

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Parazitologie



**Bc. Tereza Vacková**

**Vliv abiotických faktorů na prachové roztoky *Dermatophagoides farinae***  
**The effect of abiotic factors on house dust mites *Dermatophagoides farinae***

Diplomová práce

Školitel: doc. Mgr. Jan Hubert, Ph.D.

Praha, 2022

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla použita k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 26. dubna 2022

Podpis

## **Poděkování**

Chtěla bych moc poděkovat mému školiteli panu doc. Mgr. Janu Hubertovi, Ph.D., za všechny užitečné rady, laskavý přístup, trpělivost a ochotu při vedení mé práce. Dále pak panu doc. RNDr. Janu Votýpkovi, Ph.D., za podnětné připomínky a povzbudivé emaily, v nichž trpělivě zodpověděl každý z mých četných dotazů. Paní Ing. Martě Nesvorné za její vlídnost, humor a nadhled, s nimiž snášela „katastrofy mých laboratorních začátků“. Martinu Markovičovi za pomoc se sháněním některých hůře dostupných článků. A také mé rodině za všechnu její podporu.

Tato práce byla financována z projektů Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy (č. LTAUSA19012) a Grantové agentury České republiky (č.19-09998S).

## Abstrakt

Prachoví roztoči patří k významným alergenním činitelům vyskytujícím se v domácnostech po celém světě. Život těchto roztočů je značně ovlivněn hygrotermálními faktory – zejména teplotou a vlhkostí. V této práci byl studován vliv teploty a vlhkosti na chování roztočů druhu *Dermatophagoides farinae* v rámci teplotního gradientu (simulujícího příčný řez matrací), na jejich metabolismus (reprezentovaný mírou respirace) a populační růst. V rámci teplotního gradientu v rozmezí 19 až 41 °C přijímali roztoči nejčastěji potravu v sektoru s rozpětím teploty 32–36 °C. Tento sektor u nich byl nejvíce preferován nejen v experimentu s 24 h zapnutým teplotním gradientem, ale i v případě pětidenního experimentu se střídajícím se teplotním gradientem (8 h/denně; představujícím období spánku) a pokojovou teplotu (16 h/denně). Největší množství potravy nepřijímajících roztočů bylo v obou variantách experimentu nacházeno v rámci teplotního gradientu v sektor s teplotním rozpětím 19–23 °C. Při měření respirace vykazovali roztoči tohoto druhu značnou produkci CO<sub>2</sub>, pokud byli inkubováni v teplotách 25–30 °C. Ze studovaných kombinací teplot a relativních vlhkostí (RH) u nich byla naměřena vůbec nejvyšší respirace při inkubaci ve 25 °C a 65% RH. V dalším experimentu byl ze 20 studovaných kombinací teplot a vlhkostí patrný nejvyšší a zároveň stabilní populačního růstu u roztočů chovaných při 25 °C a 85% RH. Výsledky této práce lze interpretovat tak, že během spánku člověka se potravu přijímající prachoví roztoči v rámci matrace přednostně vyskytují v relativní blízkosti jejího povrchu, který je zahříván až k hodnotám blízkým 32–36 °C. Roztoči, kteří aktuálně potravu nepřijímají, naopak migrují do hlubších vrstev matrace. Tam se mohou setkávat s teplotami 20–25 °C zároveň kombinovanými s vyššími relativními vlhkostmi (kolem 65–75 %), které v této práci vyšly jako optimální pro jejich vývoj, reprodukci a populační růst.

### Klíčová slova:

*Dermatophagoides farinae*, roztoči, růst, teplota, vlhkost, respirace, preference

## **Abstract**

House dust mites are one of the most important allergenic agents found in households worldwide. The biology of these mites is significantly affected by hygrothermal factors – especially by temperature and humidity. The study is focused on the influence of temperature and humidity to the behavior of *Dermatophagoides farinae* within a thermal gradient (simulating a vertical section of a mattress), on its metabolism (represented by respiration rate) and population growth. Within a constant thermal gradient (19-41 °C) run for 24 h *D. farinae* mites most often received food in the sector with a temperature range of 32-36 °C. In experiment with 5 days of alternating cycles of the same gradient (8 h / day) and room temperature (16 h / day) was the sector with a temperature range of 32-36 °C for mite's feeding also the most preferred. In contrast, in both variants of the experiment, non-feeding mites preferred the sector with a temperature range of 19-23 °C (or rather, the largest number of them were found in this sector during the evaluation). During the measurement of respiration, mites of this species showed significant CO<sub>2</sub> production when were incubated at temperatures of 25- 30 °C. Out of the studied combinations of temperature and humidity, the highest respiration was measured when mites were incubated at 25 °C and 65% RH. In another experiment (out of 20 studied combinations of temperature and humidity), the highest and stable population growth was observed when mites were reared at 25 °C and 85% RH. All the results of this study suggest that within the mattress, food-receiving mites may preferentially occur in relative proximity to its surface. The top layers of mattress are heated by the temperature of the human body (up to values close to 32-36 °C) when the bed is regularly occupied during the night. On the other hand mites that are not currently feeding could migrate to the deeper layers of the mattress, where they may stay in lower temperatures (20-25 °C) and higher humidities (aprox.65-75 %) which are – according to the results of this thesis – optimal for their development, reproduction and population growth.

## **Key words**

*Dermatophagoides farinae*, mites, growth, temperature, humidity, respiration, preference

# Obsah

<b>1. Úvod</b> .....	1
<b>2. Společný přehled literatury</b> .....	2
2.1. Taxonomie, hypotéza reverzního parazitismu a napojení prachových roztočů na svého „hostitele“ .....	2
2.2. Prachoví roztoči a habitat matrace.....	4
2.3. Vliv teploty a vlhkosti na rozmnožování, vývoj a populační růst druhu <i>D. farinae</i> .....	6
2.3.1. Vývoj, rozmnožování a populační dynamika druhu <i>D. farinae</i> .....	6
2.3.2. Hygrotermální podmínky optimální pro vývoj a rozmnožování druhu <i>D. farinae</i> .....	7
2.3.3. Hygrotermální podmínky limitující život druhu <i>D. farinae</i> .....	8
2.4. Vliv teploty a vlhkosti na metabolismus, respiraci a produkci alergenů u druhu <i>D. farinae</i> .....	9
<b>3. Experiment I. - Preference roztočů <i>D. farinae</i> v rámci teplotního gradientu</b> .....	11
3.1. Experiment I. - <b>Materiály a metodika</b> .....	11
3.1.1. Roztoči.....	11
3.1.2. Dieta a barviva.....	12
3.1.3. Aparatura topné lavice s teplotním gradientem.....	12
3.1.4. Design experimentů .....	15
3.1.4.1. Kontrolní měření – chování roztočů v konstantní pokojové teplotě (bez gradientu).....	15
3.1.4.2. Měření tepelných preferencí roztočů v rámci konstantního gradientu.....	15
3.1.4.3. Měření tepelných preferencí roztočů v rámci střídání cyklů teplotního gradientu a pokojové teploty .....	15
3.1.5. Stanovení počtu roztočů.....	16
3.1.6. Analýza dat.....	17
3.2. Experiment I. - <b>Výsledky</b> .....	17
<b>4. Experiment II. - Vliv teploty a vlhkosti na metabolismus <i>D. farinae</i></b> .....	21
4.1. Experiment II. - <b>Materiály a metodika</b> .....	21
4.1.1. Roztoči .....	21
4.1.2. Aparatura respirometru.....	21
4.1.3. Experimentální design.....	22
4.1.4. Příprava vzorků.....	23
4.1.5. Měření respirací .....	25
4.1.6. Analýza dat.....	26
4.2. Experiment II. - <b>Výsledky</b> .....	26
<b>5. Experiment III. - Vliv teploty a vlhkosti na populační růst <i>D. farinae</i></b> .....	28
5.1. Experiment III. - <b>Materiály a metodika</b> .....	28
5.1.1. Roztoči.....	28
5.1.2. Předpokusy – hledání vhodného experimentálního designu.....	28
5.1.3. Experimentální design.....	29
5.1.4. Odběry vzorků a stanovení počtu roztočů.....	30
5.1.5. Analýza dat .....	32
5.2. Experiment III. - <b>Výsledky</b> .....	32
<b>6. Společná diskuse</b> .....	37
6.1. Experiment I. - Preference roztočů <i>D. farinae</i> v rámci teplotního gradientu .....	37
6.2. Experiment II. - Vliv teploty a vlhkosti na metabolismus <i>D. farinae</i> .....	40
6.3. Experiment III. - Vliv teploty a vlhkosti na populační růst <i>D. farinae</i> .....	44
<b>7. Závěr</b> .....	48
<b>8. Seznam použité literatury</b> .....	49

# 1. Úvod

Mezi nejčastěji se vyskytující druhy prachových roztočů patří *Dermatophagoides pteronyssinus* (Trouessart, 1898) (česky: prachovka prachová) a *Dermatophagoides farinae* Hughes, 1961 (česky: prachovka americká). Ty tvoří ohledně svého zastoupení 80-90 % z celkové akarofauny tohoto habitatu (Rodríguez a kol., 2021). V některých lokalitách mohou být též poměrně četné druhy *Euroglyphus maynei* (Cooreman, 1950) (Arlian, 1992) či *Blomia tropicalis* Bronswijk, Cock a Oshima 1973 (Fernández-Caldas a Lockety, 2004; Thomas, 2010).

Prachoví roztoči se vyskytují kosmopolitně a zvláště hojně bývají v oblastech s humidním klimatem (Thomas, 2010). Ačkoliv se živí jako komezálkové, jejich výskyt může mít negativní dopad na lidské zdraví. Jedná se totiž o producenty skoro 40 biochemicky odlišných typů alergenů, u nichž se odhaduje, že způsobují zdravotní komplikace u 65–130 milionů lidí po celém světě (van Bronswijk a kol., 1971; Calderón a kol., 2015; WHO/IUIS 2021). Zejména v souvislosti s produkcí alergenů bývá též biologie těchto roztočů poměrně hojně studována.

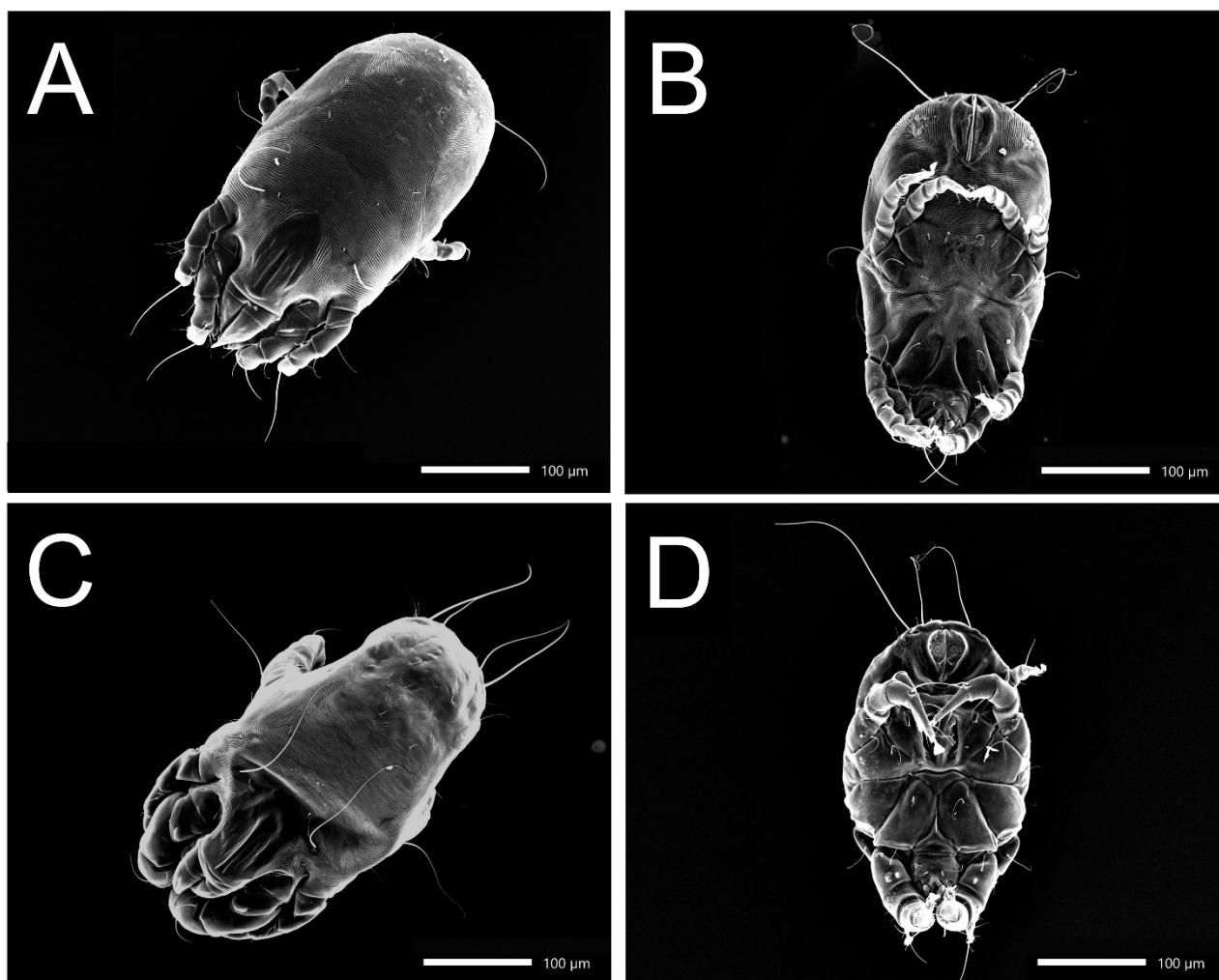
Život prachových roztočů je značně ovlivněn abiotickými faktory – zvláště pak vlhkostí a teplotou. Společné působení těchto faktorů má významný vliv na jejich schopnost přežít v habitatu domácího prachu, fekunditu, populační růst a – s tím i související – produkci alergenů (Arlian, 1992; Arlian a kol., 1999a; Crowther s kol., 2000; Colloff, 2009). Znalostí ohledně letálního působení hygrotermálních faktorů na prachové roztoče může být využito v rámci metod prevence výskytu a redukce jejich počtů v lidských příbytcích. Velkou výhodou metod eradikace založených na působení teploty a vlhkosti je relativně snadná aplikace a nenákladnost. Pro jejich efektivní využití je však třeba mít ucelené znalosti ohledně toho, v jakých podmínkách tyto roztoči žijí, jak na vliv různých kombinací/intenzit teplot a vlhkostí reagují, jaká jsou jejich optima, tolerance a limity... Ačkoliv se v minulosti touto problematikou zabývalo poměrně velké množství studií, některé otázky ohledně vlivu teploty a vlhkosti na biologii prachových roztočů zůstávají do dnešních dnů stále neobjasněny. Což je škoda, neboť se jedná o poznatky nejen potenciálně velmi užitečné, ale také zajímavé.

Cíly této diplomové práce bylo určit vliv různých kombinací vlhkostí a teplot na 3 různé aspekty biologie modelového druhu prachového roztoče *Dermatophagoides farinae*: 1) zjistit jejich preference v rámci teplotního gradientu – dle naměřených dat se pokusit stanovit, v které vrstvě matrace se přednostně zdržují a zda v rámci jednotlivých vrstev v průběhu času migrují; 2) stanovit vliv různých kombinací těchto faktorů na jejich metabolismus (za využití měření jejich respirace); 3) určit, jak ovlivňují různé kombinace teplot a vlhkostí populační růst těchto roztočů (a zda za daných podmínek může vůbec probíhat).

## 2. Přehled literatury

### 2.1. Taxonomie, hypotéza reverzního parazitismu a napojení prachových roztočů na svého „hostitele“

Prachoví roztoči druhu *Dermatophagoides farinae* (Obrázek 1) patří do čeledi Pyroglyphidae (prachovkovití), řádu Astigmata, nadřádu Acariformes, podtřídy Acari (roztoči), třídy Arachnida (pavoukovci), podkmene Chelicerata (klepítkatci), kmene Arthropoda (členovci), říše Opisthokonta a domény Eukaryota (UniProt, 2021).



**Obrázek 1** – Snímek prachových roztočů druhu *D. farinae* ze skenovacího elektronového mikroskopu. A – samice, pohled z dorzální strany; B – samice, pohled z ventrální strany; C – samec, pohled z dorzální strany; D – samec, pohled z ventrální strany. Foceno: Vacková (2022).

