou výzkumník plánuje provést. Existují dva základní typy studií, při kterých se značení využívá značení-vypuštění-znovuodchycení (Mark-Release-Recapture) a značení-odchycení (Mark-Capture).

3. 1. 1. Značení-vypuštění-znovuodchycení (Mark-Release-Recapture-MRR)

Při tomto typu nepřímé studie jsou jedinci sebráni ve velkém množství z laboratorních kolonií nebo z přírody. Tito odchycení jedinci jsou po té výzkumníkem označeni a vypuštěni zpět do přírody. Za stanovený čas a ve stanovené vzdálenosti od místa vypuštění jsou znovu odchyceni pomocí nejrůznějších pastí. U znovuo odchycených jedinců je kontrolována přítomnost značky a tak jsou odlišováni od neoznačených příslušníku stejného druhu (Hagler & Jackson 2001). Podmínkou použití této metody je, že jedinci musí být vypuštěni nezranění a nepoškození a opět rozpoznáni při znovuzadržení (Southwood & Henderson, 2000). Všechny značící materiály popsané níže mohou být použity pro tento typ studií, nicméně ne všechny jsou stejně vhodné. Vhodné jsou především ty typy metod, které umožňují rychle a efektivně označit velké množství jedinců. Tohoto masového značení jedinců známých populací se využívá při dispersních studiích (Hagler & Jackson 2001).

3. 1. 2. Značení- odchycení (Mark-Capture-MC)

Pro studie používající tuto techniku se hmyz značí přímo při studii v terénu (Reynolds a kol., 1997 in Hagler & Jackson, 2001). Jedinec se označí sám pomocí značek, které nejsou drahé a které jsou rozmístěny v přirozeném prostředí či potravě. Řada značících procedur popsaných níže není vhodná pro tento typ studií (pomocí štítků či poškozením) (Hagler & Jackson 2001).

V obou případech jsou tedy jedinci označeni a znovu odchyceni, záleží však na tom, zda je značí vědec, či se označí sami.

3. 2. Značení je také možno rozlišit na:

3. 2. 1. Vnější značení.

Značka je použita, vydřena či vyřezána do povrchu hmyzu a hmyz je obvykle rozpoznán vizuálním pozorováním (Lavandero a kol., 2004).

3. 2. 2. Vnitřní značení

Rozpoznání značky zahrnuje vizuální, chemické či biochemické metody následující po rozpitvání zvířete (Lavandero a kol., 2004).

3. 2. 3. Individuální značení.

Individuální značky používané ve formě barevných značek či připevněných štítků umožňují identifikaci specifického jedince v celé populaci.

3. 2. 4. Hromadné značení.

Prášky či barvy jsou aplikovány na skupinu jedinců hmyzu určitého druhu a dovolují její identifikaci uvnitř větší populace (Hagler & Jackson, 2001).

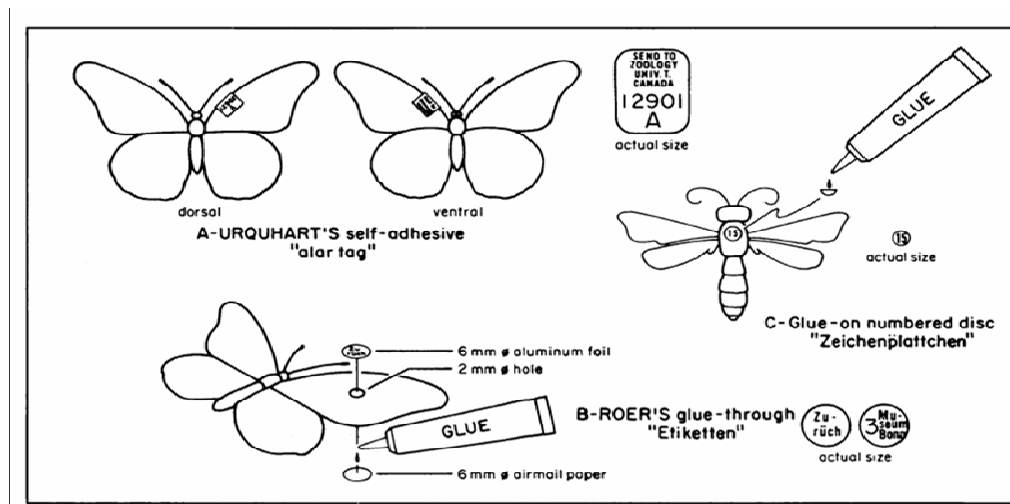
Další možností je technika samoznačení hmyzu. Hmyz se sám označí, pokud je značící látka umístěna na místo, kde se hmyz aktivně pohybuje či do blízkosti zdroje potravy nebo u vstupu do hnízda či úlu (Hagler & Jackson, 2001).

4. Materiály a techniky používané ke značení jedinců

Tradiční metody značení obratlovců bývají často složité a drahé, což je činí nepoužitelnými pro hmyz. Entomologové proto museli vyvinout nové metody, které jsou pro hmyz vhodné.

4. 1. Značení pomocí štítků

Tato technika je tradičně spjata se značením obratlovců a spočívá v tom, že se zevně na tělo jedinců přilepí či připevní různobarevné štítky či štítky s kódy. V některých případech jsou štítky používány také pro značení jedinců hmyzu. Nicméně většina jich je příliš velká a těžká pro použití na hmyz (Hagler & Jackson, 2001). Pro tyto důvody se tohoto značení využívá u větších druhů hmyzu, jako jsou například některé druhy motýlů (Lepidoptera) či blanokřídlých (Hymenoptera) (Obr.1). Je potřeba, aby štítek s nápisem byl dostatečně velký tak, aby nesl potřebné údaje a byl čitelný z dostatečné vzdálenosti pro výzkumníka, a zároveň byl dostatečně malý tak, aby nebránil v přirozeném pohybu jedince a neovlivňoval jeho chování (Walter & Wineriter, 1981). Nejčastěji jsou značky umístěny na hrudi a křídla jedince, ale mohou být označeny také jeho končetiny. Zde pak ale hrozí riziko, že si značku hmyz může setřít při čistících pohybech (Southwood & Henderson, 2000).



Obr. 1: Značení pomocí štítků (Walker, Wineriter, 1981).

První způsoby značení spočívaly v lepení očíslovaných kousků papíru či celofánu na hmyz (Hagler & Jackson, 2001, Southwood & Henderson, 2000), které byly později vystřídány lepicí páskou. Dnes jsou u včely medonosné (*Apis mellifera*) vyráběny plastové očíslované štítky komerčně a ty jsou pak lepeny na hrudi jedince (Pereira & Chaud-Netto, 2008) nebo se kovové štítky připevní k tělu jedince a u vstupu do úlu jsou magnetem odebrány (Gary, 1971).

Němečtí včelaři vyvinuly plastové štítky, které se lepí na hrud' včelí královny a jsou vyráběny v pěti barvách a očíslovány 0-99 (Walker & Wineriter, 1981). Individuální členové mravenčí kolonie mohou být značeni propracovaným systémem drátkového bandážování (Tschinkel, 2006) a u bzučivky lidožravé (*Cochliomyia hominivorax*) z řádu dvoukřídlých se používá značení pomocí malých plastových štítků vyráběných z fotografického filmu. Ty jsou menší a lehčí než komerčně vyráběné štítky a je možno pomocí nich individuálně označit tisíce jedinců hmyzu (Rubink, 1988). Bez speciálního zařízení byly též vyráběny malé štítky, které byly používány ke značení *Cryptocephalus coryli* (Coleoptera: Chrysomelidae) (Piper, 2003).

Výhodou použití štítků ke značení jedinců je, že jsou levné a mohou být použity pro individuální značení během Mark-Release-Recapture studie. Výhodou je taktéž jejich trvanlivost, takže mohou být použitelné pro dlouhodobé studie (Hagler & Jackson, 2001).

Nevýhodou tohoto značení je relativně větší hmotnost a velikost štítků, která umožňuje jejich použití pouze na větší druhy hmyzu. Aplikování štítků individuálně na hmyz bývá také časově zdlouhavé, náročné a únavné (Hagler & Jackson, 2001).

4. 2. Značení poškozením

Tento jednoduchý způsob značení byl používán více než století a patří též spíše do kategorie metod převzatých ze studia obratlovců. Toto značení zahrnuje odstřížení, vyrývání a vytlačování značek do různých částí těla hmyzu, tak aby mohli být tito jedinci snadno rozpoznáni od jejich neznačených protějšků. Tato metoda je použitelná tedy jen pro velký a silně sklerotizovaný hmyz s relativně masivním pronotem, jakým jsou například brouci, nebo pro hmyz s velkými křídly, jakým jsou motýli, vážky a saranče (Gangwere a kol., 1964).

U různých druhů sarančí, kobylek, koníků a švábů se značení sestávalo z kombinací amputace krytky a nastřihávání předního, zadního a laterálního okraje pronota pomocí nůžek na duhovku. Různými způsoby nastřihávání v kombinaci s amputací části či celé tegminy (kromě apterních a brachypterních druhů) se dosáhlo vysokého počtu (přes 1700) zřetelných značek. Tyto zářezy mohou být doplněny barevnými značkami. Části pronota jsou nabarveny barevnými (u denních druhů) či fluorescenčními (u nočních druhů) barvami. Toto nastřihávání neovlivňuje hmyzí chování a je trvalé po zbytek jeho života (Gangwere a kol., 1964).

U včelích královen, které jsou označeny barvou a případně očíslovány, se také jedno z křídel nastřihne pro případ, že by se barevná značka ztratila (Tew, 2000).

Dosavadní studie ukazují, že takovýto typ značení neprodukuje vedlejší účinky na životnost brouků (Gangwere a kol., 1964).

Nevýhodou tohoto značení je, že může být použito pouze na relativně malý počet hmyzích druhů a vyžaduje manipulaci s hmyzem, což jej činí časově náročným a vyžadujícím jistou míru zkušenosti tak, aby zvířata nebyla poškozena více, než je nutné pro značení (Hagler & Jackson, 2001). Běžně jsou jedinci zklidněni pomocí CO₂ či chlazení, což může vést k některým vedlejším účinkům (Ribbands, 1950).

Velikou výhodou tohoto značení je však vysoká trvanlivost značek a jejich snadné a rychlé rozpoznání v terénu bez použití složitého specializovaného zařízení (Hagler & Jackson, 2001).

4. 3. Značení pomocí barev a inkoustů

Barvy a inkousty byly prvními materiály používanými ke značení hmyzu a stále patří mezi nejčastěji a nejoblíbeněji používané materiály pro individuální a skupinové značení hmyzu. Ideální barva nebo inkoust by měly být trvanlivé, netoxické, dobře roztíratelné, rychle schnoucí, odolné k oděru či odlupování a dostupné vždy v několika různobarevných dobře viditelných variantách. Kombinace barevných kódů se hojně využívá při značení samotářských včel či u mravenců, kdy jsou různé části těla hmyzu (hlava, trup, zadeček) nabarveny různými barvami. Pro zvýšení množství rozdílných individuálních značek je vhodné barvy zkombinovat s číselnými kódy (Hagler & Jackson, 2001).

Barvy a inkousty mohou být též použity na velké množství hmyzu pro účely MRR studií použitím různých značkovacích přístrojů (Manzato & Tadei, 2004). Hromadné značení barvami je poměrně jednoduchou, rychlou a levnou záležitostí. Značka je jednoduše rozpoznána na zachyceném jedinci bez mikroskopického zkoumání. Ve vodě nerozpustné barvy jsou však příliš husté a lepkavé pro postříkání přímo na hmyz, a tak musí být často ředěny acetonem nebo alkoholem před aplikací na hmyz. Je tudíž třeba s nimi zacházet velice opatrně, aby nedošlo k otravě hmyzu. Ze stejného důvodu nejsou tyto barvy vhodné pro hmyz s tenkou kutikulou (Hagler & Jackson, 2001).

Velkými výhodami použití barev a inkoustů při individuálním značení hmyzu je finanční přijatelnost, jejich snadné nanášení a to, že si díky možnosti kombinování vystačíme s několika málo barvami.

Hlavními nevýhodami použití barev a inkoustů při individuálním značení hmyzu jsou zdlouhavost a časová náročnost aplikace značící látky na hmyz a také to, že značící materiál

nebo rozpouštědlo v něm obsažené mohou být často pro hmyz či životní prostředí závadné (Wineriter & Walker, 1984). Další nevýhodou je použitelnost tohoto materiálu pouze pro jedno životní stádium hmyzu, poněvadž hmyz ztrácí značku v průběhu svlékání do dalšího instaru či životní fáze (Lavandero a kol., 2004). Barvy a inkousty jsou používány pouze na větší a statnější druhy hmyzu. Pro drobný a měkotělý hmyz nejsou praktické, jelikož by u nich mohlo dojít k jejich poškození při použití značících sprejů a rozprašovačů (Hagler & Jackson, 2001). Občas dochází též k blednutí barev vlivem počasí a slunečního záření, takže po určité době nemusí být některé odstíny od sebe odlišitelné (Ford, 2009).

4. 4. Značení pomocí barevných prášků

Metoda značení hmyzu pomocí barevných prášků je používána desítky let a v současné době je jednou z nejpoužívanějších metod pro externí značení u celé řady druhů hmyzu (Bextine & Thorvilson, 2002; Nakata, 2008). Ke značení se používá celá řada různých druhů prášků. K nejdříve používanému značicímu materiálu patřily neviditelné zelené fluorescenční prášky běžné v kriminalistice. Tyto prášky jsou neviditelné pouhým okem, mohou být však snadno detekovatelné pod UV světlem (Taft & Agrese, 1962). Nejvíce používaný ke značení hmyzu je komerčně vyráběný Day-Glo (Day-Glo Color Corp., Cleveland, OH). Tento fluorescenční prášek je k dostání v široké paletě barevných variant. Day-Glo je viditelný pouhým okem, ale jeho lepší detekovatelnost na hmyzu může být však zvýšena při použití UV světla (Stern & Mueller, 1968).

Tato metoda je nejvhodnější pro značení větších druhů hmyzu a pro druhy jejichž tělo je hustě pokryto velkým množstvím set, na kterých může prášek snadno ulpět (Skovgaard, 2002). Jedinec, který má být označen, je zavřen do krabičky obsahující značící látku a po krátkém zatřesení jím bude celý obalen. Tento způsob je však nevhodný pro druhy drobné a křehké, poněvadž příliš mnoho prachu na živočichovi způsobuje vedlejší účinky. Může to být například snížení mobility jedince či jeho pozdější zvýšená mortalita a dochází též k ovlivnění sensorických orgánů hmyzu (Hagler & Jackson, 2001). Alternativou je poprášení jedince pomocí jemného štětce nebo vytvoření jemného aerosolu, který drobným živočichům nevádí (Manzato & Tadei, 2004). Je nutné, aby bylo použito jen malé množství prášku tak, aby jím hmyz nebyl zahlcen (Southwood & Henderson, 2000).

Barevný prášek se využívá pro samoznačení některých druhů hmyzu během MC studií. Prášek může být umístěn strategicky blízko hnízd hmyzu, vstupu do úlu či u zdroje potravy a tak se hmyz označí sám prostým pohybem v přirozeném prostředí (DeGrandi-Hoffman &

Martin, 1995). To, že se hmyz sám označí pomocí prášku je velice výhodné, jelikož se eliminuje jeho možné poškození, které při jeho přímé manipulaci hrozí (Hagler & Jackson, 2001).

Prášky jsou běžně používané pro značení hmyzu při MRR studiích. Pro dispersní studie je hmyz, který byl sebrán či vychován v laboratoři, masově označen a poté vypuštěn do přírody (Skovgaard, 2002).

Hmyz, který byl označen je rozpoznán při rozložení na filtrační papír a pokapáním acetonem tak, že se pod ním formuje barevná skvrna či prstenec. Takové testování však zahrnuje zabití zvířete (Southwood & Henderson, 2000).

Barevné a fluorescenční prášky jsou velice vhodnou metodou značení pro řadu druhů hmyzu. Jsou levné, poměrně snadno k dostání na trhu a jejich použití nevede k životnímu prostředí. Velikou výhodou je, že se dají velice snadno používat a detekovat i při studiích s velkým počtem jedinců a tím odpadá časová náročnost, která je spjata s jinými druhy značení (Coviella a kol., 2006). Navíc různé barvy prášků mohou být použity pro značení různých kohort individuů.

Na druhou stranu existuje řada publikací potvrzující negativní dopad značících prášků na životaschopnost a chování hmyzu (Reid & Reid, 2008). Prášky také nemusí vydržet při dlouhodobých studiích po celou dobu studie. Další stinnou stránkou by mohl být případný přenos prachových částic se značeného jedince na jedince neznačeného.

4. 5. Vnitřní značení

Vědci v minulosti zjistili, že některá nepolární barviva rozpustná v oleji se při pozření mohou akumulovat v těle hmyzu a sloužit jako značka (Hagler & Jackson, 2001). Podstatou vnitřního značení je tedy přijetí barvy per orálně nejčastěji s potravou. Význam tohoto značení ještě vzroste, jestliže barva může být rozpoznána bez usmrcení zvířete a pokud je zachována v tkáních od larválního stádia až do stádia dospělého (Southwood & Henderson, 2000).

Calco red N-1700 byla použita pro značení larev *Pectinophora gossypiella* (Graham & Mangum, 1971). Neutral Red a Nile blue byla použita u termitů (Su & Ban, 1991). Dalšími možnými barvami používanými ke značení hmyzu jsou Sudan Black B, Sudan Blue, Sudan Red 7B, Sudan Orange (Vilarinho a kol., 2006).

Značení těmito barvami není efektivní pro malé druhy parasitoidů, nicméně dospělci některých druhů vos byli úspěšně značeni akridinovou oranží přidávanou k potravě během laboratorních studií (Hagler & Jackson, 2001).

Toto značení má řadu výhod oproti jiným typům značení. Zaprvé, barvy rozpustné v oleji jsou levné a značení jimi je časově nenáročné, protože barvy jsou smíchány s oleji (např. bavlníkový olej či kukuřičný olej) a poté přidány přímo do potravy. Zadruhé, lze tohoto typu značení použít pro samoznačení hmyzu, neboť hmyz může přijmout barvu s potravou bez toho, aniž by jej experimentátor značením rušil (Graham & Mangum, 1971). Výhodné je také používat barviva, která je možné snadno detekovat vizuálně, bez nutnosti jedince usmrtit a testovat jejich tkáň na přítomnost barviv.

Pouze několik desítek barviv se ukázalo být vhodných pro takovýto typ značení, neboť většina barviv měla buď příliš krátký poločas rozpadu nebo byla pro hmyz škodlivá (Su & Ban, 1991; Xin a kol., 2007). Většina používaných pigmentů je netoxických, ale jejich roztoky jsou bohužel v řadě případů jedovaté (Southwood & Henderson, 2000).

4. 6. Značení pomocí pylu

Pyl může být použit jako samoznačící materiál při MC studiích (DeGrandi-Hoffman a kol., 1992). Má několik vlastností pro to, aby mohl být použit jako značka. Díky dlouhé koevoluci s opylovači je velice přilnavý k tělnímu povrchu hmyzu. Vnější vrstva pylového zrna je mechanicky velmi odolná, jelikož je tvořena sporopoleniny, což jsou velmi odolné uhlovodíky. Další užitečnou vlastností je tvarová rozdílnost pylů různých rostlin a fakt, že doba kvetení většiny rostlin je dobře známá, což také napomáhá správnému určení pylu (Hendrix a kol., 1987). Ideální pylová značka by měla pocházet z rostliny geograficky dostatečně vzdálené od míst v nichž je hmyz nesoucí pyl chytán, aby nemohlo docházet k přirozené kontaminaci (Hagler & Jackson, 2001).