Jak ukázaly analýzy morfologických a molekulárních znaků, komezální čeleď Pyroglyphidae se rámci fylogenetického stromu astigmatních roztočů nachází v monofyletické linii Psoroptida. V linii, v níž jsou všechny ostatní čeledi roztočů obligátně parazitické (mezi příbuzné prachových roztočů patří například rody *Sarcoptes* či *Psoroptes* (Klimov a OConnor, 2013; Mounsey a kol., 2012)). Právě toto zjištění vedlo autory oné analýzy, Pavla Klimova a Barryho OConnora, k formulaci hypotézy, že prachoví roztoči museli mít se svými parazitickými příbuznými společného předka a v průběhu své evoluce přešli od parazitického k volnému (komezálnímu) způsobu života. To jest: došlo u nich k tzv. reverznímu parazitismu (Klimov a OConnor, 2013).

Pro parazitické roztoče je typická, že žijí (alespoň po část svého vývojového cyklu) v těsné blízkosti svého hostitele, jehož tělo jim slouží coby zdroj potravy, vody a tepla nutného pro přežívání, rozmnožování či vývoj. Životní styl prachových roztočů tento trend do jisté míry také potvrzuje: v rámci lidských domácností je nacházíme nejčastěji v textiliích – matracích postelí, čalouněném nábytku, kobercích a celkově všude tam, kde se často vyskytují lidé či jejich domácí mazlíčci coby zdroj kožního opadu (Spieksma, 1967; Arlian, 1975a; de Boer a Kuller, 1997).

Mezi hlavní složky potravy prachových roztočů pak patří různé organické zbytky (šupinky kůže, kousky vlasů či nehtů, zaschlé tělesné sekrety...) v těchto textiliích ulpělé (Spieksma, 1967; Colloff, 2009). Dle odhadů Spieksmy (1967): „vystačí 150 mg živného média pro několika tisícovou populaci roztočů coby zdroj potravy na měsíce“. Tělo jednoho člověka přitom vyprodukuje zhruba 0,5–1,0 g „opadu“, za jediný den, což dokládá, že prachoví roztoči by mohli žít v poměrné hojnosti potravy nehledě na skutečnost, že lidé se nezdržují v těsné blízkosti jejich textilních habitatů po celý den (Spieksma, 1967). Dalším zdrojem živin mohou být pro roztoče také hyfy mikroskopických hub (například druhu *Alternaria alternata* či *Wallemia sebi*), z nichž některé dovedou kožní zbytky dokonce i rozkládat a pro roztoče je tak činit lépe stravitelnými (van Asselt, 1999; Naegele a kol., 2013).

Prostředí domácího prachu je samo o sobě poměrně nehostinné, chladné a suché (Spieksma, 1967; Colloff, 2009). Prachoví roztoči se s problémem nedostatku vody v tomto habitatu dovedou vyrovnávat díky různým fyziologickým a behaviorálním preadaptacím (Blythe, 1976; Arlian, 1992; Colloff, 2009). Přes všechny tyto „mechanismy“ je však pro ně nezbytný aspoň občasný blízký kontakt s člověkem coby donorem vlhkosti (de Boer a Kuller, 1997).

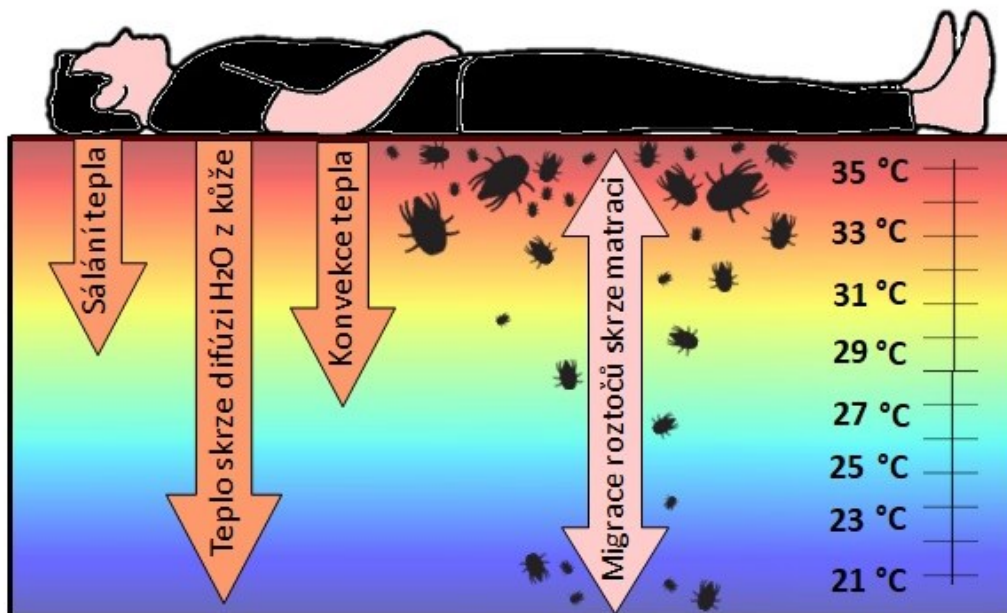
Mimo vlhkosti je pro roztoče lidské tělo také významným zdrojem tepla (Colloff, 1998). Tím, že jsou členovci organismy ektotermními, jejich metabolismus je na jeho externích zdrojích přímo závislý (Schowalter, 2006). Jejich životní děje se při nedostatku tepla zpomalují či přímo ustávají – viz dále. Kdyby člověk či jeho doma chovaná zvířata svou (aspoň občasnou) přítomností nezajišťovali prachovým roztočům tyto pro život nezbytné podmínky, nemohli by ve svém přirozeném habitatu pravděpodobně přežít stejně tak jako roztoči parazitičtí bez svých hostitelů.

## 2.2. Prachoví roztoči a habitat matrace

Mimo čalouněného nábytku (mezi něž se dají řadit mimo jiné také například dětské autosedačky, sedačky v kině či hromadné dopravě (Arlian a kol., 2002)), koberců, závěsů, ložního prádla a plyšových hraček je výskyt prachových roztočů asi nejtypičtěji spojován s habitatem matrace (de Boer a Kuller, 1997; van Bronswijk, 1973; Colloff, 2009). Vzhledem k výše popsaným zákonitostem je pro roztoče výběr této lokality vcelku nasnadě. Lidé navštěvují svá lůžka opakovaně každý den, tráví zde poměrně dost času a svou přítomností tak roztočům poskytují takřka neomezený zdroj tepla, vlhkosti a potravy.

V době, kdy je člověk v posteli přítomen, bývá jeho pohyb omezen a téměř veškerá energie uvolněná oxidačním procesem se přeměňuje na teplo (Crowther a kol., 2000). Vlivem sálání, konvekce tepla z lidského těla a ztráty tepla skrze vodu difundující kůží se v jednotlivých vertikálních vrstvách matrace vytváří teplotní gradient. Roztoči v rámci tohoto gradientu migrují a zdržují se přednostně v místech, která nejlépe vyhovují jejich hygrotermálním preferencím – viz Obrázek 2 (Crowther a kol., 2000; Crowther a kol., 2001).

Po obsazení postele člověkem se její matrace skrze tělesné teplo postupně zahřívá. A vlivem odparu vody z těla, jeho pocení a produkce sekretů zde též stoupá vlhkost (Cunningham, 1998; de Boer a Kuller, 1997; Pretlove a kol., 2001). Poté, co je postel ráno člověkem opuštěna, hodnoty obou těchto faktorů se zejména ve svrchních vrstvách matrace opět vyrovnávají těm v jejím okolí (Crowther a kol., 2001). Tyto drobné „cirkadiální“ výkyvy teploty a vlhkosti ve vnitřním prostředí matrace jsou však jen zanedbatelné oproti jejich kolísání ve vnějším prostředí místnosti (de Boer a van der Geest, 1990).



**Obrázek 2** – Grafické znázornění teplotního gradientu uvnitř matrace, skrze nějž prachoví roztoči migrují. Zdrojem gradientu je teplo generované lidským tělem. Vytvořeno dle Crowther a kol. (2000).

Povrch matrací je – stejně tak jako povrch ostatních pevných těles – obklopen cca 1 mm silnou vrstvičkou vzduchu, která se v biologické terminologii nazývá mezní vrstvou. Tato vrstva se vyznačuje specifickými hygroskopickými vlastnostmi, díky nimž má vzduch uvnitř ní vyšší vlhkost než ten ve zbytku místnosti. Povrch matrací je navíc pórovitý a při zahřátí teplejší než okolní vzduch, čímž dochází k odparu vodní páry a jejímu zachycení právě v této mezní vrstvě. Díky tomu je mikroklima uvnitř matrace pro prachové roztoče příznivější než například to v kobercích a – ve srovnání s volným prostorem místnosti – i mnohem stabilnější (Colloff, 1998; de Boer a van der Geest, 1990; Schroer a kol., 2008). Pokud je dům v zimě vytápěn a relativní vlhkost vzduchu uvnitř dlouhodobě klesá pod pro roztoče přijatelnou hodnotu, matrace jsou často jediným místem (refugiem), kde jsou celoročně přítomni přeživší roztoči (de Boer a Kuller, 1997).

V minulosti byla provedena řada studií zaměřených na stanovení množství prachových roztočů v různých vrstvách matrací (např. de Boer, 1990; de Boer a van der Geest, 1990; de Oliveira a kol., 2003; da Silva a kol., 2005), či měření teploty a vlhkosti v různých částech obsazených/neobsazených postelí v průběhu dne (Koeckkoek a van Bronswijk, 1972; de Boer a Kuller, 1997; Cunningham, 1998; Crowther a kol., 2001). Ačkoliv by se metaanalýzou jejich výsledků daly jistě zákonitosti ohledně vlivu teploty a vlhkosti na chování roztočů v tomto habitatu vyvozovat, stále se jedná o fenomén dosud jen velmi málo prozkoumaný.

## 2.3. Vliv teploty a vlhkosti na rozmnožování, vývoj a populační růst druhu *D. farinae*

### 2.3.1. Vývoj, rozmnožování a populační dynamika druhu *D. farinae*

Vývojový cyklus roztočů rodu *Dermatophagoides* zahrnuje šest vývojových stádií: vajíčko, prelarvu, larvu, protonymfu, tritonymfu a dospělého jedince (Colloff, 2009). V rámci přeměny z jednoho stádia na druhé se u larvy a nymfálních stádií střídají období aktivity (pohybu a příjmu potravy) s fázemi tzv. farátu – tj. s obdobím klidu, bez pohybu a příjmu potravy (Arlan a Dippold, 1996). V případě, že jsou roztoči druhu *D. farinae* v průběhu svého vývoje vystaveni nepříznivým podmínkám (typicky např. právě suboptimálním teplotám a vlhkostem), dovedou tato klidová období u stádia protonymfy či tritonymfy „uměle“ prodloužit. V tomto stavu se pak stávají rezistentnějšími vůči desikaci obdobně jako hypopy jiných čeledí roztočů (Matsumoto a kol., 1986; Colloff, 2009).

Samci druhu *D. farinae* jsou po dosažení pohlavní zralosti fertilní až do konce života a schopni kopulovat s vícero samicemi (van Bronswijk a kol., 1971). Je pro ně typické, že si zvolí jednu samičí tritonymfu v klidové fázi, v jejíž blízkosti se zdržují, brání ji před ostatními samci a s níž se bezprostředně po její přeměně v dospělce páří (Colloff, 2009). Dospělé samice jsou schopny reprodukce pouze po časově omezené období (načež dožívají jako infertilní). Množství za život vyprodukovaných vajíček jsou však schopny navýšit tím, že se se samci páří opakovaně (Alexander a kol., 2002).

Populační dynamika prachových roztočů bývá ovlivněna mnoha faktory. Za základní hybatele jejich změn lze považovat příbytek jedinců v důsledku natality či imigrace, nebo naopak – jejich úbytek způsobený mortalitou, případně emigrací (Colloff, 2009). U prachových roztočů bylo pozorováno, že se mohou přesouvat mezi jednotlivými stanovišti v rámci domácnosti a za jistých okolností se dokonce i pasivně šířit (na oblečení lidí) mimo svou „domovskou“ budovu. Obecně se u nich však efekt migrace nezdá být z hlediska populační dynamiky tolik významným (Mollet a Robinson, 1996; Colloff, 2009; Mailleux a kol., 2011). Rozhodující je spíše natalita, mortalita a jevy s nimi související (např. trvání vývojového cyklu, reprodukční chování, maximální množství vyprodukovaných vajíček, délka ovipozice samic či celkové dožívání dospělců).

U volně žijících populací prachových roztočů dochází na severní polokouli v létě a na podzim k rychlému populačnímu nárůstu, po kterém následuje na konci podzimu/v zimě strmý pokles. Další pozvolné zvyšování jejich počtů nastává pak opět na přelomu jara a léta (Colloff, 2009). Všechny tyto sezónní změny lze přičítat zejména hygrotermálním podmínkám – konkrétně

změnám teploty a vlhkosti v důsledku začátku/konce topné sezóny v kombinaci s častějším/méně častým větráním v budovách (Blythe, 1976; Arlian a kol., 1978). Zajímavé je, že jistým sezonním výkyvům – např. menšímu nárůstu během zimy – podléhají ve své populační dynamice i laboratorní kolonie těchto roztočů chované v konstantních podmínkách (jak uvádí Ing. Nesvorná na základě své praxe s laboratorním chovem roztočů ve VÚRV).

Eraso a kol. (1998) popisují, že v rámci dynamiky laboratorně chovaných populací těchto roztočů dochází postupně k několika fázím. V první z nich počet jedinců nejdříve narůstá pozvolna, načež se následně v druhé fázi tento nárůst zrychluje. Po dosažení maximální nosné kapacity zůstává množství roztočů po jistou dobu konstantní (na své maximální hodnotě), poté začne klesat a populace postupně vymírá. Prodloužení životnosti kolonie lze dosáhnout přidáním substrátu (prostoru) a potravy v době její růstové či konstantní fáze (Wilkinson a kol., 2002).

### 2.3.2. Hygrotermální podmínky optimální pro vývoj a rozmnožování druhu *D. farinae*

Jako optimální lze nazvat takové podmínky, při nichž je organismus zatížen co nejmenším stresem, dokáže nejlépe prospívat a maximalizovat svůj reprodukční potenciál (Fields, 1992). Obecně bývá uváděno, že z hlediska působení faktorů teploty a vlhkosti se roztočům druhu *D. farinae* nejlépe daří při 22–25 °C v kombinaci s 70–85% vlhkostí (Farouk a kol., 1983; Colloff, 2009; Rezk, 2016). Za těchto podmínek jsou schopni dosahovat nejvyšší reprodukce a zároveň nejdélejší doby dožívání. Čehož bývá využíváno i v laboratořích zabývajících se výzkumem těchto roztočů (Erban a Hubert, 2008; Colloff, 2009).

V tabulce 1 je popsán rozdílný vliv vybraných „optimálních“ a „suboptimálních“ kombinací teploty a vlhkosti na některé jevy související s rozmnožováním a vývojem druhu *D. farinae*. Z uvedených dat je patrné, že, samice druhu *D. farinae* by mohly vykazovat nejdélejší dožívání při teplotě 20–22 °C a 75% vlhkosti s tím, že za těchto podmínek mají též potenciál vyprodukovat největší množství vajíček (Alexander a kol., 2002). Při 25 °C v kombinaci s 75–76% RH se u těchto samic vyskytovala (dle porovnávaných dat) také nejdéle trvající ovipozice (Matsumoto a kol.; 1986). Ačkoliv probíhal vývojový cyklus samic *D. farinae* nejrychleji při teplotě 30 °C (a 80% RH) – v porovnání s teplotami v rozmezí 20–25 °C (při 75–86% RH) - u nich byla za těchto podmínek kratší doba průměrného dožití a menší snůška vajíček. Coby optimální pro jejich vývoj tedy teplotu 30 °C považovat nelze.

**Tabulka 1** – Vliv vybraných „optimálních“ a „suboptimálních“ kombinací teploty a vlhkosti na některé jevy související s rozmnožováním a vývojem druhu *D. farinae*. Uvedená data představují průměr z jednotlivých měření a směrodatnou odchylku (bez označení)/standardní chybu (označeno •). Údaje byly zaokrouhleny na celé dny. Šedě zvýrazněna „optima“ pro průběh daného jevu.

Teplota (°C)	RH (%)	Dožívání samic (dny)	Ovipozice (dny)	Počet vajíček/samice/život	Trvání vývoj. cyklu (dny)
15	80-86	44 ± 5 • <sub>a</sub>	34 ± 4 • <sub>a</sub>	68 ± 6 • <sub>a</sub>	119 ± 5 • <sub>a</sub>
20-22	75-76	112 ± 10 <sub>c</sub>	45 ± 3 <sub>c</sub>	95 ± 6 <sub>c</sub>	44 ± 2 <sub>d</sub>
	80-86	39 ± 2 • <sub>a</sub>	33 ± 3 • <sub>a</sub>	74 ± 4 • <sub>a</sub>	37 ± 3 • <sub>a</sub>
25	75-76	77 ± 18 <sub>b</sub>	55 ± 9 <sub>b</sub>	72 ± 6 <sub>b</sub>	44 ± 7 <sub>b</sub>
	80-86	34 ± 3 • <sub>a</sub> 95 ± 23 <sub>b</sub>	28 ± 2 • <sub>a</sub> 50 ± 9 <sub>b</sub>	81 ± 5 • <sub>a</sub> 81 ± 8 <sub>b</sub>	21 ± 1 • <sub>a</sub>
30	75-76	ND	ND	ND	18 ± 1 <sub>e</sub>
	80-86	23 ± 2 • <sub>a</sub>	17 ± 2 • <sub>a</sub>	52 ± 1 • <sub>a</sub>	15 ± 1 • <sub>a</sub>

Reference: a – Rezk (2016); b - Matsumoto a kol. (1986); c – Alexander a kol. (2002); d - Arlian a kol. (1998a); e - Arlian a Dippold (1996). ND – Příslušná data se nepodařilo dohledat

Ve studiích Rezka (2016) a Matsumota a kol. (1986) vyšlo, že při 25 °C a 80–86% RH jsou samice *D. farinae* schopny naklást (v průměru) shodný počet vajíček. Doba jejich dožívání a trvání ovipozice je však dle Rezka (2016) výrazně kratší. Tyto rozdíly ve výsledcích mohou být důkazem toho, že biologické děje u prachových roztočů studované za „stejných“ laboratorních podmínek mohou být ovlivněny komplexem mnoha dalších faktorů (Colloff, 2009). Zde např. pravděpodobně geografickou polohou (první ze zmiňovaných laboratoří se nachází v Egyptě, druhá v Japonsku), ročním obdobím nebo kvalitou potravy. Na všechny tyto faktory je při studiu prachových roztočů třeba brát zřetel.

### 2.3.3. Hygrotermální podmínky limitující život druhu *D. farinae*

Působení faktorů teploty a vlhkosti na biologii prachových roztočů je úzce provázáno. Stačí, aby jeden z nich dosahoval výrazněji suboptimální hodnoty, a výsledný efekt na roztoče může být negativní, ačkoliv je druhý z faktorů v optimu (Colloff, 2009).

Arlian a Dippold (1996) uvádí, že roztoči druhu *D. farinae* většinou nejsou schopni dokončit svůj vývojový cyklus při teplotách vyšších 35 °C a nižších 16 °C (při 75% RH).

Nejvyšší teplota, při níž jsou ještě schopni přežít, se dle odhadů Dobsona (1980) pohybuje mezi 37–40 °C. Chang (1998) naproti tomu uvádí, že horní bod teplené smrti (tj. minimální vysoká teplota způsobující u studované populace 100% mortalitu) nastává u samic druhu *D. farinae* již při teplotě 40 °C – a to v rozmezí 39–84 hodin v závislosti na RH.

Dle pozorování Paula a Sinhy (1972) způsobila teplota 2 °C (při 75% RH) u sledované populace roztočů 85% mortalitu během 7 dní. Teplota –18 °C (a 75% RH) pak dovedla zahubit většinu z nich během 24h (van Bronswijk a Sinha, 1971), ačkoliv Paul a Sinha (1972) za těchto podmínek pozorovali ještě pár přeživších jedinců.

K poklesu populačního růstu dochází u druhu *D. farinae* při vysoké 85–90% relativní vlhkosti (v kombinaci s optimální teplotou 25 °C) a zároveň též při RH nižší než 40% (van Bronswijk a kol., 1971; Brandt a Arlian, 1976). Nízké vlhkosti způsobují u prachových roztočů narušení rovnováhy mezi výdejem a příjmem vody. Poté, co je „překročen“ bod kritické rovnovážné vlhkosti (tj. vlhkost, kdy se ztráta vody výparem rovná jejímu možnému zisku z okolí (Arlian a Wharton, 1974)), dochází u nich k dehydrataci (Arlian a Veselica, 1981).

Vyšší vlhkosti oproti tomu obvykle vedou v habitatu roztočů k zvýšenému nárůstu mikroskopických hub, jejichž některé rody (např. *Aspergillus* spp. a *Penicillium* spp.) nejsou pro roztoče vhodné coby potrava, a naopak jim svou produkcí mykotoxinů škodí (Naegele a kol., 2013). Van Bronswijk a kol. (1971) popisují, že při 100% RH docházelo u roztočů rodu *Dermatophagoides* k zastavení vývoje.

#### 2.4. Vliv teploty a vlhkosti na metabolismus, respiraci a produkci alergenů u druhu *D. farinae*

Jedním ze způsobů indikace fungování metabolismu živočichů vystavených určitým podmínkám je měření jejich respirace (Hubert a kol., 2010; Wood a Lawton, 2016). U hmyzu a mnoha roztočů se dýchací orgány skládají z tracheí (rozvětvených trubic), které spojují vnitřními orgány s povrchem kutikuly, kde ústí v otvory zvané stigmata. Astigmátní roztoči se však vyznačují absencí těchto trachejí a k dýchání u nich dochází přímo přes kutikulu (Colloff, 2009). Ve velmi suchých habitatech, které někteří z nich obývají, by bylo dýchání stigmaty nevhodné, neboť náklady na ztrátu vody z tracheí by zde převážily nad přínosem účinné výměny plynů (Arlian a Veselica, 1981). Schopnost kutikuly zamezovat vodním ztrátám se jeví v kontextu s požadavkem na její prodyšnost pro dýchání jako zdánlivě problematická až rozporuplná. Prachoví roztoči ale bývají poměrně drobní (dospělé samice dosahují velikosti kolem 370 až 430 µm, samci 300 až 350 µm (Ju, 2012)), díky čemuž umožňuje poměr povrchu jejich těla ku obsahu účinnou výměnu plynů skrze kombinaci

difuze a náhodného rozvodu tělních tekutin (Spieksma, 1997). K udržení kutikuly v optimálním stavu pro přenos plynů mají tyto roztoči párové žlázy ústící na bocích abdomenu, které produkují zvlhčující sekret (Spieksma, 1997).

Prachoví roztoči získávají největší množství vody jejím čerpáním ze vzdušné vlhkosti, přičemž k tomu využívají hyperosmotický roztok chloridu sodného a draselného, který produkují supra-koxálními žlázami (kanálky ústícími na bázi kyčlí) (Arlian a Wharton, 1974). Wharton a Furumizo (1977) odhadují, že roztoči druhu *D. farinae* jsou schopni díky této adaptaci vstřebat asi 0,55 µg vody za hodinu. Když však kritická rovnovážná vlhkost okolí poklesne na hodnotu, při níž již nejsou roztoči schopni své tělo tímto mechanismem hydratovat, dochází u nich ke kompenzačnímu mechanismu snížení propustnosti kutikuly pro transpiraci, pasivní difúzi a zároveň i celkovou výměnu plynů. To má za následek utlumení rychlosti metabolismu dehydratovaného zvířete a – v případě prachových roztočů – také redukcii množství jimi vyprodukovaných alergenů (Colloff, 2009; Arlian, 1975b; Vidal-Quist a kol., 2015; Acevedo a kol., 2019).

Produkce alergenů u prachových roztočů totiž s jejich metabolickou aktivitou (např. vývojem, příjmem potravy, trávením či vylučováním) přímo souvisí. Většina těchto látek je enzymatické povahy a do volného prostředí se dostává skrze sliny roztočů ulpělé na površích, jejich svlečky, mrtvá rozkládající se těla či – asi nejtypičtěji – skrze exkrementy (Arlian a Platts-Mills, 2001; Colloff, 2009; Gregory a Lloyd, 2011). Znalostí způsobů, jak tyto zmiňované metabolické děje u prachových roztočů pozastavit, může být využito v rámci metod snižování množství jejich alergenů v prostředí.

Ohledně využití hygrotermálních faktorů lze v tomto kontextu jmenovat například ošetřování bytových textilií, lůžkovin a matrací vymrazování v domácích mrazničkách či – jsou-li pro to vhodné podmínky – ve venkovním prostředí (Paul a Sinha, 1972; Feichtner a kol., 2018). Praní kontaminovaných materiálů při vyšší teplotě (McDonald a Tovey (1992) uvádí aspoň 55 °C), či udržování RH v domácnostech dlouhodobě v rozmezí 30–50 % (Arlian a kol., 2001; Koster, 2016).

### 3. Experiment I. - Preference roztočů *D. farinae* v rámci teplotního gradientu

Cílem první části mojí diplomové práce bylo zjistit teplotní preference prachových roztočů druhu *D. farinae* v rámci teplotního gradientu simulujícího prostředí matrace. Byla pro něj využita aparatura topné lavice skládající se z pěti sektorů vyhřívaných v odlišném rozpětí teplot (dle Huberta a kol., 2010). Tyto sektory obsahovaly dietu obohacenou o různá barviva, která po pozření roztoči dokázala obarvit jejich zažívací trakt (Spieksma, 1997). Sloužila tedy coby indikátor přítomnosti a krmení roztočů (Erban a Hubert, 2008; Molva a kol., 2019). Roztoči mohli mezi jednotlivými sektory volně migrovat, krmili se zde obarvenou dietou či potravu nepřijímali. Kromě kontrolního měření probíhal poté samotný experiment ve dvou variantách: (i) sledování migračních vzorců roztočů v rámci konstantního teplotního gradientu (19–41 °C) spuštěného po dobu 24 h a (ii) v rámci střídavých cyklů téhož gradientu (19–41 °C, po dobu 8 h/denně) a pokojové teploty (16 h/denně) v průběhu pěti dnů. Druhá z variant pokusu měla simulovat podmínky v matraci při jejím periodicky se opakujícím obsazováním člověkem. Na konci každé varianty experimentu byl stanoven počet obarvených (tj. nakrmených) a neobarvených (tj. potravu nepřijímajících) roztočů v jednotlivých sektorech.

#### 3.1. Experiment I. – Materiály a metodika

##### 3.1.1. Roztoči

Prachoví roztoči druhu *Dermatophagoides farinae* využívání jako modelový organismus v této diplomové práci pocházejí z kolonie prof. Krzysztofa Solarze ze Slezské lékařské univerzity v polských Katovicích (Omega-PSIR, 2021). Tito roztoči jsou ve VÚRV chováni v komůrkách na tkáňové kultury o ploše 25 cm<sup>2</sup> a objemu 70 ml (IWAKI flasks; kat. č. 3100-025; Sterilin, Newport, Spojené království). Komůrky s roztoči jsou umístěny v exikátorech o 75% relativní vlhkosti (udržované za použití nasyceného roztoku NaCl) a laboratorní teplotě (25 ± 1 °C) ve tmě (Erban a Hubert, 2008). Jejich kolonie jsou subkultivovány každý měsíc. Při zakládání nové kultury je ~ 5000 jedinců (obou pohlaví a všech životních stádií) umístěno do nové komůrky obsahující 0,3 g čerstvě připravené diety. K zakládání nových subkultur dochází vždy během toho, co se původní populace nacházejí v exponenciální fázi růstu. Pro experimenty v první části této práce byly použity roztoči z kultury staré jeden měsíc.

### 3.1.2. Dieta a barviva

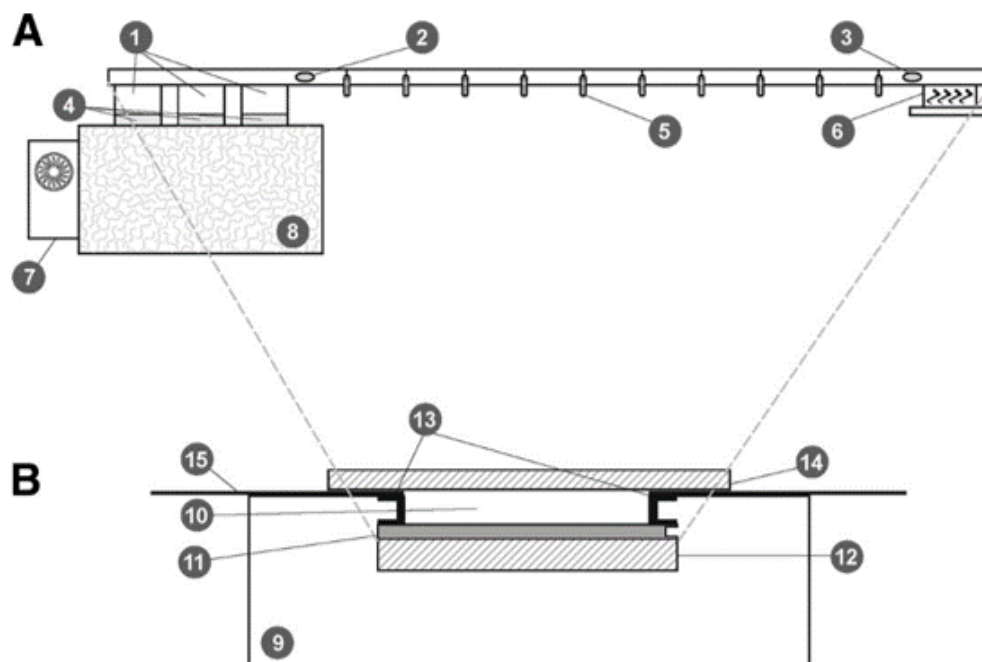
Roztoči jsou standardně krmeni dietou připravenou ze směsi krmiva pro psy, pšeničných klíčků, sušeného rybího krmiva, extraktu ze sušených kvasinek (*Saccharomyces cerevisiae*) a želatiny v poměru 10/10/3/2/1 požadované hmotnosti. Všechny složky této diety jsou při její přípravě rozemlety na prášek a následně pasterizovány zahříváním po dobu 0,5 hodiny při teplotě 70 °C (Erban a Hubert, 2008).

Tatáž chovná dieta byla využita i v experimentech v první části této diplomové práce. Aby bylo možné identifikovat pohyby roztočů v rámci gradientu, byla tato dieta promísena s 4 různými barvivy v poměru 99:1 požadované hmotnosti. Pro tyto účely byla použita následující barviva: Congo Red (kat. č. C6277-25G; Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA), Orange G (kat. č. O7252-25G, Sigma-Aldrich), Evans Blue (kat. č. E2129-10G, Sigma-Aldrich) a aktivní uhlí (kat. č. X865.1; Carl Roth, Karlsruhe, Německo). Předběžné pokusy v Petriho miskách ukázaly, že roztoči všechny tyto barvivem obohacené diety ochotně konzumovali a nezdálo se, že by na ně měly nějaký toxický efekt. Během předpokusů nebyl u sledované populace roztočů zaznamenán žádný zvýšený úhyn (projevující se např. přítomností odumřelých těl, jak je to běžné při obdobných testech s pesticidy) ani snížení jejich aktivity.

### 3.1.3. Aparatura topné lavice s teplotním gradientem

Pro experimenty popisované v rámci této části diplomové práce byla využita aparatura topné lavice s teplotním gradientem (dle Hubert a kol., 2010). Ta byla tvořena komorou (o rozměrech 80 × 7 × 1 cm) ponořenou do hliníkového bloku s akrylátovým víkem, které komoru uzavíralo a utěšňovalo. Komora byla rozdělena na pět vzájemně propojených (16 cm dlouhých) sektorů (viz Obrázek 3).

V každém sektoru byla teplota kontrolována digitálním teplotním čidlem (kat. č. F-KV-VM145; GM Elektronik, Praha, Česká republika). Dno komory bylo vystláno kousky filtračního papíru. Pro dosažení vyšší vlhkosti v komoře byly do každého sektoru umístěny 15ml centrifugační zkumavky (kat. č. BR114817; Brand, Wertheim, Německo) naplněné destilovanou vodou a kryté vatovou zátkou (díky čemuž se mohla tekutina odpařovat, ale zároveň nevytékala).