Identifikace pylu je dosaženo pomocí různých metod světelné mikroskopie či pomocí skenování elektronové mikroskopie (SEM) (DeGrandi-Hoffman a kol., 1992). Hmyz, který je sám označen, nemusí být brán do rukou a eliminují se negativní vlivy spojené s ruční manipulací (Hagler & Jackson, 2001).

Navzdory výhodám použití pylu jako přírodní biologické značky je pylová analýza velmi drahá, časově náročná a vyžaduje přítomnost odborníka (Hagler & Jackson, 2001).

4. 7. Značení radioaktivními izotopy

Radioaktivní způsob značení byl velmi oblíben od roku 1970 do 1990 (Southwood & Henderson, 2000) (od 1950-70, Hagler & Jackson, 2001) poté, co se staly radioizotopy snadno dostupnými. Dnes je tato metoda již málo používaná pro populační a disperzní studie. V mnoha zemích jsou nařízena bezpečnostní opatření použití izotopů v přírodě a značení jsou nahrazována mnohem bezpečnějšími technikami značení (Hagler & Jackson, 2001), jako je např. značení pomocí stopových prvků či fluorescenčními prášky. Při MRR studiích nesmí docházet k přenosu izotopu mezi jedinci navzájem (sekundární značení), jak se děje např. u mravenců a izotopy nesmí být taktéž zaneseny do přírody. Sekundárního značení může být využito při zjišťování velikosti areálu, ve kterém se mravenci či termiti pohybují (Southwood & Henderson, 2000).

Existují dvě základní metody tohoto značení. Izotop může být použit jako značka zevně zvířete nebo může být zkrmen zvířetem s potravou a inkorporován do jeho tělních orgánů. Jedním typem povrchového značení je ponořování jedinců do roztoku obsahujícího radioaktivní izotopy. Zde ale hrozí, že malé množství látky může být zaneseno do útrob hmyzu. Tímto způsobem může být rychle a snadno označeno velké množství jedinců.

Pokud se používá metody, kdy má být izotop inkorporován do tkáně, je izotop přidáván k potravě larvy či dospělého, nebo běžněji se hmyzu podává cukerný roztok obsahující daný izotop (Southwood & Henderson, 2000).

4. 8. Značení stopovými prvky

Jak už bylo zmíněno výše, tento typ značení byl vyvinut jako alternativa k radioizotopovému značení, jelikož je daleko bezpečnější pro životní prostředí. V přírodě se tyto prvky vyskytují v nízkých koncentracích a rostliny i zvířata je ve svém těle tolerují (Berry a kol., 1972). Často se používá značení rubidiem, stronciem, cesiem, hořčíkem, hafniem, iridiem a cerem. Z tohoto výčtu je pro značení hmyzu asi nejčastější použití RbCl soli (Hougarly a kol., 2003; Hagler & Jackson, 2001).

Při tomto typu značení může být využito různých technik. Jednoduchou a efektivní metodou externího značení pro MRR studie je namáčení kukel či postřikání dospělců látkou obsahující prvek (Hamann & Iwanek, 2004). Nejběžněji se používá vnitřního značení, kdy se prvek smíchá s potravou (Southwood & Henderson, 2000). Tohoto se využívá při samoznačení či zjišťování potravních preferencí. Běžně používané jsou MC studie, kde se fytofágní hmyz samoznačí žírem hostitelské rostliny, která byla předtím pokapána vodním roztokem obsahujícím různé stopové prvky nebo byl roztok zanesen přímo do rostliny

(Hougardy a kol., 2003; Stefan a kol., 2001; Wanner a kol., 2006). Tyto stopové prvky se pak kumulují v těle hmyzu a po čase je možné je detekovat (Hagler & Jackson, 2001). Podobný efekt by mělo hypotonické pěstování rostliny v roztoku obsahujícím stopové prvky. Podobným způsobem se dá zjišťovat potravní preference predátorů, pokud prvky označíme kořist či potravu kořisti, kterou přijímá. Tento způsob je také jedním z mála vhodných pro značení malých parazitoidů (Hougardy a kol., 2003).

Praktické využití tohoto typu značení závisí na řadě faktorů. Stopové prvky jsou v malých množstvích obsaženy v zemské kůře, a proto se jejich hladina může lišit v různých částech světa a mohou se tedy vyskytnout v rostlinách i hmyzu přirozeně (Prasifka a kol., 2001). Množství stopového prvku přijatého různými organismy se liší a proto musí být známo přirozené množství používaného prvku v prostředí a v organismech před započítáním studie (Hagler & Jackson, 2001). Množství stopového prvku obsažené v hmyzu může také klesat v závislosti na jeho fyziologických a behaviorálních faktorech jako je například krmení, vylučování, páření a ovipozice a schopnost zadržet prvek může být různá v různých stádiích vývoje (Hougardy a kol., 2003).

Velkou výhodou tohoto typu značení je, že prvky nejsou radioaktivní a tudíž jsou šetrné jak ke zvířeti, tak i k životnímu prostředí (Berry a kol., 1972) a bezpečné pro výzkumníky. Další obrovskou výhodou je, že se neprojevují nikterak ve vzhledu organismu a tudíž neovlivňují jeho interakce s jinými zvířaty (např. predátory). Velkou výhodou je, že stopové prvky zůstávají v těle hmyzu zachovány po velice dlouhou dobu, což je činí vhodnými pro dlouhodobé studie. Mohou přetrvat od larválního stádia až do stádia kukly (Southwood & Henderson, 2000).

Značení pomocí stopových prvků je nevhodné pro velké terénní studie, protože detekce stopových prvků může být dosti složitá, poměrně drahá a časově náročná (Hougardy a kol., 2003) a často pro hmyz smrtící (Southwood & Henderson, 2000). Jako přístroje se zde využívá spektrometrie (Wilkins a kol., 2007; Hougardy a kol., 2003; Southwood & Henderson, 2000; Berry a kol., 1972).

Některé stopové prvky nejsou v těle některých druhů hmyzu zadržovány moc dobře (Hagler & Jackson, 2001) a v neposlední řadě je nevýhodou také to, že při vysokých koncentracích stopových prvků může docházet k negativnímu vlivu na vývoj, přežívání a životaschopnost hmyzu (Wilkins a kol., 2007).

4. 9. Proteinové značení

Tato metoda je aplikací klasické imunologické metody používané pro obratlovce na hmyz. Hmyz je označen pomocí různých proteinů typických pro obratlovce a ty jsou pak detekované pomocí specifických protilátek testem ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay).

Poprvé byla tato metoda použita na plošnici *Lygus hesperus* s použitím králičího imunoglobulinu G (IgG) (Hagler a kol., 1992). Hmyz může být označen proteinem různými způsoby. U větších druhů může být rozprášen na hmyz různými rozprašovacími přístroji, či může být podáván ve formě roztoku s potravou (Hagler & Miller, 2002).

Parasitoidi mohou být nepřímo označeni při použití proteinu na jejich hostitele těsně před jejich líhnutím (Hagler & Jackson, 2001). Proteinové značení bylo efektivně použito pro vnější i vnitřní značení malých druhů parasitoidů. Tato relativně nová značící metoda nabízí výzkumníkům užitečné nástroje pro MRR studie zahrnující malé parasitoidy.

Proteinové značení bylo použito v kolonii včely medonosné při zkoumání toku přicházejícího nektaru. Včely byly krmeny nektarovým roztokem obsahujícím králičí IgG. Označený nektar byl rychle transportován do skladu potravy a do buněk s potomstvem (DeGrandi-Hoffman & Hagler, 2000).

Toto značení nabízí řadu výhod. Proteinové značky i imunologické činidlo potřebné pro ELISA test jsou relativně levná a rychle a snadno k dostání na trhu. Velkou výhodou je také citlivost, jednoduchost, rychlost a bezpečnost prováděné ELISA analýzy (Hagler & Jackson, 2001).

Při této metodě může však docházet ke krosreaktivitě, kdy sekundární protilátka reaguje s cizí primární protilátkou. Například místo IgG králíka reaguje s IgG ovce. Díky této vysoké míře nespecifických reakcí, ke kterým dochází, je složité optimalizovat metodu pro více typů značek, tak aby bylo dosaženo dostatečné míry specifiky (Rezková, osobní sdělení).

Použití proteinů ke značení hmyzu je relativně nová metoda a je třeba vést další studie, aby mohla být ustanovena její platnost a její hranice. Není také zcela jasné, zda mohou být označeny hostitelské rostliny proteiny (Hagler & Jackson, 2001).

4. 10. Harmonický radar

Metoda sledování hmyzu pomocí harmonického radaru patří mezi přímé metody sledování hmyzu. Poskytuje informace o hmyzu, který se pohybuje v nízkých nadmořských výškách (Osborne a kol., 2002). Tato metoda se začala prvně využívat u monitorování pohybu brouků a motýlů. Hmyz je označen diodou a anténou, která pokud zaznamená vyslané krátkovlnné záření, tak vydává opětovně signál. Tento radarový signál může být detekován i proti silným

rušivým odrazům od země. Délka antény, která je připevněna k tělu hmyzu, ovlivňuje vzdálenost, na kterou je hmyz možné detekovat (Osborne a kol., 2002). Pohyb hmyzu je zaznamenáván na display radarového zařízení (Riley a kol., 1996).