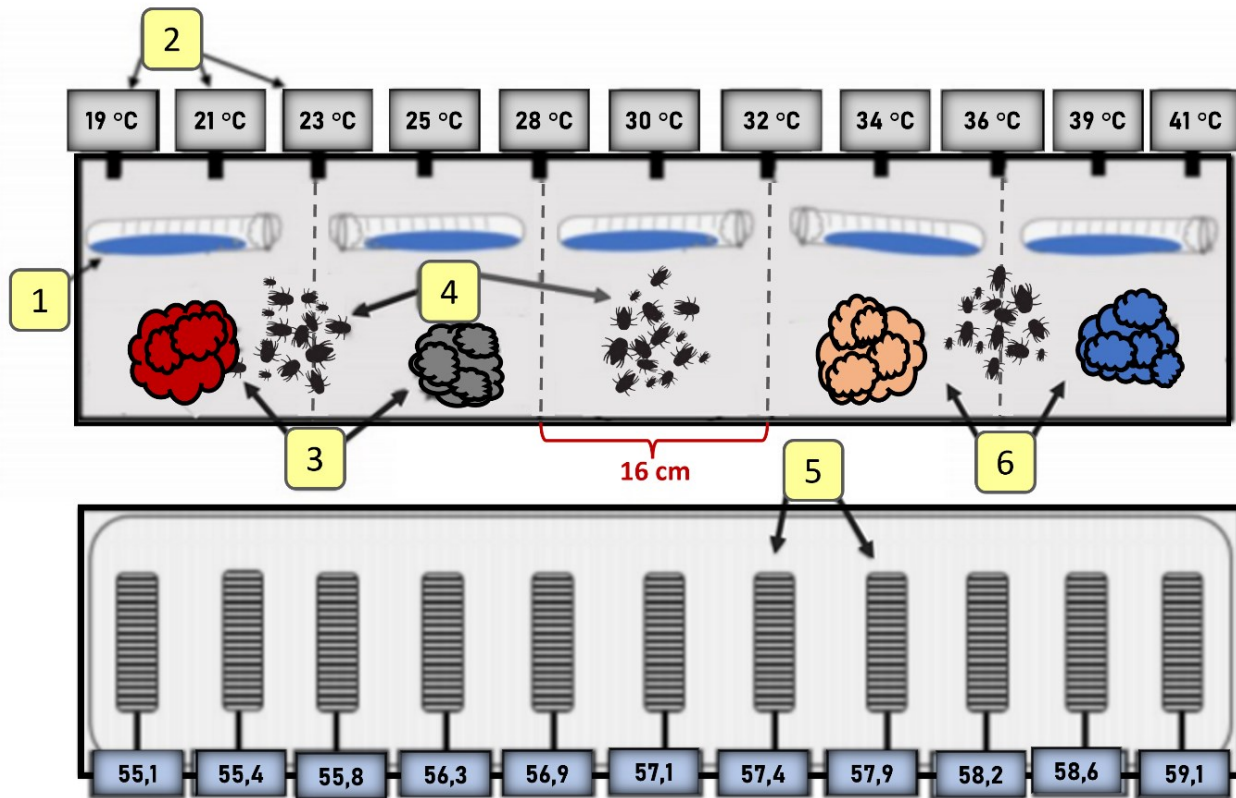
**Obrázek 3** – Schéma topné lavice s teplotním gradientem. (A) Podélný řez hliníkovým blokem s teplotním můstkem: 1 – teplotní můstek; 2 a 3 – PT 100 čidla ochlazované/ohřívané části; 4 – Peltierovy moduly; 5 – digitální teplotní čidlo; 6 – ohřívač; 7 – ventilátor; 8 – chladič. (B) Průřez gradientu: 9 – gumové těsnění – izolace; 10 – komora pro experimenty; 11 – deska z nerezové oceli; 12 – hliníkový blok; 13 – polstrování; 14 – akrylátová krycí deska komory; 15 – kryt gradientu. Převzato z Hubert a kol. (2010). Upraveno.

Relativní vlhkost (RH) byla sledována pomocí 11 vlhkostních čidel zabudovaných ve víku komory. Čidla byla ve vnitřní části víka zakryta sítkou coby ochrana před vniknutím roztočů. Během pokusu byla relativní vlhkost třikrát ručně měřena a pohybovala se v rozmezí 55,1–59,1 %. Při spuštění gradientu byla po 15 minutách stanovena teplota. Roztoči byli do jednotlivých segmentů gradientu přidáváni až po jeho vyhřátí na požadovanou teplotu.

Do 1., 2., 4. a 5. sektoru teplotního gradientu bylo umístěno  $65 \pm 5$  mg diety obohacené o různá barviva (viz Obrázek 4). Pro srovnávací účely byl prostřední (3.) sektor záměrně ponechán bez diety. Díky takovému množství diety lze říci, že byla pro roztoče po dobu všech experimentů neomezeným zdrojem.

Na hranici 1. a 2. sektoru, na hranici 4. a 5. sektoru a doprostřed 3. sektoru bylo přidáno přibližně  $6 \pm 0,5$  mg roztočů (obou pohlaví, všech životních stádií) (Obrázek 4).

Roztoči byli za použití štětce z velbloudí srsti přeneseni z víčka chovných komůrek na váženku (kat. č. P912521; P-Lab, Praha, Česká republika), odváženi na laboratorních analytických vahách (Mettler Toledo NewClassic MS, kat. č. 01911371, Waltham, Massachusetts, Spojené státy americké) a následně umístěni do aparatury gradientu (Erban a Hubert, 2008). Odhaduje se, že hmotnost jednoho dospělého roztoče tohoto druhu činí přibližně 5–7  $\mu\text{g}$  (Hubert – nepublikovaná data).



**Obrázek 4** – Schéma výchozího stavu při experimentech s teplotním gradientem. Umístění roztočů, indikátorových diet a zvlhčovacích centrifugačních zkumavek je znázorněno v pěti sektorech komory. (1) vodou naplněné centrifugační zkumavky s vatovou zátkou; (2) digitální teplotní čidla; (3) indikátorová dieta; (4) roztoči; (5) digitální vlhkostní čidla; (6) komora rozdělená do pěti vzájemně propojených sektorů vyložených filtračním papírem. Převzato z Vacková a kol. (2021). Upraveno.

### 3.1.4. Design experimentů

#### 3.1.4.1. Kontrolní měření – chování roztočů v konstantní pokojové teplotě (bez gradientu)

Do komory teplotního gradientu byly umístěny centrifugační zkumavky, dieta obohacená barvivy a následně (po ustálení teploty) také roztoči (jak je znázorněno na Obrázku 4). Obarvené diety byly v každém opakování a u všech typů pokusů na stejném místě. Roztoči byli následně inkubováni po dobu 24 h při pokojové teplotě v rozmezí od 20 do 23 °C. Teplota celé aparatury byla po celou dobu pokusu konstantní (což sloužilo jako kontrola). Na základě pěti nezávislých měření bylo zjištěno, že se během experimentu skutečná teplota neodchylovala od cílové teploty o více než  $\pm 1$  °C. Po ukončení každého měření byli roztoči z jednotlivých sektorů odebráni a rozlišeni dle zbarvení střeva – viz Stanovení počtu roztočů. Počty různě obarvených jedinců byly zaznamenány. Tento pokus probíhal v 6 opakováních.

#### 3.1.4.2. Měření tepelných preferencí roztočů v rámci konstantního gradientu

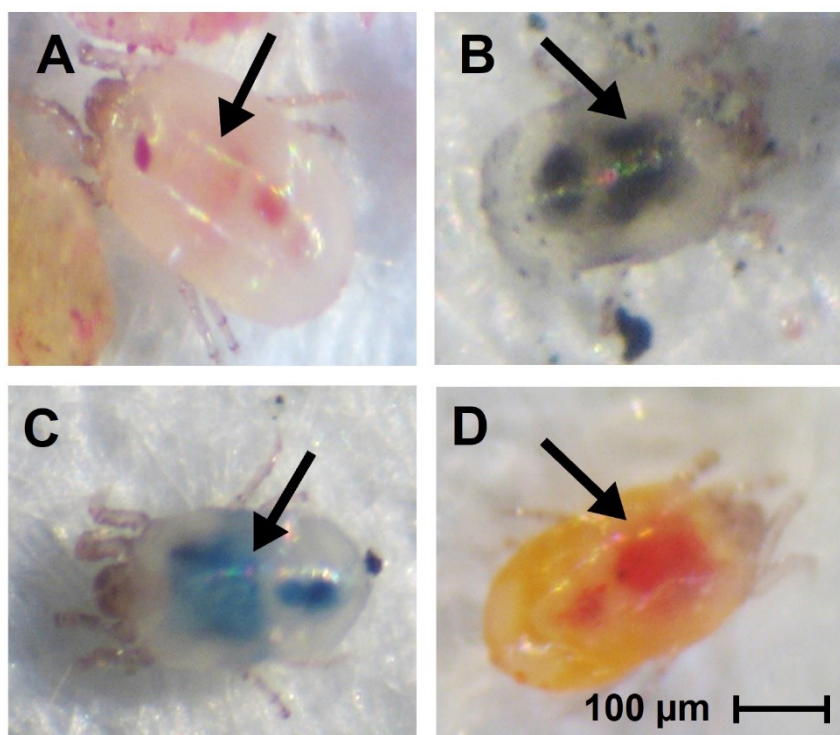
V druhé části experimentu byli roztoči inkubováni po dobu 24 h v komoře vyhřívané/ochlazované v teplotním gradientu od 19 do 41 °C. Pět jednotlivých sektorů bylo vytápěno na: (i) 19–23 °C, (ii) 23–28 °C, (iii) 28–32 °C, (iv) 32–36 °C a (v) 36–41 °C. Tento pokus byl proveden v 10 opakováních. I zde byli roztoči po ukončení každého měření ze všech sektorů vyjmuti a spočítáni.

#### 3.1.4.3. Měření tepelných preferencí roztočů v rámci střídání cyklů teplotního gradientu a pokojové teploty

Uspořádání této části experimentu bylo obdobné jako v předchozích pokusech. Nyní však byl teplotní gradient 19–41 °C aplikován pouze po dobu 8 hodin, po nichž následovalo 16 hodin konstantní pokojové teploty (22–23 °C) (tj. gradient byl po zbylých 16 hodin vypnutý a teplota komory se postupně vyrovnala teplotě v laboratoři). Gradient byl v nastavenou dobu zapínán a vypínán pomocí digitálního časovače DT03 (Solight, Praha, Česká republika). Roztoči byli vystaveni studovaným podmínkám vždy po dobu pěti dní. Po této době byli zpracováni a počítáni stejně jako v předchozích experimentech. Experiment byl proveden v 11 opakováních.

### 3.1.5. Stanovení počtu roztočů

Po ukončení jednotlivých měření byla z každého sektoru zvlášť za pomoci štětce odebrána dieta obohacená barvivem spolu s roztoči. Tento obsah byl umístěn do Petriho misky a konzervován v 70% ethanolu. Pod stereomikroskopem Stemi 2000C (Carl Zeiss, Jena, Německo) byli roztoči rozlišováni dle obarvení oblasti jejich středního střeva (viditelného skrze transparentní kutikulu) (viz Obrázek 5). Následně byly počty různě obarvených roztočů v jednotlivých sektorech zaznamenány. V jednom sektoru se obvykle nacházelo od 5 do 800 jedinců. Smíšené zbarvení (indikující krmení roztočů na více dietách) bylo pozorováno jen zřídka (přibližně u pěti roztočů během jedné analýzy gradientu). Tito jedinci pak byli přiřazeni ke skupině podle nejvyšší zjištěné hustoty zbarvení. Podobná metoda byla již dříve použita ke stanovení pH ve střevě roztočů (Erban a Hubert, 2008; Molva a kol., 2019).



**Obrázek 5** – Dospělé samice druhu *Dermatophagoides farinae* po pozření diety obohacené o různá barviva: A – Congo Red; B – aktivní uhlí; C – Evans Blue; D – Orange G. Šipky ukazují na střední část střeva obsahující potravu obarvenou barvivem. Převzato z Vacková a kol. (2021). Upraveno.

### 3.1.6. Analýza dat

Podíly různě zbarvených roztočů (tj. těch, kteří se krmili v různých sektorech) z kontrolního experimentu byly porovnány pomocí zobecněné odhadovací rovnice (GEE) s binomickým rozložením v rámci balíčku geepack (Yan a Fine, 2004) v R (R Development Core Team 2017). Jelikož 3. sektor neobsahoval žádnou dietu, roztoči, kteří se v něm nacházeli a nepřijímali potravu, byli z analýzy vynecháni. Byla použita výměnná korelační struktura (Pekár a Brabec, 2017). Pro vyhodnocení teplotních preferencí v prvním a druhém pokusu byla taktéž aplikována GEE s binomickými chybami. Faktorem zde byla jak teplota, tak i časové období. Pro zohlednění možných rozdílů v přijímání obarvené potravy byl v modelech pro tyto experimenty po logitové transformaci vzat jako offset průměrný podíl roztočů s jednotlivými barvami z kontrolního experimentu. Analýza dat v této části diplomové práce byla provedena prof. Mgr. Stanislavem Pekárem, Ph.D. z Masarykovy univerzity v Brně (MUNI, 2022).

## 3.2. Experiment I. – Výsledky

### 3.2.1. Výsledky kontrolního měření – chování roztočů v konstantní pokojové teplotě (bez gradientu)

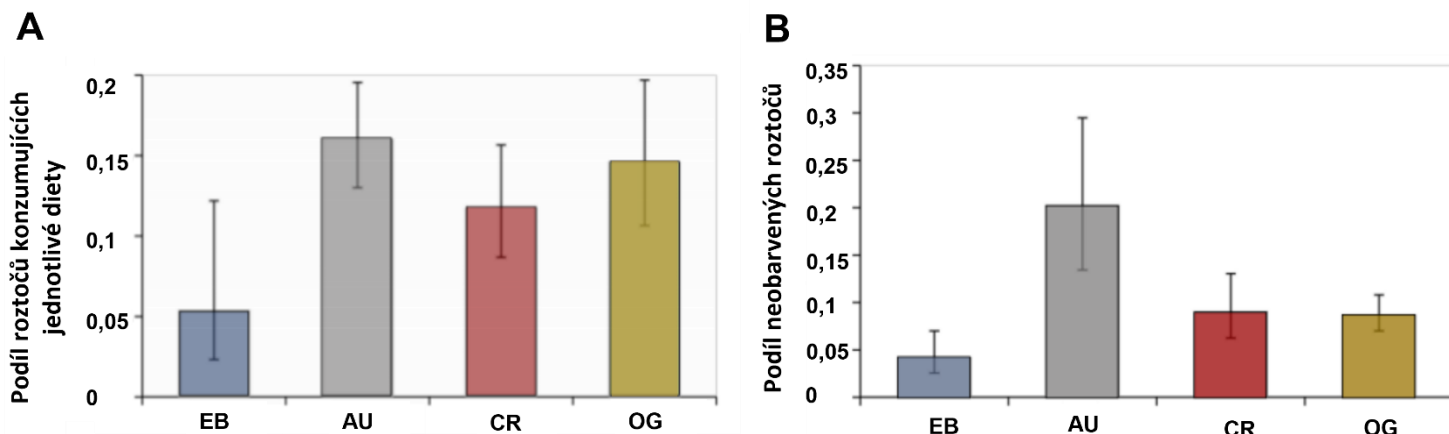
Pro roztoče bylo typické, že se nejčastěji shlukovali v hromádkách obarvené diety. Pouze minimum jedinců bylo nalezeno ve volném prostoru, na víku komory nebo na povrchu centrifugačních zkumavek. V rámci prvního pokusu s kontrolním měřením zůstala poměrně velká část (tj. 53 % z celkem 4859 odebraných) roztočů neobarvená. To naznačuje, že přibližně polovina z jejich celkového počtu v této části experimentu nepřijímala potravu ze žádného ze sektorů (viz Tabulka 2).

Ukázalo se, že čtyři druhy obarvené diety byly u roztočů různě preferovány – viz Graf 1 A): Barvivo Evans Blue bylo konzumováno méně často než Congo Red, aktivní uhlí a Orange G. Jinak řečeno: barviva aktivní uhlí, Orange G a Congo Red byla v porovnání s Evans Blue preferována 3×, 2,5× a 2× více.

V rámci jednotlivých sektorů se také lišil podíl neobarvených (dietu nepřijímajících) roztočů. Více těchto roztočů bylo nalezeno na aktivním uhlí než na Evans Blue – viz Graf 1 B.

**Tabulka 2** – Počty obarvených (potravu přijímajících) a neobarvených (potravu nepřijímajících) roztočů *Dermatophagoides farinae* daného zbarvení, kteří se pohybovali v komoře aparatury teplotního gradientu + celkový počet roztočů ve všech třech pokusech. Počty jsou součtem všech (10, 6 a 11) opakování pokusů. Čísla v závorkách udávají počty barevně rozlišených roztočů, kteří se vyskytovali v konkrétních sektorech. Zleva doprava: Congo Red/Aktivní uhlí/Orange G/Evans Blue.

Experiment	Počet roztočů/sektor	Congo Red (19-23 °C)	Aktivní uhlí (23-28 °C)	Bez diety (28-32 °C)	Orange G (32-26 °C)	Evans Blue (36-41 °C)	Celkem roztočů
Kontrolní měření	Obarvení	570 (364/118/12/8)	779 (169/526/44/7)	0 (27/101/96/18)	710 (8/34/506/46)	262 (2/0/52/183)	2321
	Neobarvení	442	986	481	423	206	2538
Konstantní gradient	Obarvení	967 (764/114/29/1)	979 (156/765/28/1)	0 (28/62/463/2)	1823	95 (0/0/32/55)	3864
	Neobarvení	882	759	944	1118	257	3960
Gradient/ pokojová teplota	Obarvení	1922 (1497/105/8/5)	2265 (386/2016/59/9)	0 (30/141/1086/30)	4515	669 (1/0/30/472)	9371
	Neobarvení	353	1182	766	1290	245	3836



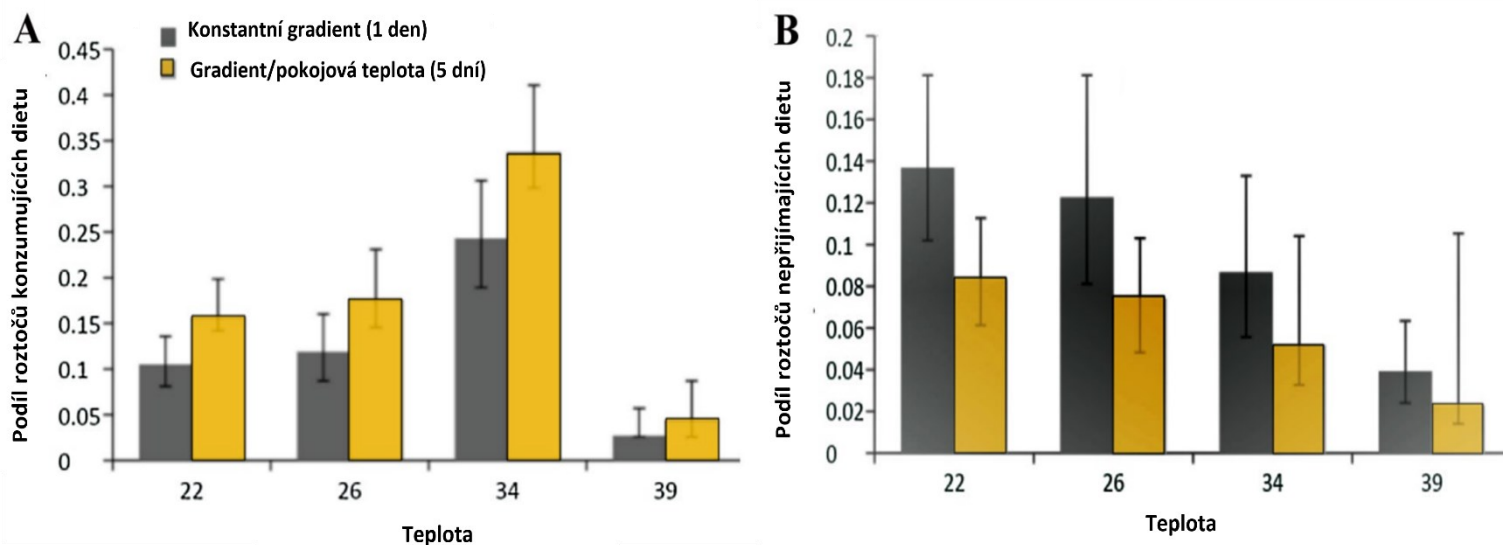
**Graf 1 A a B** – Rozdělení roztočů (průměrný podíl s 95% intervalem spolehlivosti) v kontrolním pokusu. **A** – Podíl roztočů, kteří konzumovali obarvenou dietu. Podíly byly odhadnuty na základě spočítání jedinců ve čtyřech sektorech. **B** – Podíl neobarvených (potravu nepřijímajících) roztočů ve čtyřech sektorech. Barviva: EB – Evans Blue, AU – aktivní uhlí, CR – Congo Red, OG – Orange G. Sloupce značí průměrné podíly roztočů v rámci jednotlivých opakování, úsečky znázorňují odchylky průměru.

### 3.2.2. Výsledky měření tepelných preferencí roztočů v rámci konstantního gradientu

V této části experimentu docházelo k obdobnému shlukování roztočů, jak bylo popsáno v kontrolním měření. Z celkového počtu 7824 roztočů mělo 3864 (51 %) v útrokách zbytky obarvené diety a bylo zahrnuto do analýz (Tabulka 2). Tito roztoči vykazovali v rámci gradientu různé teplotní preference. Roztoči se nejvíce zdržovali v sektoru s teplotním rozsahem 32-36 °C, zatímco nejméně preferovaný u nich byl sektor v rozmezí 36–41 °C – viz Graf 2 A. V nejvíce preferovaném sektoru bylo nalezeno přibližně 8× více roztočů než v tom, kde se roztoči zdržovali nejméně (Graf 2 A). Podíl roztočů nepřijímajících potravu se v jednotlivých sektorech lišil – byl zde patrný trend úbytku jejich počtů s rostoucí teplotou – viz Graf 2 B.

### 3.2.3. Výsledky měření tepelných preferencí roztočů v rámci střídání cyklů teplotního gradientu a pokojové teploty

Z celkového počtu 13 207 jedinců mělo v tomto pětidenním experimentu 9371 (tj. 69 %) obarvený obsah střev a bylo zařazeno do dalších analýz (Tabulka 2). Obecně se dá říci, že tito roztoči vykazovali stejné teplotní preference jako ti v předchozím experimentu. Jejich procentuální zastoupení v každém ze čtyř sektorů však bylo vyšší. Opět platilo, že nejméně preferované sektory byly ty s „extrémními“ rozsahy teplot, tj. 19–23 °C a 36–41 °C. V nejvíce preferovaném sektoru (32–36 °C) bylo přibližně 7× více roztočů než v tom nejméně preferovaném (36–41 °C) (viz Graf 2 A). Podíly roztočů nepřijímajících potravu se mezi jednotlivými teplotními sektory výrazně lišily: jejich počet se se zvyšující teplotou snižoval. Podíl neobarvených roztočů však byl v této části experimentu se střídavým gradientem nižší, než tomu bylo v předchozí části s konstantním gradientem – viz Graf 2 B.



**Graf 2 A a B** – Rozdělení roztočů (průměrný podíl s 95% intervalem spolehlivosti) v rámci teplotního gradientu po 1 dni (konstantní 24hodinový gradient) a 5 dnech (střídání 8 h gradientu a 16 h pokojové teploty) inkubace. **A** – Podíl roztočů, kteří pozřeli obarvenou dietu umístěnou ve čtyřech sektorech s různým teplotním rozpětím. **B** – Podíl roztočů, kteří se nacházeli v jednotlivých sektorech, ale potravu nepřijímali. Sloupce značí průměrné podíly roztočů v rámci jednotlivých opakování, úsečky znázorňují odchylky průměru.

## 4. Experiment II. - Vliv teploty a vlhkosti na metabolismus *D. farinae*

V druhé části mojí diplomové práce bylo cílem stanovit vliv různých kombinací teplot (10, 15, 20, 25, 30 a 35 °C) a vlhkostí (100, 84–87, 75–76, 62–66%) na metabolismus prachových roztočů druhu *D. farinae*. Coby nepřímý odhad metabolismu bylo využito měření objemu CO<sub>2</sub> vyprodukovaného 1–1,5 mg roztočů během 24 h trvající inkubace v příslušných podmínkách.

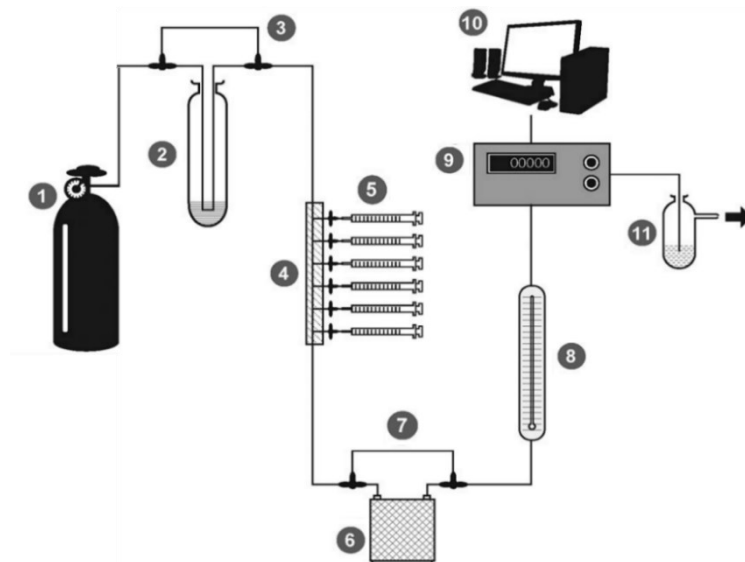
### 4.1. Experiment II. – Materiály a metodika

#### 4.1.1. Roztoči

Roztoči druhu *D. farinae* použítí v tomto experimentu byli stejného původu jako ti ve výše popisovaných experimentech s teplotním gradientem. Také oni byli chováni v 70 ml komůrkách na tkáňové kultury (IWAKI flasks; kat. č. 3100-025; Sterilin, Newport, Spojené království) umístěných v exikátoru o 75% relativní vlhkost. Dieta, kterou byli krmeni, se též shodovala. V tomto experimentu byli používáni roztoči obou pohlaví a všech životních stádií pocházející z kolonií starých jeden měsíc.

#### 4.1.2. Aparatura respirometru

K měření respirace roztočů (resp. množství jimi vyprodukovaného CO<sub>2</sub> za určitý čas) byla využita aparatura skládající se z analyzátoru IRGA detekujícího plyn pomocí infračerveného záření a samotného respirometru (kat. č. RP1LP, Qubit Systems, Kingston, ON, Kanada). Schématický popis celé soustavy – viz Obrázek 6. K aparatuře byla napojena lahev se stlačeným syntetickým plynem (80 % N<sub>2</sub> a 20 % O<sub>2</sub>; kat. č. GA231, Linde-Technoplyn s.r.o.). V aparatuře byl trvalý přívod tohoto plynu (0,1 litru za 60 s) zajištěn redukčním ventilem (7300966, Linde-Technoplyn, Praha, Česká republika) připojeným k tlakové láhvi.



**Obrázek 6** – Schéma aparatury respirometru: (1) tlaková láhev se syntetickým plynem ( $N_2/O_2$ ; 80/20 %) a redukčním ventilem; (2) promývačka s destilovanou vodou/nasyceným roztokem  $NaNO_2$ ,  $NaCl$  či  $KCl$ ; (3) přemostění promývačky; (4) sériově zapojené trojcestné ventily; (5) injekční stříkačky se vzorky a negativní kontrolou; (6) sušička; (7) přemostění sušičky; (8) průtokoměr; (9) IRGA- $CO_2$  senzor; (10) počítač s monitorem; (11) výstupní promývačka se silikonovým olejem. Převzato z Hubert a kol., 2010. Upraveno.

Syntetický plyn bylo možno vést skrze promývačku s kapalinou (destilovanou vodou/nasyceným roztokem  $NaNO_2$ ,  $NaCl$  či  $KCl$ ), která jej zvlhčovala. Do dalšího úseku aparatury byly napojovány sériově zapojené trojcestné ventily (kat. č. S7521, Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, Spojené státy americké). Do každého z těchto ventilů bylo možno připojit injekční stříkačku o objemu 1 ml (kat. č. 9166017V, B. Braun, Melsungen, Německo) obsahující vzorek (roztočů). Syntetický plyn poté při měření hladiny  $CO_2$  ve vzorcích procházel skrze sušičku plynu DMTM-060-24-Series 3 (Perma Pure, Toms River, New York, Spojené státy americké). Přítok plynu do IRGA reguloval průtokoměr (kat. č. 112-02-A, Aalborg, Orangeburg, New York, Spojené státy americké). Výstup analyzátoru byl připojen ke dvoucestné promývací komoře o objemu 50 ml, kde plyn procházel silikonovým olejem, aby se zabránilo jeho zpětnému navrácení do aparatury. Data z analyzátoru IRGA byla vizualizována na monitoru připojeného počítače pomocí softwaru Logger Pro (Vernier Software a Technology, Beaverton, Oregon, Spojené státy americké).

#### 4.1.3. Experimentální design

K nastolení požadovaných vlhkostí byly injekční stříkačky s roztoči nejdříve naplněny zvlhčeným syntetickým plynem (podrobnější popis přípravy vzorků – viz dále). Tento plyn procházel skrze promývačku obsahující čistou destilovanou vodu či nasycené roztoky solí ( $NaNO_2$ ,  $NaCl$ ,  $KCl$ ).

To, skrze kterou z kapalin plyn před naplněním stříkaček prošel, určovalo, v jakých vlhkostních podmínkách se budou roztoči při inkubaci nacházet (viz Tabulka 3) (Hubert a kol., 2010).

Po zajištění příslušných vlhkostních podmínek byly injekční stříkačky s roztoči umístěny do termostatů s 6 různými teplotami (10, 15, 20, 25, 30 a 35 °C) a inkubovány po dobu 24 h.

**Tabulka 3** – Přehled vlhkostí (v %), v nichž byli roztoči inkubováni. Tyto vlhkosti byly v injekčních stříkačkách nastoleny poté, co byly naplněny syntetickým plynem procházejícím skrze promývačky s nasycenými roztoky solí (a destilované H<sub>2</sub>O) a umístěny do termostatů (s určitými teplotami). Na výsledné vlhkosti ve stříkačkách se tedy podílel „typ“ nasyceného roztoku i teplota, v níž probíhala inkubace.

Roztok	Teplota [°C]					
	10	15	20	25	30	35
dH <sub>2</sub> O	~ 100	~ 100	~ 100	~ 100	~ 100	~ 100
KCl	88	87	86	85	85	84
NaCl	76	76	76	75	75	75
NaNO <sub>2</sub>	66	66	66	65	63	62

Čtyřicetihodinová inkubační doba byla zvolena z toho důvodu, aby bylo množství CO<sub>2</sub> vyprodukované roztoči dostatečně průkazné a přístrojem dobře zachytitelné. Jednotlivé vlhkosti byly kombinovány se všemi teplotami. V rámci každé kombinace vlhkosti a teploty byla změřena respirace u 18–26 vzorků.