Tato technika byla vyvinuta profesorem J. Riley a jeho kolegy v Natural Resources Institute (NRI) Radar Unit a umožňuje přesné sledování kompletních letových či pohybových cest individuálního, relativně velkého hmyzu pohybujícího se v nízkých letových výškách. Hmyz je možno sledovat na stovky metrů (Osborne a kol., 2002), což poskytlo nový a zajímavý pohled do chování hmyzu. Ale nebyl rozšířen pouze okruh detekce hmyzu daleko za hranicemi lidského vidění, ale byla umožněna též možnost tvorby geometricky přesných map letové trajektorie hmyzu (Riley & Osborne, 2001).

Později byla tato technika použita pro zkoumání letového chování čmeláků (Riley a kol., 1996, 1999; Osborne a kol., 1999) a včely medonosné (Riley a kol., 1996).

Tato technika uvedla novou éru ve studiu letů hmyzu v nízkých výškách nad zemí (Riley & Smith, 2002). Velkou výhodou stopování hmyzu pomocí radaru, oproti pylovým analýzám a přímému pozorování jinak značeného hmyzu, je možnost zabývat se celým terénem, v němž se hmyz pohybuje. Může být sledován výskyt hnízdních ohnisek, areály v nichž aktuálně dochází ke sběru a vztahy mezi nimi (Osbourne a kol., 1999). Technika dovoluje mít dohled nad hmyzem přes stovky tisíc m². Poskytuje dynamické a geometrické záznamy letových cest hmyzu v horizontálním směru. Navíc je možno techniku používat stejně dobře ve dne jako v noci (Riley & Smith, 2002).

Ačkoliv se technika ukazuje být velmi úspěšnou, je důležité zdůraznit také některá její omezení. Jsou vyžadovány čisté linie pohledu mezi radarem a cílem, což znamená že studie potřebují být vedeny na plochem terénu zbaveném vysokých rostlin, stromů a živých plotů (Osborne a kol., 1999). Poněvadž všechny transpondéry vypadají podobně na radaru, mohou být sledovány ve stejný čas pouze dva až tři objekty. Při sledování více jedinců najednou by se mohly stát jejich cesty zmatené (Riley & Smith, 2002). Detekce cílů se děje v rozsahu 3-4 metrů nad zemí, kam dosáhnou paprsky radaru. Vyšší lety nemusí být proto zaznamenány (Osborne a kol., 1999). Jsou také potřeba další experimenty ke zjištění, zda značky významně neovlivňují chování hmyzu. Je velmi pravděpodobné, že by mohlo být využito harmonického radaru v mnoha aspektech hmyzí ekologie. Potenciálně by takto mohlo být také sledováno chování čmeláčích královen při hledání místa pro přezimování a míst pro hnízdění (Riley a kol., 1996) a mohla být získána řada dalších do současnosti nezjištěných informací, které nebylo možno staršími metodami získat.

5. Značení používané u Apoidea a jeho využití

5. 1. Značení pomocí barevných očíslovaných štítků

U včely medonosné (*Apis mellifera*) dochází k dělbě práce mezi jednotlivé členy kolonie. Pro behaviorální studie, které zjišťují, co který člen kolonie má za úkol, je velmi důležité vědět, jak je individuální jedinec starý. V koloniích včely medonosné se využívá hlavně značení pomocí plastových očíslovaných štítků, které se lepí na hrud' jedince. Jedná se o jednoduchou a levnou techniku, která byla původně vypracována právě pro studie s včelou medonosnou, ale může být použita také pro značení jiných druhů blanokřídlého hmyzu.

Může být použita na hmyz, který má přibližně stejnou velikost hrudě jako včela medonosná. Velikost hrudě u dělnic je okolo 4,35 mm a 6,43 mm u trubců.

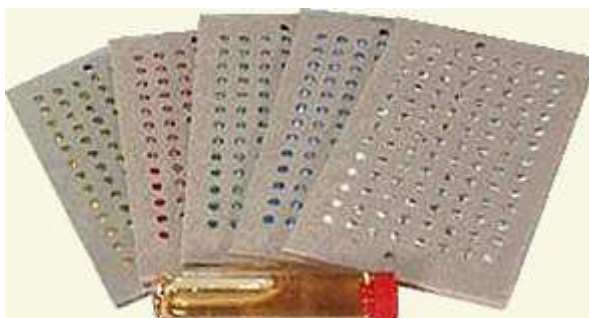
Pořadí čísel od 00 do 99 je vytištěno na bílém papíře. Tato čísla mohou být vytištěna i na jinak barevných archách papíru, aby se ulehčilo věkové rozlišení skupin hmyzu. Každý A4 arch (velikost stránky 21x29,7 cm) je potažen čísly v pořadí od 00 do 99. Nato je potažen plastem tak, aby bylo zabráněno tvorbě bublin mezi archem papíru a plastem. Poté musí být čísla individuálně vyříznuta kovovým válečkem a každý plastový štítek musí mít konkávní tvar tak, aby byla zaručena perfektní přilnavost k včelí hrudi. Pak může být štítek sejmut a přilepen k hrudi jedince (Pereira & Chajd-Netto, 2008).

5. 1. 1. Značení matek včel

Tohoto značení se využívá v plemenných chovech včelích matek u včely medonosné. Pro včelaře je velmi důležité mít mladé, zdravé a vysoce kvalitní matky, poněvadž genetické charakteristiky jsou předávány do dalších generací. Včelaři chtějí aby potomstvo bylo neútočné mírné povahy, dobře sbíralo pyl a nektar, bylo rezistentní proti nemocem a parazitům, nebylo příliš často se rojící, používalo minimum propolisu a efektivně opylovalo (Tew, 2000). Proto je nutné včelí matky před zužitkováním a pro jejich usnadněné vyhledávání po celý další život (který trvá zhruba 3 roky) označit (Veselý a kol., 2003).

Všechny matky ve šlechtitelských chovech se označují identifikačními značkami (plastové, „opalinové značky“, Chr. Graze, Germany (Govret & Farina, 2005)) přilepenými na hrud' s čísly od 1 do 99. Tyto štítky vyvinuli němečtí včelaři a jsou velké okolo 2 mm v průměru. Jeden váží pouze 1,3 mg (Walter & Wineriter, 1981). Jedná se o komerčně vyráběné disky, které jsou očíslované a prodávané v pěti barvách (Obr. 2) (Veselý a kol., 2003). Barvy se

používají podle toho, v kterém roce se matka vylíhla. V jednom roce se vždy používá jedna barva. Pro rok 2009 tedy včelaři značí matky barvou zelenou, jak je znázorněno v Tabulce 1.



Obr. 2: Komerčně vyráběné číslované štítky (00-99). (Cushman, 2007).

Poslední číslo letopočtu	Barva značky
1 nebo 6	bílá
2 nebo 7	žlutá
3 nebo 8	červená
4 nebo 9	zelená
5 nebo 0	modrá

Tabulka 1: Barva značky je určena podle posledního čísla roku, ve kterém se matka včely medonosné vylíhla.

Včelí matky se značí hned z řady důvodů. Značená včela je snadněji viditelná a rozpoznatelná při kontrole úlu. Barevné kódy slouží k označení stárí matky. Včelař je navíc schopen stopovat královnu prostřednictvím čísla, které je zpravidla zaznamenáno v databázi. Všechny tyto důvody značení mají ve včelařství své místo. Používání čísel je významné pouze pro chovné projekty či v některých experimentech, kdy musí být možné rozpoznat individuálního jedince. Očíslované disky jsou veliké 2,2 mm v průměru, ale jejich velikost se může mírně měnit dle používané výroby a nemusí být též shodné várku od várky (Cushman, 2007). Matky jsou zpravidla značeny před dosazením do úlu, nicméně mohou být značeny samozřejmě v kteroukoli dobu (Tew, 2000).

Někteří včelaři identifikují matky též zastřížením jednoho z předních křídel (Tew, 2000). Zastřihávání se provádí zpravidla u inseminovaných matek (Žák, osobní sdělení). Matkám se v lichých letech zastřihává levé křídlo a v sudých letech pravé. Zastřihování je doplňkem, v případě, že by matka barvu ze sebe setřela nebo ztratila číselnou značku, poněvadž dělnice občas značku z matky odloupnou (Žák, osobní sdělení) Pokud je zastřihování provedeno

správně, je prováděno do dvou třetin či do poloviny křídla a královna nebude schopna létat. Nicméně křídlo nesmí být zastřiženo ani příliš blízko těla, aby nedocházelo k poškození matky (Tew, 2000).

Baldockova klec:

Jako pomůcka fixování královny při značení se používá Baldockova klec (Obr. 3). Jedná se v podstatě o kruh vyplněný oky a na jeho povrchu jsou krátké zuby. Snadno se používá a královna není tlačena velkou silou do plástu. Tato metoda se používá pokud se neoznačená královna nachází v nezmenšené kolonii. Velikost vypletených ok je dostatečná na to, aby dělnice mezi nimi mohly prolézt a utéct a větší královna, aby zůstala zajata. Matka je imobilizována tím, jak klec tlačíme postupně dolů. Je sevřena měkkou a lehkou výpletí kruhu. Pokud je takto sevřena, je velmi jednoduchou záležitostí nanést na ni očíslovaný disk. Po zaschnutí, které netrvá dlouho, můžeme klec opět sejmut (Cushman, 2007).

Jiným způsobem je nanesení barvy či čísla pouhou manipulací v prstech. Je rozumné vždy používat stejnou techniku, poněvadž při ní člověk získává zkušenosti. Doporučenou metodou je nejprve matku uchopit za okraje křídel do pravé ruky a poté si ji přendat do levé a uchopit ji za nohy. Takto můžeme pravou rukou manipulovat a nanést na hrud' štítek. Zatímco barva či lepidlo schne zastříhneme matce jedno z křídel (Cushman, 2007). Jinou technikou může být držení matky v ruce mírným stiskem její hrudi z boku. Nikdy však nesmíme stisknout mezi prsty zadeček matky, protože jeho důležité orgány jsou snadno zranitelné (Veselý a kol., 2003).