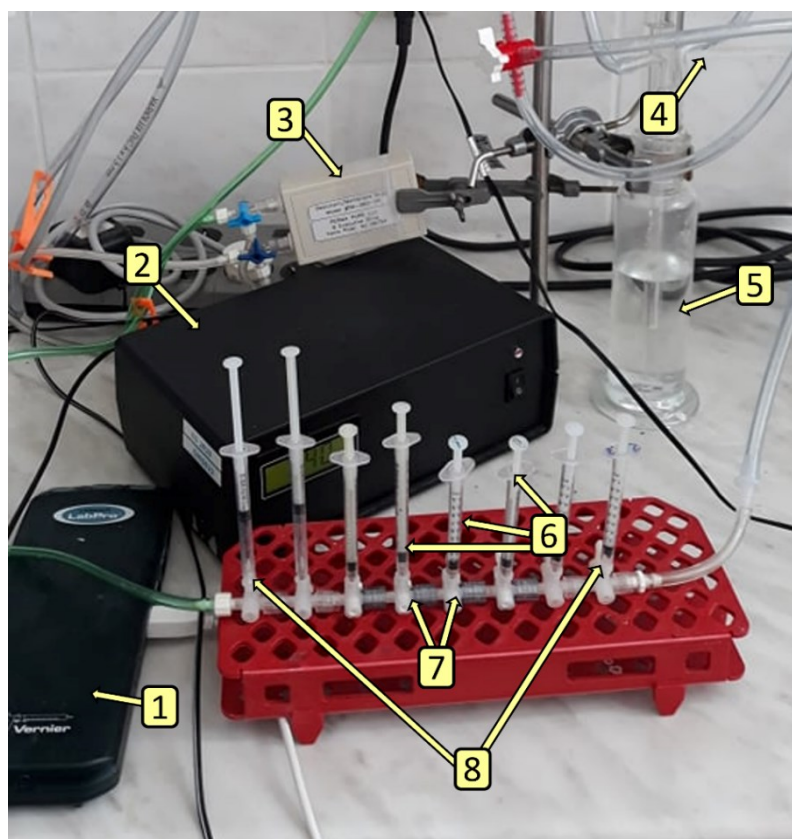
#### 4.1.4. Příprava vzorků

Roztoči (obou pohlaví a všech životních stádií) byli za pomoci štětce z velbloudí srsti odebráni z víčka chovných komůrek a umístěni na váženku (kat. č. P912521; P-Lab, Praha, Česká republika). Na analytických laboratorních vahách byl navážen 1–1,5 mg roztočů, kteří byli následně opět za pomoci štětce a nálevky (kat. č. K000145; P-Lab, Praha, Česká republika) přemístěni do 1ml injekčních stříkaček. Otvor stříkaček byl vyplněn kouskem filtračního papíru, aby se zabránilo úniku roztočů či jejich volnému pohybu v rámci aparatury. Tyto injekční stříkačky byly poté připojeny do aparatury respirometru pomocí sériově zapojených trojcestných ventilů, který bylo možné uzavřít vždy jen v jednom směru.

K aparatuře bylo naráz připojeno vždy 8 stříkaček (6 se vzorky roztočů, 2 prázdné coby kontrola) (Hubert a kol., 2010). Po ustanovení stabilní koncentrace CO<sub>2</sub> v systému byl vzduch ve všech

stříkačkách nahrazen syntetickým plynem zvlhčeným (dle požadované vlhkosti) průchodem skrze promývačku s destilovanou vodou či roztoky solí.

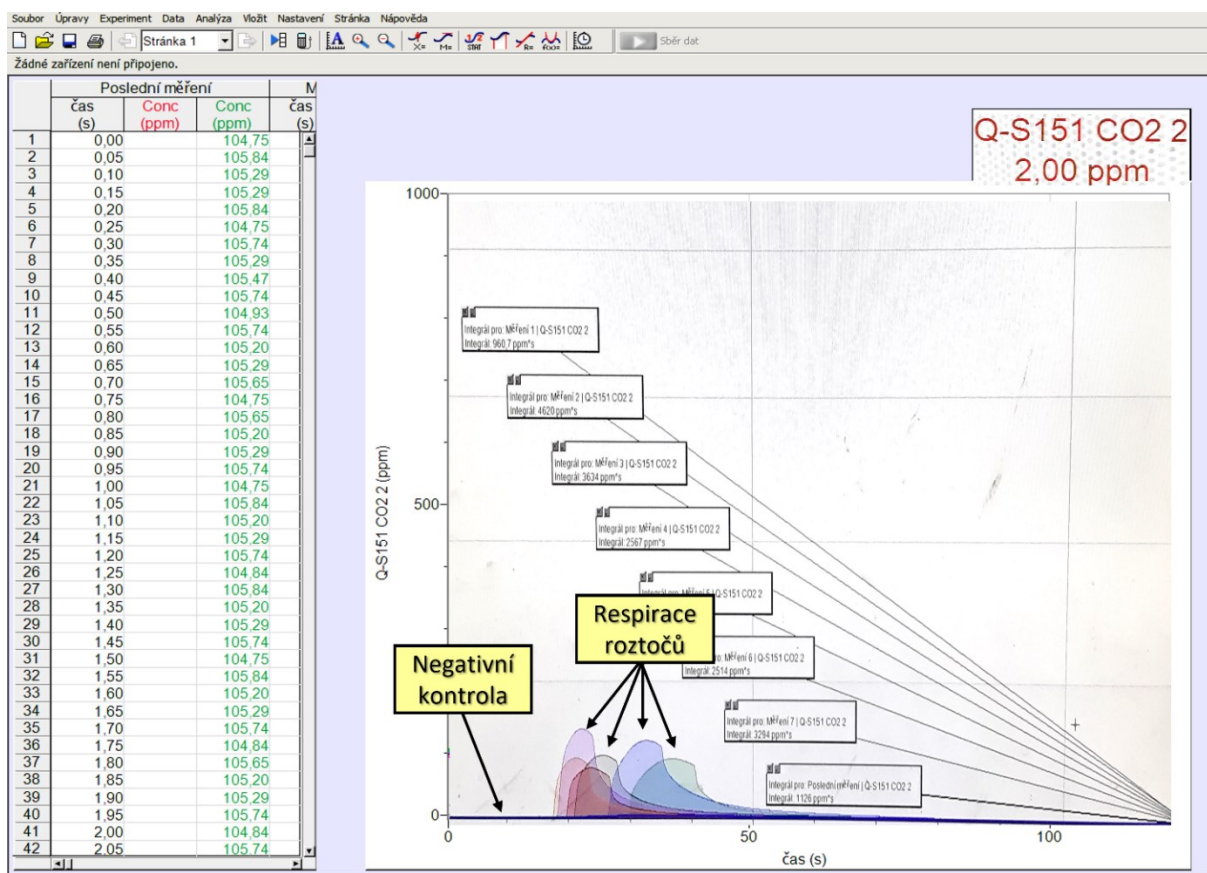
Toto výměna plynů probíhala tak, že byl z každé stříkačky postupně nejdříve vypuzen vzduch (stlačením jejího pístu až na hodnotu 0,1 ml) a následně po otočení ventilu nasát zvlhčený syntetický plyn (až k hodnotě 0,6 ml). Toto plyn byl poté znovu dvakrát vypuzen a opakovaně nasát. Po třetím nasátí obsahovala každá ze stříkaček 0,6 ml plynu určeného k experimentálnímu použití. Takto naplněné injekční stříkačky (umístěné v sériově zapojených ventilech) byly umístěny do termostatů s příslušnými teplotami a inkubovány po dobu 24 h.



**Obrázek 7** – Část aparatury respirometru s připojenými injekčními stříkačkami: (1) IRGA-CO<sub>2</sub> senzor; (2) průtokoměr; (3) sušička; (4) přemostění promývačky; (5) promývačka s destilovanou vodou/nasyceným roztokem NaNO<sub>2</sub>, NaCl či KCl; (6) injekční stříkačky s roztoky; (7) sériově zapojené trojcestné ventily; (8) injekční stříkačky s negativními kontrolami

#### 4.1.5. Měření respirací

Po inkubaci bylo 8 do sebe zapojených trojcestných ventilů s injekčními stříkačkami znovu připojeno k respiračnímu přístroji. Po ustálení hladiny koncentrace CO<sub>2</sub> v systému, bylo ihned provedeno měření obsahu CO<sub>2</sub> vyprodukovaného roztoči. Pro toto měření byl použit proud nezvlhčeného syntetického vzduchu (promývačka se zvlhčující kapalinou byla v průběhu měření od aparatury odpojena). Postup měření probíhal tak, že v časovém intervalu cca 20 min byl do aparatury postupně vpraven objem 0,5 ml plynu z jednotlivých injekčních stříkaček. Po dobu 240 s software Logger Pro pak u každé stříkačky postupně zaznamenával koncentraci CO<sub>2</sub> – viz Obrázek 8. Koncentrace byla kontrolována 180krát za sekundu. V předchozích měřeních provedených Hubertem a kol. (2010) bylo prokázáno, že interval 240 sekund je dostatečný pro zaznamenání celého píku vstřikovaného CO<sub>2</sub> a po uplynutí této doby se již koncentrace CO<sub>2</sub> v aparatuře blíží nulové úrovni. Před a po sérii injekčních stříkaček obsahujících roztoče byl obdobným způsobem pozorován objem CO<sub>2</sub> i v negativních kontrolách.



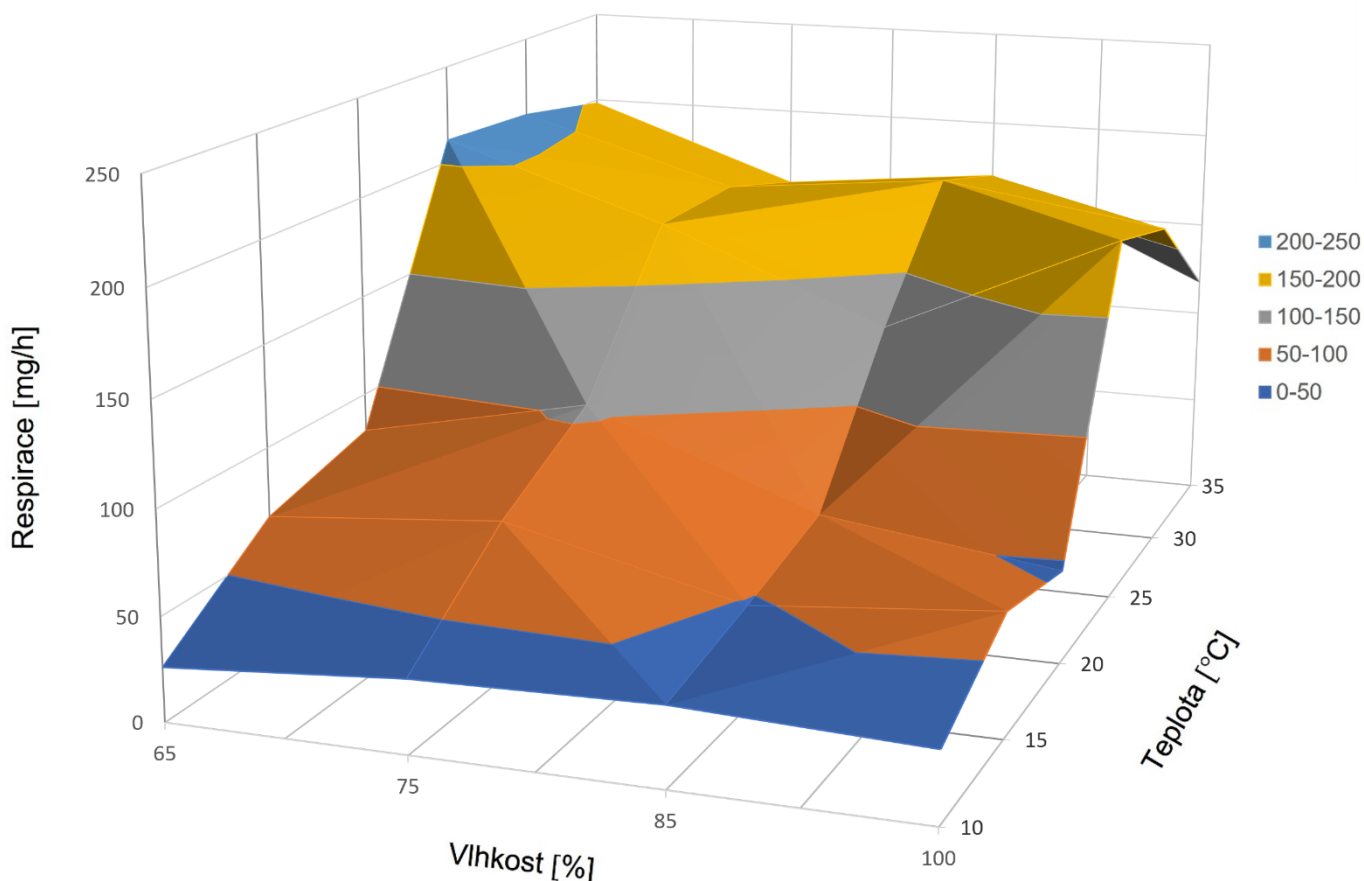
**Obrázek 8** – Měření hladiny CO<sub>2</sub> vyprodukovaného roztoči během 24h inkubace v kontrolovaných podmínkách. Graf vyneseny programem Logger Pro.

#### 4.1.6. Analýza dat

Součtem všech IRGA-CO<sub>2</sub> signálů (tj. integrálů koncentrace CO<sub>2</sub> v čase) byl (po odečtení průměru součtů signálů z kontrolních stříkaček) u každé studované kombinace faktorů stanoven průměrný objem CO<sub>2</sub> v 0,5 ml syntetického plynu. Množství CO<sub>2</sub> vyprodukované roztoči během čtyřadvacetihodinové inkubace bylo následně přepočítáno na ppm CO<sub>2</sub> na mg čerstvé hmotnosti roztočů za 1 hodinu.

#### 4.2. Experiment II. – Výsledky

Jak je patrné z Grafu 3 a Tabulky 4, s rostoucí teplotou bylo u roztočů v tomto experimentu možno pozorovat trend pozvolného zvyšování respirace. Vůbec nejvyšší produkci CO<sub>2</sub> poté vykazovali při teplotách kolem 25–30 °C (maximum bylo 211,41 mg/h u jedinců inkubovaných ve 25 °C a 65% RH). Při teplotách 30–35 °C se poté jejich metabolická aktivita opět snižovala.



**Graf 3** – Grafické znázornění množství CO<sub>2</sub> (mg/h) vyprodukovaného roztoči během čtyřadvacetihodinové inkubace v různých kombinacích teplot (10, 15, 20, 25, 30 a 35 °C) a vlhkostí (~ 100, 84–87, 75–76, 62–66 %).

Nejnižší produkce CO<sub>2</sub> (26,2 mg/h) byla u těchto roztočů naměřena poté, co byli inkubováni v „extrémní“ kombinaci nízké teploty 10 °C a 65% vlhkosti. Zajímavé ovšem je, že opačný extrém těchto faktorů (tj. kombinace nejvyšší ~ 100% RH a teploty 35 °C) vedl k respiračním hodnotám průměrným.

**Tabulka 4** – Množství CO<sub>2</sub> (mg/h) vyprodukované roztoči během čtyřadvacetihodinové inkubace v různých kombinacích teplot (10, 15, 20, 25, 30 a 35 °C) a vlhkostí (~ 100, 84-87, 75-76, 62-66 %) – data, dle nichž byl sestaven Graf 3. Data jsou průměrnými hodnotami z 16-26 měření ± SD (směrodatné odchylky). Data byla zaokrouhlena na celá čísla. Šedě bylo zvýrazněno průměrně nejvyšší naměřené množství CO<sub>2</sub> (vyprodukované roztoči při inkubaci ve 25 °C a 65% RH).

Teplota (°C)	Vlhkost (%)			
	62-66	75-76	84-87	~ 100
10	26 ± 11,1	35 ± 11,3	38 ± 14,5	34 ± 12,3
15	66 ± 26,1	76 ± 36,7	49 ± 21,9	60 ± 22,4
20	81 ± 33,4	105 ± 42,4	61 ± 30,7	46 ± 15,3
25	<b>211 ± 68,2</b>	175 ± 48,9	130 ± 55,0	183 ± 78,2
30	208 ± 67,7	175 ± 80,5	186 ± 76,0	168 ± 31,6
35	198 ± 64,7	158 ± 57,8	170 ± 58,6	118 ± 45,3

Ohledně faktoru vlhkosti byl patrný výraznější nárůst respirace roztočů kolem 65% RH v kombinaci s teplotou 25-30 °C. Jinak hodnoty CO<sub>2</sub> vyprodukovaného v závislosti na tomto faktoru poměrně fluktovaly a nevykazovaly žádný konkrétní trend.

## 5. Experiment III. – Vliv teploty a vlhkosti na populační růst *D. farinae*

Cílem této části mé diplomové práce bylo analyzovat populační dynamiku roztočů *D. farinae* chovaných po dobu 14 týdnů ve 20 kombinacích konstantní teploty (15, 20, 25, 30 a 35 °C) a vlhkosti (62-66, 75-76, 84-87, 89-94 %).

### 5.1. Experiment III. – Materiály a metodika

#### 5.1.1. Roztoči

V tomto experimentu byli využiti roztoči *D. farinae* pocházející ze stejných chovů (tj. stejných chovných podmínek) jako ti v experimentech předešlých.