Obr. 3: Baldockova klec se zajatou matkou včely medonosné. (Anonymus, 2009) (<http://www.flickr.com/photos/kitreno/3546912900/>).

5. 1. 2. Značení samotářských včel

Značení pomocí plastových očíslovaných štítků nemusí být používáno pouze u včely medonosné, stejně tak dobře se dá použít k identifikaci jedinců u samotářských včel, u nichž můžeme sledovat populační změny v různých letech, poměr pohlaví, velikost agregací v určitém místě a změny jedinců mezi agregacemi (Bischoff, 2003). (využití značení je popsáno níže v kapitole 5.3.2. Samotářské včely)

5. 1. 3. Využití u čmeláků

U čmeláků bylo používáno toto značení k disperzním studiím. Výsledky studie Goulson & Stout (2001) demonstrují, že čmeláci mají působivé navigační schopnosti, které jim dovolují vracet se ke svým hnízdům dokonce ze vzdálenosti okolo 9,8 km. Studie, které zjišťovaly maximální vzdálenost, ze které se čmeláci ještě budou vracet, po tom co byli zavezeni až do 15-ti km vzdálenosti od hnízd, ukázaly nepřímý vztah mezi poměrem vracejících se čmeláků a vzdáleností, do které byli zavezeni. Ze čtyřiceti takto vypuštěných jedinců se nevrátil žádný. Maximální vzdálenost, ze které se čmeláci ještě vrátili, byla 9,8 km. Největší poměr znovu spatřených jedinců u hnízda byl z nejbližší vypouštěcí vzdálenosti 1,1 km. 9 z 10 jedinců bylo znovu spatřeno (Goulson & Stout, 2001).

5. 2. Metoda magnetických štítků

Metodu používání plastových štítků modifikoval Gary (1971) tak, že ke stávajícím plastovým štítkům přidal ocelový disk, který poté získával zpět magnetickou pastí připevněnou u vstupu do úlu a prováděl s nimi řadu experimentů. Kovové štítky byly vyráběny z ocelové podložky v různých tloušťkách (0,05; 0,13; 0,25 a 0,64 mm). Pouze tloušťka 0,25 mm se však ukázala být vhodnou, neboť lehčí štítky nebyly často odebírány magnetem a u těžších by mohlo docházet k nežádoucím efektům v chování včel. Všechny štítky byly stejně veliké (2,3 mm v průměru) a byly raženy kovovým razidlem. Ražení bylo modifikováno lehkým přibušováním, tak aby byly produkovány disky, které jsou mírně konvexní. Tato modifikace usnadňovala přilepení očíslovaného plastového štítku na kovový disk. Pokud byly disky barveny, místo připevnění očíslovaných značek, bylo použito normálního ražení. Poté co byly disky vyraženy, byly připevněny na lepkavý podklad oboustranné lepící pásky, která byla přilepena k mikroskopickému podkladnímu sklíčku. Po

jemném stlačení na místě, mohly být pomocí lepidla přilepeny plastové štítky navrch kovových disků. Lepidlo bylo dávkováno pomocí dávkovacího přístroje, který tvořil malé kapičky.

Včely byly nachytány při sběračských aktivitách a poté anestetizovány pomocí CO₂. Poté byly ihned označeny. Na zadeček byla nanесena kapička lepidla a štítek byl upevněn do potřebné polohy pomocí pinzety.

Štítky byly připevňovány na zadeček včely. Tato technika se zdála být lepší než připevňování na hrud' z řady důvodů. Možné riziko znečištění křídel je takto minimalizováno a také odlomení štítku z těla je snadnější, neboť zadeček je pokryt menším množstvím set. Zadeček je též adaptován na nošení vody a nektaru, které představují značnou váhu těla. Po označení byly včely ihned vypuštěny. Popsané štítky byly odebírány zpět pomocí magnetické pasti.

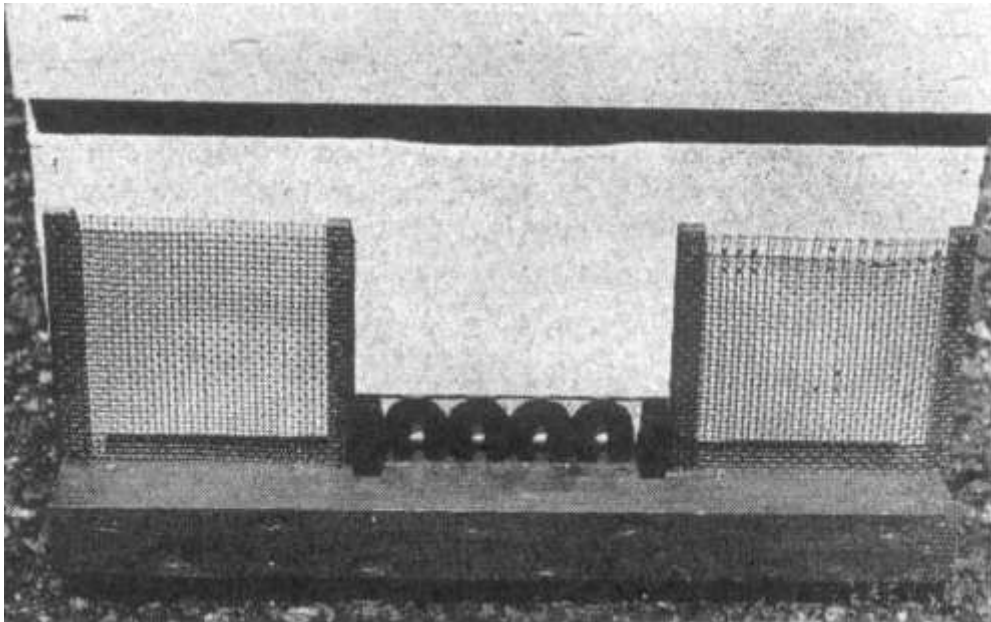
Pokud se včela vracela do úlu, vstupovala do magnetického pole pasti a poté, co přišla blíže k magnetu, byla ihned tažena k magnetické stěně. Začala sebou kroutit a škubat dokud se štítek od ní neoddelil a ona se mohla volně odtáhnout od magnetu. Po tomto zákroku nebyly upozorovány žádné změny v jejím chování a rychle byly obnoveny sběračské aktivity.

Kovové štítky mohou být modifikovány podle požadavků jednotlivých experimentů. Pokud je třeba identifikovat individuální jedince, připojí se ke štítku plastová očíslovaná značka. Jestliže potřebujeme identifikovat skupiny včel, kovový štítek se potře barvami či doplňkovými barevnými tečkami (Gary, 1971).

Magnetická past:

Když se včely vracely zpět do úlu, vstup jim byl zpřístupněn pouze po projití magnetickou pastí. Čtyři magnety ve tvaru podkovy (Obr. 4) byly přilepeny ke skleněnému pásu silikonovým lepidlem. Magnety byly připevněny 9 mm nad podlahou vstupního otvoru do úlu. Zbytek vstupního otvoru byl blokován drátěným pletivem, které dovolovalo potřebnou ventilaci úlu. Vstup do úlu byl tedy vyhrazen pouze otvory, kde se vyskytovaly magnety a zároveň bylo umožněno volné opouštění úlu. Včelám byla tedy zajištěna maximální volnost vstupu do úlu.

Této metody může být využíváno ve studiích disperze a letových okrsků včel, v analýze efektů pesticidů, v populačních studiích, při zjišťování kompenzace druhů a kondice kolonie (Gary, 1971).



Obr. 4: Magnetická past připevněná na úl se skládá se ze čtyř magnetů namontovaných mezi dva čtverce drátěného pletiva. Vracející se dělnice musí projít přes tyto magnety do úlu (Gary, 1971).

5. 3. Barevné kódy

Značení pomocí barevných kódů je velmi jednoduché a není potřeba žádného složitého přístroje a dokonce ani lepidla. Vystačíme si s několika málo barvami. Toto značení se dnes používá nejčastěji ve formě per či akrylových barev. Dříve byly používány též smaltové barvy, barvy pro umělce či tempéry (Walker & Wineriter, 1981).

Jednoduchý barevný kód se vytvoří tak, že jedinec je odchycen a poté barevně označen kombinací barev. Barvy jsou nanášeny včele na hrud' a zadeček, mohou být však nanášeny i na hlavu. Značky jsou tvořeny tak, že jedna barva se nanese na hrud', druhá a třetí na zadeček, a ty se mezi sebou u různých jedinců různě kombinují. Použitím několika málo barev snadno dosáhneme velkého počtu jedinečných značek (Doležalová, 2009). Včely nemusí být opětovně odchyceny, poněvadž barvy jsou dobře rozpoznatelné pouhým okem či dalekohledem na krátkou vzdálenost (Franzén a kol., 2009).

Různé barvy mohou být použity též k označení různých kolonií, tak aby se zaručilo to, že se včely nerozšiřovaly z jedné kolonie do druhé (Arechavaleta-Velasco & Huxt, 2004).

Značení pomocí barev se využívá též hojně na mravencích, kde se barevné značky umisťují na hlavu, předohrud' a zadeček, vždy po jedné značce, jen na zadečku mohou být značky dvě (Pratt, 2005).

5. 3. 1. Čmeláci

Komplikovanější značky (čísla, písmena) mohou být použity pouze na hmyz s velkým povrchem, kde by bylo možno zřetelnou značku vytvořit. Tyto velké a jasné značky mají však nevýhodu v tom, že mohou učinit hmyz vysoce viditelným (Wineriter & Walker, 1984). Úspěšně mohou být použity u čmeláka, který má dostatečně široký thorax. Jeho tělo je však pokryto hustými setami, které by měly být před značením ostříhány či ořezány skalpelem. Poté, co nanesená barva zaschne, je na ni perem napsáno číslo. Čísla mohou být napsána různými barvami. V případě použití barev, které blednou, to však může být problém (Ford, 2009).