#### 5.1.2. Předpokusy – hledání vhodného experimentálního designu

Standardní růstové pokusy bývají obvykle zakládány v 70ml komůrkách na tkáňové kultury (běžně používaných i při laboratorním chovu roztočů). Do těchto komůrek se poté (není-li stanoveno jinak) přidává dostatečné množství diety (aby nebyl populační růst roztočů limitován jejím nedostatkem) a následně i určitý počet dospělých samců a samic roztočů.

Tento běžně užívaný experimentální design se však ukázal pro naše účely – sledování populační dynamiky při různých kombinacích teplot a vlhkostí – nevhodný. Během předpokusů docházelo v komůrkách – zejména při kombinacích nižších teplot a vyšších vlhkostí – často již po několika dnech k zvýšenému nárůstu mikroskopických hub, které populační růst roztočů inhibovaly.

V chovných komůrkách (ale i prostředí domácností) se v průběhu času běžně kumulují exkrementy a zbytky těl roztočů, které zároveň kontaminují i jejich potravu (Colloff, 2009). Vzhledem k tomu, že v laboratorních chovech roztočů nebývá plesnivění zas tak častým jevem, lze předpokládat, že by se v jejich zažívacím traktu mohly nacházet jisté látky/mikroorganismy, které dovedou růst mikroskopických hub do jisté míry inhibovat (jak uvádí Ing. Nesvorná z VÚRV dle vlastního pozorování).

Této úvahy bylo využito i při navrhování designu vhodného pro experimenty popisované v této části mé diplomové práce. Cílem bylo v pokusech nastolit takové podmínky, aby se co nejvíce podobaly prostředí běžných laboratorních chovů, zároveň v nich však bylo možné populační dynamiku roztočů nějakým způsobem měřit.

### 5.1.3. Experimentální design

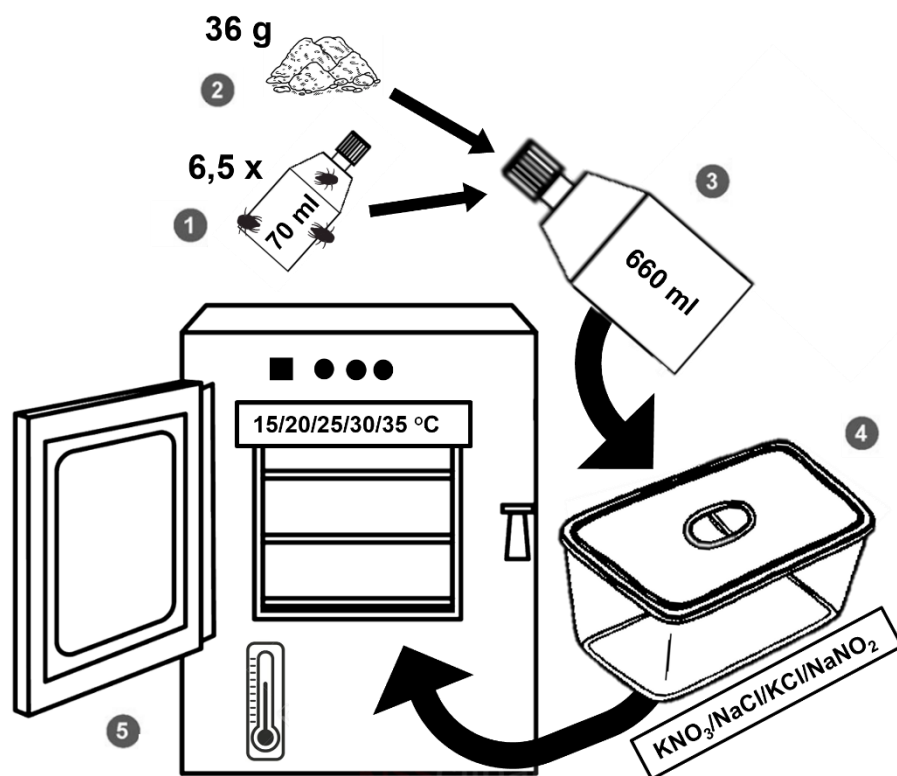
Pro založení každého z pokusných měření byla použita jedna větší 660ml komůrka na tkáňové kultury (kat. č. 660-150, Cellstar, Greiner Bio-One, Frickenhausen, Německo) obsahující 36 g chovné diety (její složení viz podkapitola Dieta a barviva). Do této 660 ml komůrky byl za pomoci nálevky (kat. č. K000145; P-Lab, Praha, Česká republika) umístěn obsah 6,5 měsíc starých 70ml chovných komůrek (z nichž každá obsahovala ~5000 živých roztočů - obou pohlaví a všech životních stádií + ~0,3 g směsi zbytků chovné diety, svleček, mrtvých těl a exkrementů roztočů) (dle Klimov a kol., 2019). Tímto způsobem byla připravena jedna 660ml komůrka pro každou ze 20 studovaných kombinací konstantní teploty a vlhkosti.

660ml komůrky s roztoči a dietou byly následně umístěny do plastických boxů s ventily (365+ Food container, kat. č. 40131909, IKEA, Švédsko) obsahujícími nasycené roztoky 4 různých solí ( $\text{NaNO}_2$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $\text{KCl}$  nebo  $\text{KNO}_3$ ). Každý z těchto roztoků zajišťoval uvnitř boxů jinou vlhkost (viz Tabulka 5) (Arlian a kol, 1999a).

**Tabulka 5** – Přehled vlhkostí, které byly uvnitř boxů zajištěny skrze jejich naplnění nasycenými roztoky solí ( $\text{NaNO}_2$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $\text{KCl}$  nebo  $\text{KNO}_3$ ) a umístění do termostatů s příslušnými teplotami (15, 20, 25, 30 nebo 35 °C).

Roztok	Teplota [°C]				
	15	20	25	30	35
$\text{KNO}_3$	94	93	92	91	89
$\text{KCl}$	87	86	85	85	84
$\text{NaCl}$	76	76	75	75	75
$\text{NaNO}_2$	66	66	65	63	62

Boxy byly následně umístěny do termostatů s 5 různými teplotami (15, 20, 25, 30 a 35 °C) – schéma experimentu viz Obrázek 9. Roztoči byli za těchto podmínek inkubováni po dobu 14 týdnů.



**Obrázek 9** – Schéma zakládání experimentů zaměřených na populační dynamiku roztočů za různých hygrotermálních podmínek: (1) 6,5 chovných komůrek s roztoči o objemu 70 ml a (2) 36 g diety bylo vloženo do (3) 660ml komůrky. Tato 660ml komůrka byla umístěna do (4) boxu s nasyceným roztokem  $\text{KNO}_3/\text{NaCl}/\text{KCl}$  či  $\text{NaNO}_2$ . Box byl následně vložen do (5) termostatu vyhřívaného na 15/20/25/30 nebo 35 °C.

#### 5.1.4. Odběry vzorků a stanovení počtu roztočů

Roztoči byli za stanovených podmínek inkubováni po dobu 14 týdnů. Z každé 660ml komůrky byl v 2.; 4.; 6.; 8.; 10.; 12. a 14. týdnu (tj. 14., 28., 42., 56., 70., 84. a 98. dnu) inkubace proveden odběr 6 vzorků (dle Klimov a kol., 2019). Každý vzorek obsahoval ~12-12,5 mg substrátu (tj. směsi živých roztočů, jejich svleček, exkrementů a zbytků růstového média). Tento odběr 6 vzorků byl proveden u jedné z komůrek i na samotném počátku experimentu (před vystavením roztočů zkoumaným podmínkám), aby bylo možno odhadnout množství roztočů v komůrkách v čase  $T_0$  (tj. ve výchozím stavu).

Jednotlivé vzorky byly za pomoci kopistky (kat. č. 2006655, Conatex-Didactic, Praha, Česká republika) přeneseny na váženku (kat. č. P912521; P-Lab, Praha, Česká republika) a zváženy na laboratorních analytických vahách (Mettler Toledo NewClassic MS, kat. č. 01911371, Waltham, Massachusetts, Spojené státy americké). Přesná hmotnost navážky byla

zaznamenána. Vzorky byly následně přemístěny do 1,5ml plastových centrifugačních zkumavek (Eppen- Dorf, Hamburg, Německo) naplněných 70% etanolem.

Obsahu centrifugačních zkumavek byl poté Pasteurovou pipetou (kat. č. 318436, HPST, Praha, Česká republika) přenesen na Petriho misky a analyzován pod pitevním mikroskopem Stemi 2000C (Carl Zeiss, Jena, Německo). V jednotlivých vzorcích bylo spočítáno a zaznamenáno množství roztočů (do tohoto součtu byla zahrnuta všechna životní stádia s výjimkou vajíček).

Po celou dobu inkubace byl stav každé z 20 experimentálně chovaných populací roztočů (jednou za 7 dní) pravidelně kontrolován. Médium s roztoči bylo při těchto kontrolách vždy mechanicky promíseno, což sloužilo jako prevence uchycování hyf mikroskopických hub k povrchu komůrek (Crowther a kol., 2006; Colloff, 2009). Pokud bylo v průběhu těchto týdenních kontrol zjištěno, že některá z komůrek již neobsahuje žádné živé roztoče (jejich populace nebyla schopna za daných hygrottermálních podmínek přežít), byl pokus s touto kombinací teploty a vlhkosti předčasně ukončen. Tj. odběry byly prováděny pouze do doby, dokud se v komůrkách ještě nacházeli živí roztoči. To, že se v některých kombinacích sledovaných faktorů roztočům nedařilo, bylo leckdy patrné již „od pohledu“ dle barvy a struktury substrátu v dané komůrce – viz Obrázek 10.



**Obrázek 10** – Vizuální rozdíl mezi obsahy měsíc starých komůrek inkubovaných ve 35 °C a 62 % RH (vlevo) a 35 °C a 75 % RH (vpravo). Substrát první z komůrek (vlevo) se ještě poměrně podobá výchozímu stavu – je světlý, sypký a obsahuje živé roztoče. Obsah druhé z komůrek (vpravo) naproti tomu vlivem vlhkosti ztmavnul, tvoří se v něm hrudky a živí roztoči se již uvnitř nenacházejí.

### 5.1.5. Analýza dat

Množství roztočů nalezených v jednotlivých vzorcích (o hmotnosti ~12-12,5 mg) bylo přepočítáno na průměrnou navážku 12,25 mg. Následně byly tyto počty roztočů z 6 vzorků (tj. 6 opakování) odebraných pro každou kombinaci vlhkosti a teploty 2., 4., 6., 8., 10., 12. a 14. týden zprůměrovány a spočítány směrodatné odchylky. Do analýzy byla zahrnuta i data z měření, která musela být předčasně ukončena vzhledem k tomu, že roztoči nebyli za daných kombinací hygrotermálních faktorů schopni přežít po celou dobu experimentu.

## 5.2. Experiment III. – Výsledky

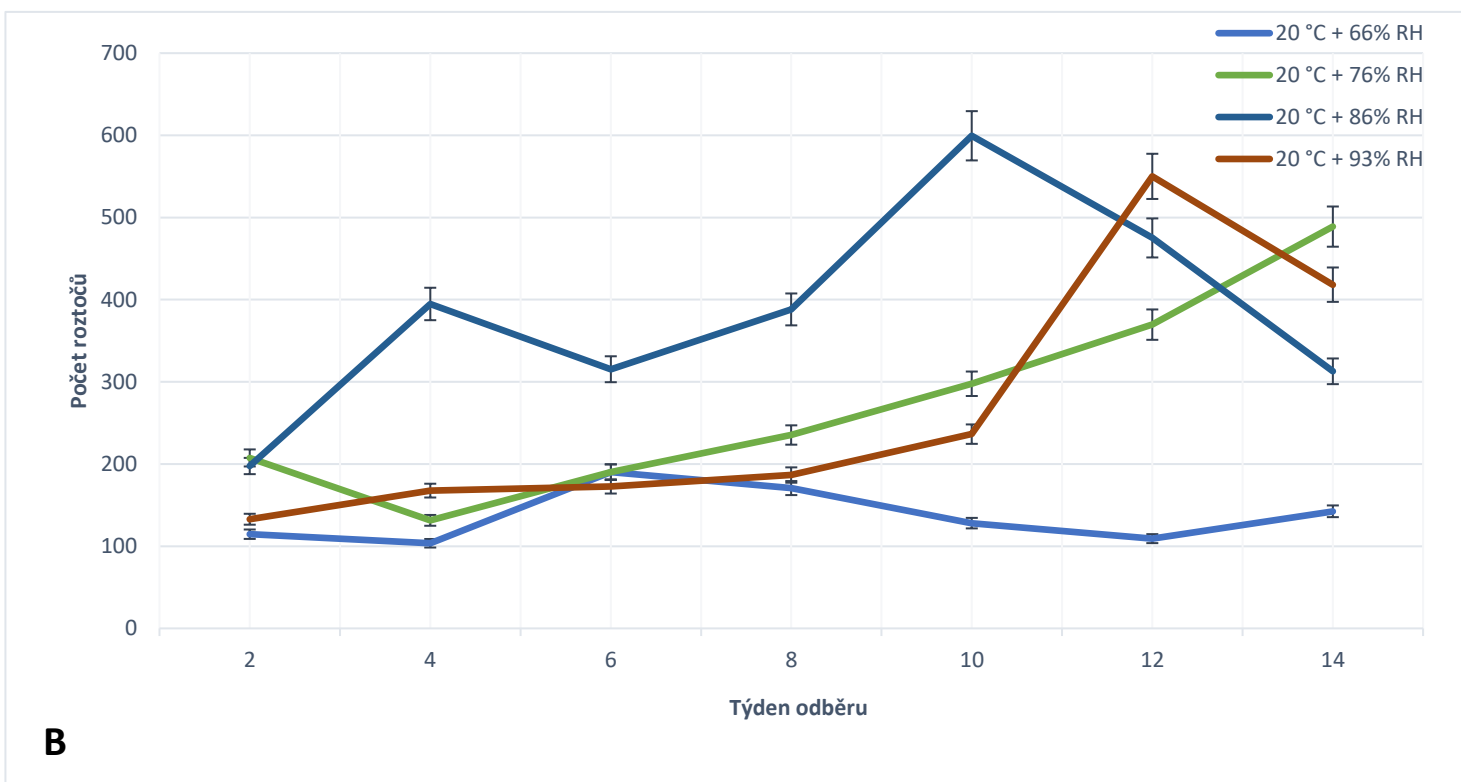
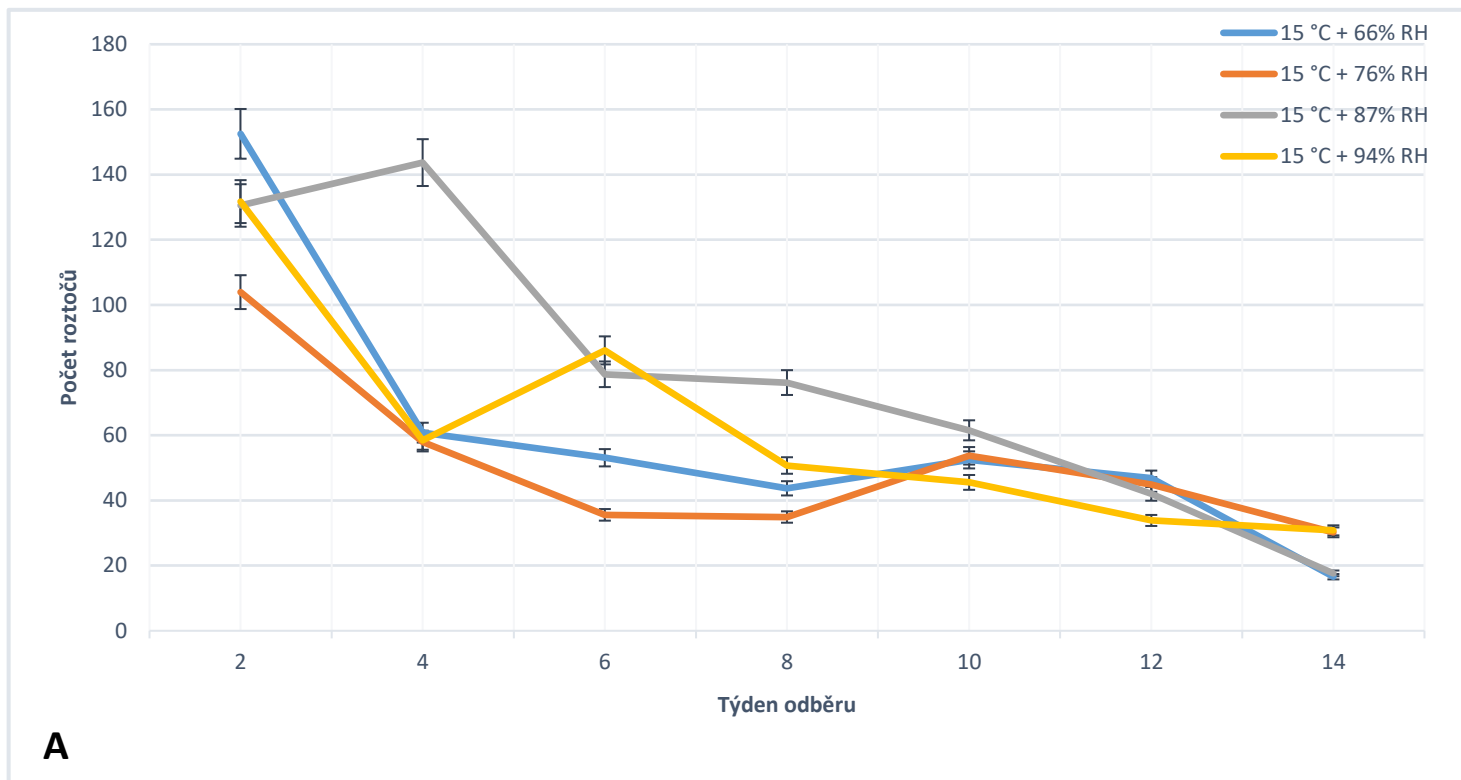
Jak je patrné z Grafu 4 a Tabulky 6, živí roztoči se na konci experimentu (tj. v průběhu 14. týdne) v komůrkách vyskytovali pouze, pokud byli inkubováni při teplotách 15 a 20 °C (v kombinaci se všemi studovanými vlhkostmi). Se zvyšující se teplotou a vlhkostí se poté i zkracovala doba, po níž byli roztoči schopni za daných podmínek přežít. Při extrémních podmínkách 35 °C a 84 a 91% RH nebyli v komůrkách například přítomni živí roztoči již během 3. týdne inkubace (tj. za těchto podmínek byl proveden pouze jeden odběr ve 2. týdnu experimentu).