5. 3. 2. Samotářské včely

Značení pomocí barevných kódů je hojně využíváno v populačních studiích u samotářských včel. Jednou z možností je zjišťování populační struktury a pohybových vzorců samic na hnízdišti (Franzén a kol., 2009). Každá včela má na hnízdišti své hnízdo a vstupní otvor do něj. Poté, co je označena určitá včela barvou (Obr. 5), je označeno také její hnízdo či hnízda pomocí nabarvených hřebíků či připínáčků (Bischoff, 2003; Doležalová, 2009). Etologická pozorování včel na hnízdišti mohou být dosti náročná. Snahou je odpozorovat vše, co se na hnízdišti děje. Důraz je kladen na letovou aktivitu (frekvence nošení pylu), zakládání nových hnízd a buněk, kontakty mezi samicemi a vzájemné souboje, návštěvy v cizích hnízdech a pokusy o usurpaci cizího hnízda (Doležalová, 2009).

Studie Franzén a kol. (2009) ukazuje, že samotářské včely se mohou vyskytovat v lokálních populacích extrémně malých a vzdálenosti, na kterých se vydávají za potravou, jsou velmi krátké. V poklesu velikosti populace může hrát roli řada faktorů. Jednou z možností je vysoká míra parazitismu v dané kolonii. Pokud vzroste počet parazitů, je dosti pravděpodobné, že populace utrpí na početnosti. Roli samozřejmě hraje i to, že samice kolonizují nová hnízdiště ve velkých vzdálenostech od hnízdiště, kde se vylíhly (Bischoff, 2003). Populační dynamiku kolonií můžeme sledovat několik let po sobě (Bischoff, 2003; Doležalová, 2009).



Obr. 5: Samotářská včela *Anthophora plumipes* označená barevným kódem. (Foto pořízeno autorem práce).

5. 3. 3. Značení matek včel

Jak již bylo zmíněno, včelí matky se označují pěti barvami. Barevný podklad se nanáší na hrud' matky (Obr. 6) jako pojistka, pokud by byla plastová očíslovaná značka ztracena nebo spousta včelařů značí matky pouze barvami, což umožňuje pouze identifikaci stáří a snadnější nalezení matky uvnitř úlu. Barva se nanáší hlavičkou špendlíku vsazeného do dřevěné násadky (Veselý a kol., 2003).



Obr. 6: Označená včelí matka (Corsham S, 2009).

5. 4. Harmonický radar

Pomocí harmonického radaru se dá sledovat a zjišťovat spousta dosud nezjištěných informací ze života hmyzu i to jestli tato metoda do jisté míry může ovlivnit či pozměnit, to jak se hmyz chová (Osbourne a kol., 1999).

Požadované vlastnosti:

Hlavním požadavkem je, aby transpondér (Obr. 7), který je upevněn na těle hmyzu, byl co možná nejmenší a nejlehčí. Ideálně ne více než pár procent váhy celého těla hmyzu (verze

používaná pro čmeláky vážila cca 12 mg (Osborne a kol., 1999) nebo cca 3 mg (Riley a kol., 1996). Přesto ale musí být zařízení dostatečně mechanicky robustní, aby přežilo upevnění na hmyzím těle v terénu a nejrůznější obrušování a ohýbání, které může být vyvoláno čistícími a sběračskými aktivitami hmyzu. Také nesmí zabraňovat mávání křídel či zdržovat přistávání a vzletávání hmyzu. Jeho aerodynamické vlečení při normální letové rychlosti by mělo být malým zlomkem vlečení celého hmyzího těla a nesmí produkovat významné změny v letové výšce hmyzu.

Anténa by měla být dělána z velmi jemného drátku, ale potřeba všesměrnosti v azimutu znamená, že tento drátek musí být zároveň držen co nejbližší svislé pozici. Drátek musí být proto dostatečně tuhý, aby zůstal vertikálně připojený, a zároveň musí být dostatečně pružný, aby vzdoroval permanentním deformacím během upevňování na hmyz v terénu.

Primární funkcí antény je pohltit maximální možné množství síly z radarových přenosů a dopravit tolik, kolik je jen možné, do diody. Delší anténa pohltí více síly než kratší, ale požadavek, že zařízení bude upevněno na hmyzu samozřejmě znamená, co možná největší možnou minimalizaci. Optimální délka bývá cca 16 mm (Riley & Smith, 2002).

Popis funkce zařízení:

Technika vyžaduje, aby byl cílový hmyz označen elektrickým nelineárním zařízením konstruovaným k opětovnému vydávání záření, který může být detekován i proti silným odrazům ze země. Energie, která obsluhuje štítek, je dodávána osvětlovacím radarem, takže nejsou potřeba žádné baterie a je možná extrémní miniaturizace transpondéru (Riley a kol., 1996). Signály z transpondéru jsou selektivně zaznamenávány radarem (Riley & Smith, 2002). Radarové zařízení navržené profesorem Riley a jeho spolupracovníky (1996) přenáší 25 kW pulzy za 0,1 μ s a 3,2 cm vlnové délky z paraboloidu, který má 1,5 m v průměru a přijímá 1,6 cm vlnové délky vracející se za sekundu namontovaným „talířem“. Obě paraboidy rotují v azimutu 20-ti otáček za sekundu. Vyzařované a přijímané paprsky jsou rovné úhlové šíře a přibližně kolineární. Paprsky poskytují pokrytí nad výšku 3 metrů a okrsek okolo 700 m.

Zařízení připevněné přímo na hmyzu (transpondér) obsahuje snímací diodu namontovanou v centru dipolové antény (16 mm) paralelně s induktorem (3 nH). Celá montáž váží přibližně 3 mg, což činí 1,5 % včelího těla. Výpočty indikují, že nárůst vlečení vyvolaný transpondérem je zanedbatelný ve srovnání s tíhou vlastního těla (Riley a kol., 1996).

5. 4. 1. Využití u čmeláků a včel

Způsob značení a sledování jedince je v podstatě stejný pro včely i čmeláky. Více studií bylo však prováděno na čmelácích a proto se budu věnovat jim.

Před skutečným pozorováním a používáním techniky jsou dělány předběžné studie a zjištěn vliv transpondéru na hmyz. V takovém testu je vybráno pár jedinců a jsou sledovány jejich letové schopnosti před označením a po označení. Výsledky často ukazují, že transpondér nemá nepříznivý vliv na sběrové aktivity čmeláků, ale některá hlediska mohou být pozměněna. Například bylo zjištěno, že hmotnost přinášených nákladů nektaru do hnízda může být pozměněna a obvykle je nižší. Rozdíl se dějí řádově v jednotkách až desítkách mg (např. 110 mg, 86 mg a 129 mg, což jsou naměřené hodnoty před použitím transpondéru na třech čmelácích a 84 mg, 99 mg a 120 mg po jeho použití). Je často také ovlivněna doba letu pro pyl a nektar (např. 22.8 ± 5.6 min po použití transpondéru a 12.8 ± 2.5 před jeho použitím). Přesto však jsou čmeláci schopni létat rychlostí až 15,7 m/s i s upevněným transpondérem. V některých případech může dojít k tomu, že čmeláci nebudou s připevněným přístrojem sbírat pyl. Všechny tyto faktory vedou k tomu, že čmeláci stráví daleko více času na svých výletech za potravou pryč z hnízda. Kvůli transpondéru může být totiž zdržen přístup k jistým rostlinám, prodloužen čas pobytu na rostlinách a prodloužena doba sběru pylu a nektaru. Staly se i případy že byl jedinec napíchnut na transpondér (Osbourne a kol., 1999).

Sledování dráhy letu: Radarový přístroj sleduje čmeláky do té doby než přistanou v místě sběru potravy nebo dokud se jejich poloha nedostane pod hranici vnímání radarových vln. Přístroj sleduje pohyb, který je vidět na display přerušovaně, což se děje v důsledku přítomnosti nejrůznějších rušivých elementů, jako jsou např. stromy, živé ploty, vysoké rostliny, jiné pozemní vlnění (Riley a kol., 1996; Osbourne a kol., 1999). Jedinci mohou také létat nad vertikálním pokrytí radaru, které je max. okolo 6-7 m. Čmeláci však většinou létají blízko u zemského povrchu (mezi hranicemi 1-3 m). Zaznamenání, vzdálenosti návratu k hnízdu nemusí být stejné jako zaznamenání vzdálenosti letu pro sběr. A pokud se vrací jedinec v jiné nadmořské výšce, než v jaké se vydal pro sběr (Osbourne a kol., 1999), nemusí být let radarem zaznamenán vůbec.

Sledování vzdálenosti letu: Navzdory některým názorům, že čmeláci sbírají potravu v nejbližším okolí svého hnízdiště bylo sledováno, že létají za potravou přes vzdálenost 200 m a to i v případě, pokud je možný zdroj blíže. Se vzdáleností od hnízda vzrůstá počet dostupných a vhodných míst ke sběru, což by mohlo hrát velkou roli, pokud by byla pro čmeláky kvalita potravy důležitější než její kvantita (Osbourne a kol., 1999).

Směr letu: Přímý směr letu indikuje, že čmeláci na svých cestách nehledají potravu a jejich přímost posunů ukazuje, že létají se znalostí cílového místa (Osbourne a kol., 1999). Pokusy prováděné v práci Osbourne a kol.(1999) ukázaly, že přímost letu a vzdálenost, v po sobě jdoucích dnech, byly velmi konstantní. Což bylo pravděpodobně způsobeno snahou vyhnout se energeticky nákladným a riskantním hledáním jiných míst, kde by našli výhodná místa pro sběr pylu a nektaru. Stálost cest ilustrují jasné rozdíly mezi přepravou k místům a od míst sběru a sběracím letem mezi rostlinami (Osbourne a kol., 1999).

Harmonický radar byl použit též při monitorování kompensace pohybu při větrných poryvech u čmeláka *Bombus terrestris*. V klasických studiích od von Friesch (1967) bylo dosaženo překvapivých výsledků, že včely předpovídají laterální proudy větru a kompensují let malými odchylkami na protivětrnou stranu svých zamýšlených tras. Při těchto testech bylo však spoléháno na vizuální pozorování letových cest. V práci Riley a kol. (1999) byly zjištěny větrné kompensace však mnohem precizněji. Byl použit harmonický radar u individuálních jedinců čmeláků k zaznamenání letové trajektorie na zemědělské půdě při jejich sběru pylu a nektaru. Čmeláci udržovali přímou trajektorii na svých cestách od hnízda k místu sběru dokonce i při silných poryvech větru. Pokusy ukázaly, že se čmeláci neorientují směrem ani rychlostí větru a nemusí tedy měřit jeho rychlost. Pokud jsou větrnými proudy zaneseni o pár metrů jiným směrem, než je jejich zamýšlená trasa, nevrací se zpět na původní trasu, ale pokračují správným směrem k zamýšlenému cíli. Směr trasy kontrolují opticky a pomocí slunečního kompasu. Porovnávají azimut země směrem k Slunci. Proto jim nevadí prudké změny větru (Riley a kol., 1999).

Monitorování radarem umožňuje pochopení prostorového vztahu mezi sběracím okrskem a hnízdišti, což je velmi důležité pro správu divokých a domestikovaných včel jako opylovačů plodin a polních květin. Farmáři pěstující plodiny, které vyžadují včelí a čmeláčí opylování, potřebují uvážit, zda jejich pozemek je vhodný pro populace včel a čmeláků. Měli by znát, zda jsou v něm vhodná nekultivovaná místa, kde by mohli hnízdit. Jestliže farmář zamýšlí přinést kolonii na pozemek na podporu opylování, měl by znát, kde by měla být umístěna, aby čmeláci či včely navštěvovali právě jeho plodiny. Znalosti o vzdálenostech, ve kterých se včely a čmeláci pohybují z jejich kolonie za potravou, by měly pomoci dělat právě takováto rozhodnutí (Osbourne a kol., 1999).



**Obr. 7: Včela vybavená transpondérem pro sledování pomocí harmonického radaru (Anonymus, 2005)
(<http://www.physorg.com/news4107.html>).**

6. Diskuse

Výběr nejlepší techniky pro značení hmyzu je základem úspěchu mnoha výzkumných projektů. Bohužel neexistuje žádná univerzální značící technika pro všechny druhy hmyzu. Každý druh hmyzu je specifický svou velikostí, typem chování a prostředím, ve kterém žije. Výzkumníci by měli pečlivě uvážit použití nejjednodušších a nejefektivnějších značících materiálů pro své studie. Pouze pokud konvenční značící techniky nejsou vhodné, měly by být zvažovány složitější metody, které však budou pravděpodobně dražší a složitější. Největší zřetel by měl být brán na potenciační efekt značící látky na biologii a chování hmyzu. V rozhodování, která značící technika je nejlepší pro daný druh hmyzu by mělo hrát roli také velikost studovaných jedinců, v jaké životní fázi se právě nachází a v jakém habitatu se vyskytuje. Dále musí být zvážena délka trvání studie, efektivnost nákladů a bezpečnost pro životní prostředí. Doporučováno je testování vybrané metody před jejím použitím v dané studii (Hagler & Jackson, 2001).

Nejčastější metody používané u Apoidea jsou komerčně vyráběné štítky a barevné kódy. Značení pomocí barevných kódů je velmi snadné a nevyžaduje již žádné další přípravy či zařízení. Postačíme si s několika málo barvami. Toto značení může být však zdlouhavé a časově náročné (Wineriter & Walker). Řešením je použití fixů, které jsou snadno použitelné a rychleschnoucí. Oproti akrylovým barvám nanášených štětcem, je použití fixů daleko snadnější a schnutí rychlejší. Problémem je spíše někdy odchyt včel, pokud jsou obratnými letci a rychle létají (Doležalová, 2009). Nevýhodou tohoto značení však občas může být nestálost barevných odstínů. Některé barvy mohou časem blednout a dvě různé barvy nemusí být potom od sebe rozeznatelné (Ford, 2009). Záleží však na tom, zda studie probíhá na suchém a stíněném místě, jelikož voda a slunce zde jistě hrají svou roli.

U komerčně vyráběných štítků takovéto riziko blednutí nehrozí, poněvadž štítky jsou potaženy plastem (Pereira & Chajd-Netto, 2008). Pokud však sledujeme rychle létající hmyz, z větší vzdálenosti by číslo nemuselo být čitelné. Obzvláště při použití složitějších štítků by jejich zaznamenání, bez toho aniž bychom hmyz chytli, mohlo být problémem. Štítek je navíc třeba připevnit pomocí podkladové barvy či lepidla. Tyto štítky jsou nevhodnější pro použití značení matek, kdy je konkrétní matka pro plemenný chov označena číslem (Veselý a kol., 2003).

Oba dva typy značení jsou nenáročné a není potřeba žádných složitých zařízení.

Technika harmonického radaru se používá u větších druhů hmyzu, jako jsou motýli, včely a čmeláci. Zajímavé by však bylo vyzkoušet tuto techniku též u rovnokřídlých (Orthoptera) či

vážek (Odonata), kteří jsou také robustním hmyzem schopným nést transpondér (Osborne a kol., 2002). Zdá se, že metoda by byla proveditelná i na další druhy hmyzu, zvláště tehdy, pokud by byly úspěšné pokusy pro zmenšení značky (Riley a kol., 1996).

7. Závěr

Hmyz může být označen pomocí nejrůznějších metod značení a pomocí celé škály značících materiálů. Materiály, které jsou používány by měly být trvanlivé po celou dobu studie. Měly by být lehké a dobře přilnavé k tělu hmyzu, aby mu nikde nepřekážely a nijak ho neomezovaly v běžných aktivitách charakteristických pro daný druh. Samozřejmě nesmí být toxické pro životní prostředí ani pro samotný hmyz.

Mezi úspěšně použité metody na hmyzu patří značení pomocí štítků, značení poškozením, značení pomocí barev a inkoustů, značení pomocí barevných prášků, interní značení, značení pomocí pylu, (genetické značení), značení radioaktivními izotopy, značení stopovými prvky a proteinové značení. Nejnovější technikou sledování hmyzu je pak použití harmonického radaru, kdy je sledován jedinec s připevněným transpondérem k tělu.

Značení pomocí barevných očíslovaných značek se používá především u dělnic a matek včely medonosné a jedná se o komerčně vyráběné disky. Metoda magnetických očíslovaných štítků byla odzkoušena též na včele medonosné. Štítky byly odebírány ze včel u vstupu do úlu, kam byly instalovány silné magnety. Pro studie se samotářskými včelami je typické značení pomocí barevných kódů, které se mohou barvit na hlavu, trup a zadeček včel.

Nejnovější technikou sledování hmyzu je používání harmonického radaru. Hmyz může být sledován na stovky metrů a do výšky přibližně šesti metrů nad zemí. Tato jedinečná technologie umožňuje tvorbu geometricky přesných map letové trajektorie hmyzu.

V dalších letech se budu zabývat etologickým pozorováním samotářských včel rodu *Anthophora plumipes* (Hymenoptera: Apoidea), což je cílem mé diplomové práce. Cílem práce bude sledování hnízdního chování samic, sociálních interakcí mezi nimi a dalších prvků jejich chování a také vytvoření podrobného etogramu charakterizujícího chování studovaného druhu.

8. Seznam použité literatury

Arechavaleta-Velasco ME, Huxt GJ, 2004. Binary trait loci that influence Honey bee (Hymenoptera: Apidae) guarding behavior. *Annals of the Entomological Society of America* 97, 177-183

Berry WL, Stimmann MW, Wolf WW, 1972. Marking of Native Phytophagous Insects with Rubidium: A proposed technique. *Annals of the Entomological Society of America* 65, 236-238

Bischoff I, 2003. Population dynamics of the solitary digger bee *Andrena vaga* Panzer (Hymenoptera, Andrenidae) studied using mark-recapture and nest counts. *Population Ecology* 45, 197-204

Bextine BR, Thorvilson HG, 2002. Monitoring *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae) foraging with peanut oil-baited, UV-reflective *Beauveria bassiana* alginate pellets. *Southwestern Entomologist* 27, 31-36

Coviella CE, Garcia JF, Jeske DR, Redak RA, LuckRF, 2006. The feasibility of tracking within field movements of *Homalodisca coagulata* (Hemiptera: Cicadellidae) and estimating its densities using fluorescent dusts in mark-release-recapture experiments. *Journal of Economic Entomology* 99, 1051-1057

DeGrandi-Hoffman G., Hagler J., 2000. The flow of incoming nectar through a honey bee (*Apis mellifera* L.) colony as revealed by a protein marker. *Insectes Sociaux* 47, 302-306

DeGrandi-Hoffman G, Martin JH, 1995. Does a honey bee (*Apis mellifera*) colony's foraging population on male-fertile sunflowers (*Helianthus annuus*) affect the amount of pollen on nestmates foraging on male-steriles? *Journal of Apicultural Research* 34, 109-14

DeGrandi-Hoffman G, Thorp R, Loper G, Eisikowitch D, 1992. Identification and distribution of cross-pollinating honey bees on almonds. *Journal of Applied Ecology* 29, 238-246

Doležalová K, 2009. Sociální interakce samotářských včel rodu *Anhophora* (Hymenoptera: Apoidea) a další aspekty jejich chování. Diplomová práce. Katedra ekologie. Fakulta životního prostředí. Česká zemědělská univerzita. Praha

Franzén M, Larsson M, Nilsson SG, 2009. Small local population sizes and high habitat patch fidelity in a specialized solitary bee. *Journal of Insect Conservation*. 13, 89-95

Gangwere SK, Chavin W, Evans FC, 1964. Methods of marking insects, with especial reference to Orthoptera (Sens. Lat.). *Annals of the Entomological Society of America* 57, 662-669

Gary NE, 1971. Magnetic retrieval of ferrous labels in capture-recapture system for honey bees and other insects. *Journal of Economic Entomology* 64, 961-965

Goulson D, Stout JC, 2001. Homing ability of the bumblebee *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae). *Apidologie* 32, 105-111

Govret J, Farina WM, 2005. Non random nectar unloading interactions between foragers and their receivers in the honeybee hive. *Naturwissenschaften* 92, 440-443

Graham HM, Mangum GL, 1971. Larval diets containing dyes for tagging pink bollworm moths internally. *Journal of Economic Entomology* 64, 377-379

Gurr, 2004

***Hagler JR, Cohen AC, Bradley-Dunlop D, Enriquez FJ. 1992.** New approach to mark insects for feeding and dispersal studies. *Environmental Entomology* 21, 20-25

Hagler JR, Jackson ChG, 2001. Methods for marking insects: Current techniques and future prospects. *Annual Review of Entomology* 46, 511-543

Hagler JR, Miller E, 2002. An alternative to conventional insect marking procedures: detection of a protein mark on pink bollworm by ELISA. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 103, 1-9

***Hendrix WH III, Mueller TF, Philips JR, Davis OK, 1987.** Pollen as an indicator of long-distance movement of *Heliothis zea* (Lepidoptera: Noctuidae). *Environmental Entomologist* 16, 1148-1151

Hamann HJ, Iwannek KH, 2004. Labelling of the tsetse fly *Glossina palpalis palpalis* by activable elements. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 25, 98-106

Hougardy E, Pernet P, Warnau M, Delisle J, Grégoire J-C, 2003. Marking bark beetle parasitoids within the host plant with rubidium for dispersal studies. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 108, 1-8

Lavandero BI, Wratten SD, Hagler J, Tylianakis J, 2004. Marking and tracking techniques for insect predators and parasitoids in ecological engineering. In *Ecological engineering for pest management*, 119-133. In: Gurr GM, Wratten SD, Altieri MA (eds.), *Ecological engineering for pest management*, CSIRO Publishing, Australia, 244pp

Manzato A. J., Tadei W. J., 2004. Marking with pigments for identification of flies in experimental populations of *Megaselia scalaris* Loew. *Brazilian Journal of Biology* 64, 251-256

Nakata T, 2008. Effectiveness of micronized fluorescent powder for marking citrus psyllid, *Diaphorina citri*. *Applied Entomology and Zoology* 43, 33-36

Osborne JL, Clark SJ, Morfia RJ, Williams IH, Riley JR, Smith AD, Reynolds DR, Edwards AS, 1999. A landscape-scale study of bumblebee foraging range and constancy, using harmonic radar. *Journal of Applied Ecology* 36, 519-533

Osborne JL, Loxdale HD, Woiwod IP, 2002. Monitoring insect dispersal: methods and approaches, 24-49. In: Bullock JM, Kenward RE, Hails RS (eds.), *Dispersal ecology*. Cambridge University Press, Cambridge, 475pp

Pereira AM, Chaud-Netto J, 2008. Hymenoptera marking technique. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* 14, 166-169

Piper RW, 2003. A novel technique for the individual marking of smaller insects. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 106, 155-157

Prasifka JR, Heinz KM, Saxsoxe CG, 2001. Field trstiny rubidium marking for quantifying intercrop movement of predatory arthropods. *Environmental Entomology* 30, 711-719

Reid TG, Reid ML, 2008. Fluorescent powder marking reduced condition but not survivorship in adult mountain pine beetles. *Canadian Entomologist* 140, 582-588

***Reynolds DR, Riley JR, Arbes NJ, Cooter JR, Tucker MR, Colvin J, 1997.** Techniques for quqntifying insect migration, 111-145. In: Dent DR, Walton MP, *Methods in ecological and Agricultural Entomology*, CAB international, UK, 387pp

Ribbands, C. R., 1950. Changes in the behaviour of honey-bees following their recovery from anaesthesia. *Journal of Experimental Biology* 27, 302-310

Riley JR, Osborne JL, 2001. Flight trajectrories of foraging insects: Observations using harmonic radar, 129-157. In: Woivod IP, Reynold DR, Thomas CD (eds.), *Insect movement: mechanism and consequences*, CABI publishing, London, 458pp

Riley JR, Reynolds DR, Smith AD, Edwards AS, Osborne JL, Williams IH, McCartney HA, 1999. Compensation for wind drift by bumble-bees. *Nature* 400, 126

Riley JR, Smith AD, 2002. Design consideration for an harmonic radar to investigate the flight of insects at low altitude. *Computers and Electronics in Agriculture* 35, 151-169

Riley JR, Smith, AD, Reynolds DR, Edwards AS, Osborne JL, Williams IH, Carreck NL, Poppy GM, 1996. Tracking bees with harmonic radar. *Nature* 379, 29-30

Rubink WL, 1988. A photographic technique for producing high-quality insect tags for mark/release/recapture studies. *Entomological News* 99, 167-171

Skovgaard H, 2002. Dispersal of of the filth fly parasitoid *Spalangia cameroni* (Hymenoptera: Pteromalidae) in a swine facility using fluorescent dust marking and sentinel pupal bags. *Environmental Entomology* 31, 425-431

Steffan SA, Daane KM, Mahr DL, 2001. 15N-enrichment of plant tissue to mark phytophagous insects, associated parasitoids, and flower-visiting entomophaga. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 98, 173-180

Stern VM, Mueller A, 1968. Techniques of marking insects with micronized fluorescent dust with especial emphasis on marking millions of *Lygus hesperus* for dispersal studies. *Journal of Economic Entomology* 61, 1232-1237

Southwood TRE, Henderson PA, 2000. Absolute population estimates using capture-recapture experiments. 73-140, In: Southwood TRE, Henderson PA (eds.), *Ecological methods*, Blackwell Science, Oxford. 575pp.

Su NY, Ban PM, 1991. Evaluation of twelve dye markers for population studies of the eastern and formosan subterranean termite (Isoptera: Rhinotermitidae). *Sociobiology* 19, 349-362

Taft HM, Agrease HR, 1962. Marking and recovery method for use in boll weevil movement studies. *Journal of Economic Entomology* 55, 1018-1019

Tschinkel WR, 2006. Ant ID system, 269-271. In: Tschinkel WR (ed.), *The fire ants*, Harvard University Press, 723

Veselý V, Bacílek J, Čermák K, Drobníková V, Haragsim O, Kamer F, Krieg P, Kubišová S, Peroutka M, Ptáček V, Škrobal D, Titěra D, 2003. *Včelařství*. Brázda, Praha, 272

Vilarinho EC, Fernandes OA, Omoto C, Hunt TE, 2006. Oil-soluble dyes for marking *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology* 99, 2110-2115

***von Frisch K, 1967.** *The dance language and orientation of bees*. Belknap Press of Harvard University Press, London, 566pp

Walker TJ, Wineriter SA, 1981. Marking techniques for recognizing individual insects. *The Florida Entomologist* 64, 18-29

Wanner H, Gu H, Hattendorf B, Gunther D, Dorn S, 2006. Using the stable isotope marker ⁴⁴Ca to study dispersal and host-foraging activity in parasitoids. *Journal of Applied Ecology* 43, 1031-1039

Wilkins EE, Smith SC, Roberts JM, Benedikt M, 2007. Rubidium marking of Anopheles mosquitoes detectable by field-capable X-ray spectrometry. *Medical and Veterinary Entomology* 21, 196-203

Wineriter SA, Walker TJ, 1984. Insect marking techniques: Durability of materials. *Entomological News* 95, 117-123

Xin CZ, Wu KM, Guo YY, 2007. Oil-soluble dyes i larval diet used for marking *Helicoverpa armigera*.. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 126, 256-260

Internetové zdroje:

Cushman DA, 2007. Beekeeping and bee breeding, <http://www.dave-cushman.net/bee/newhome.html> (přístup 10. 7. 2009).

Ford, J, 2009. Marking and measuring bumblebee, <http://www.bumblebee.org/markings.htm> (přístup 10. 7. 2009).

Pratt S, 2005. Department of Ekology and Evolutionary Biology. Individually marked ants <http://www.princeton.edu/artofscience/gallery/view.php%3Fid=48.html> (přístup 10. 7. 2009).

Tew JE, 2000. Honey bee queen management techniques, <http://ohioline.osu.edu/hyg-fact/2000/2162.html> (přístup 10. 7. 2009).

Obrázky převzaty:

Anonymus, 2009. Queen bee marking, <http://www.flickr.com/photos/kitreno/3546912900> (přístup 10. 7. 2009).

Anonymus, 2005. Bees equipped with radar solve waggle dance controversy, <http://www.physorg.com/news4107.html> (přístup 10. 7. 2009).

Corsham S, 2009. Diary of novice bee keeper, <http://novice-beekeeper.blogspot.com/search?q=diary+of+novice> (přístup 10. 7. 2009).

Cushman DA, 2007. Beekeeping and bee breeding, <http://www.dave-cushman.net/bee/newhome.html> (přístup 10. 7. 2009).

Gary NE, 1971. Magnetic retrieval of ferrous labels in capture-recapture system for honey bees and other insects. *Journal of Economic Entomology* 64, 961-965

Walker TJ, Wineriter SA, 1981. Marking techniques for recognizing individual insects. *The Florida Entomologist* 64, 18-29

Vysvětlivky: * znamená sekundární citace