Nejvyšší populační nárůst byl patný u roztočů inkubovaných při 25 °C a 85% RH. Při vystavení roztočů těmto podmínkám byl v 8. týdnu inkubace průměrně napočítány jejich vůbec nejvyšší počty v rámci všech v experimentu provedených odběrů (viz Graf 4 C). Konkrétně se průměrně jednalo o 1101 jedinců ve vzorku o hmotnosti 12,25 mg. Ačkoliv za těchto podmínek rostly počty roztočů nejvýrazněji, v dané populaci se však nacházeli přeživší jedinci jen po dobu přibližně dvou a půl měsíce (tj. do odběru v 10. týdnu experimentu). Při kontrole mezi odběry v 10. a 12. týdnu experimentu se již za těchto podmínek žádní živí roztoči nenacházeli. V substrátu bylo při ukončení dané části experimentu patrné, že obsahuje velké množství zbytků těl roztočů a jen minimum diety.

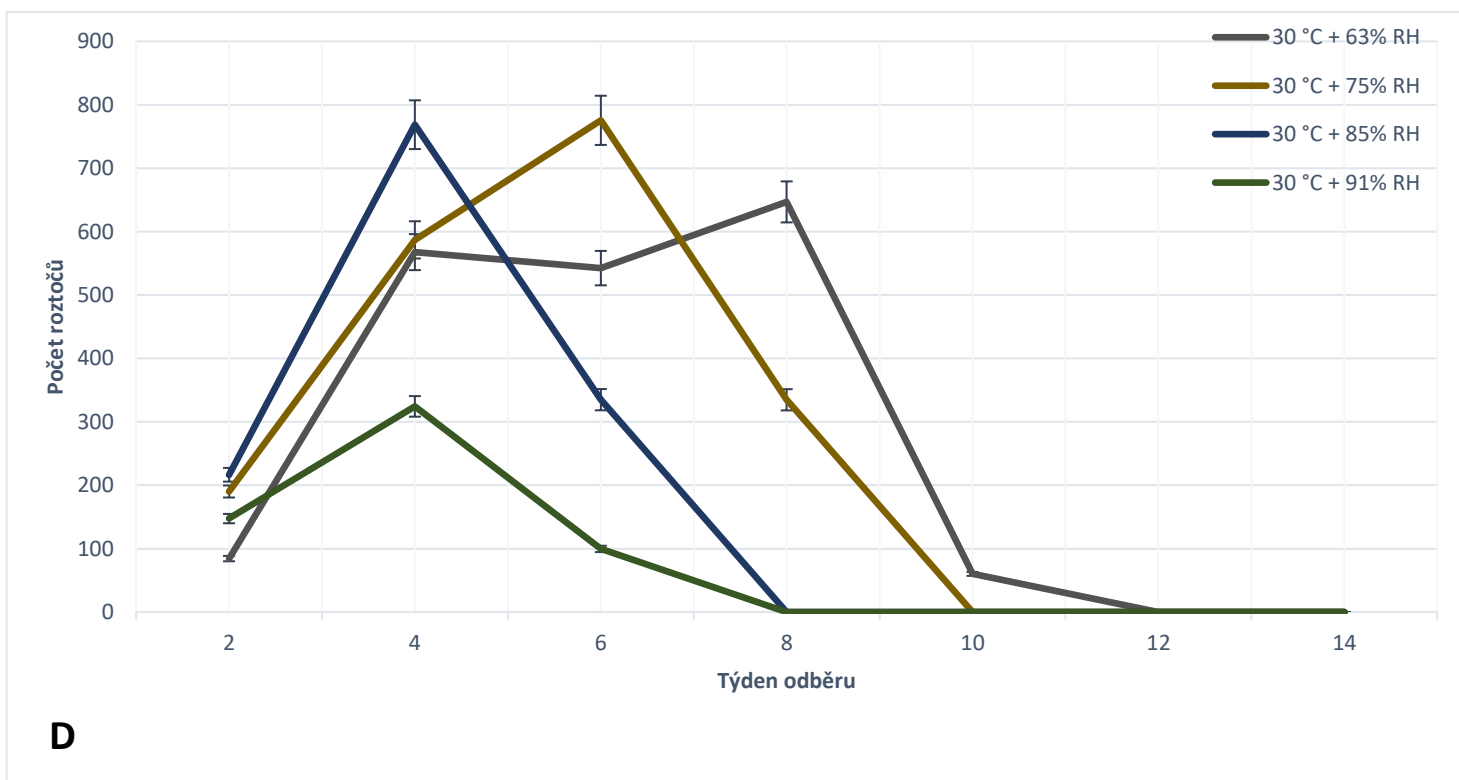
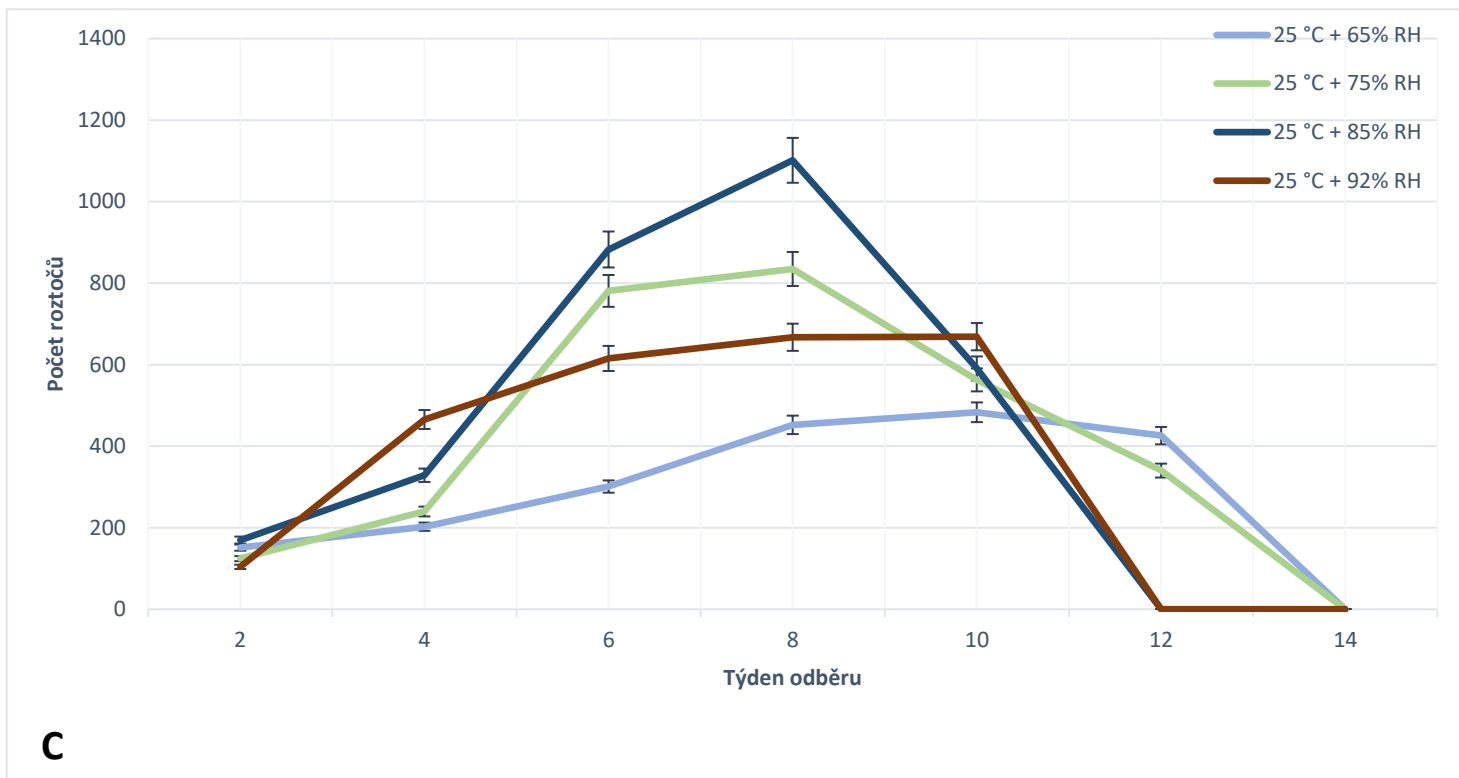
K poměrně vysokému populačnímu nárůstu docházelo u roztočů i při kombinaci podmínek 25 °C a 75% RH. Zde bylo při odběrech v 8. týdnu průměrně napočítáno 835 roztočů na 12,25 mg substrátu. I v tomto případě však musela být tato část experimentu – z výše popsanych důvodů – ukončena předčasně. Konkrétně mezi odběry v 12. a 14. týdnu experimentu (viz Graf 4 C).

**Tabulka 6** – Průměrného množství roztočů ve standardizované navážce 12,25 mg (každý údaj je průměrem z 6 opakování) ± SD (směrodatná odchylka). Roztoči byli chováni v různých kombinacích teplot (15, 20, 25, 30 a 35 °C) a vlhkostí (100, 84-87, 75-76, 62-66 %). Z každé studované kombinace těchto faktorů byl proveden odběr ve 2., 4., 6., 8., 10., 12. a 14. týdnu. Data byla zaokrouhlena. X – při daném odběru již komůrka neobsahovala žádné živé roztoče.

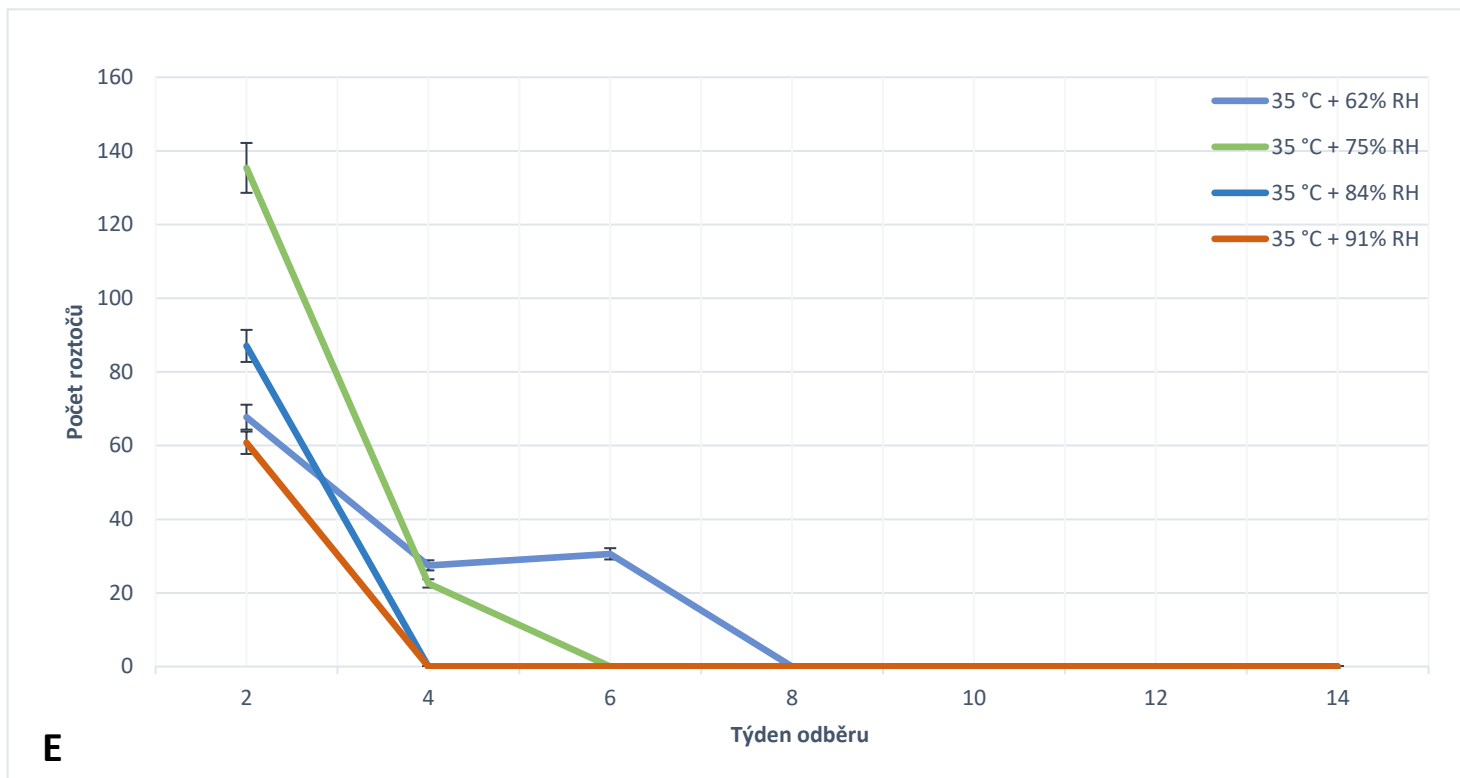
Týden odběru	Teplota (°C) + RH (%)																			
	15				20				25				30				35			
	66	76	87	94	66	76	86	93	65	75	85	92	63	75	85	91	62	75	84	89
2	153 ±	104 ±	131 ±	132 ±	115 ±	207 ±	198 ±	133 ±	151 ±	124 ±	170 ±	104 ±	84 ±	190 ±	217 ±	147 ±	68 ±	135 ±	87 ±	61 ±
	33,2	28,2	19,8	23,4	20,2	49,4	23,1	36,7	49,5	14	54,8	15,2	18,5	27	54,1	18,5	12	23,7	11,3	13,3
4	61 ±	58 ±	144 ±	58 ±	104 ±	131 ±	395 ±	168 ±	203 ±	240 ±	329 ±	466 ±	568 ±	587 ±	769 ±	324 ±	27 ±	23 ±	X	X
	7,9	13,5	25,5	15,5	20,2	20,3	87,6	19	84,8	42,2	35,8	57,4	123,5	125,1	57,2	75,8	7,4	6,9		
6	53 ±	36 ±	79 ±	86 ±	190 ±	190 ±	315 ±	173 ±	301 ±	781 ±	883 ±	615 ±	543 ±	776 ±	335 ±	100 ±	31 ±	X	X	X
	13,9	7,9	11,3	20,6	46,3	50,2	27,2	19,4	56,5	139	41,8	73,3	71,4	173	41,2	27,8	15,2			
8	44 ±	35 ±	76 ±	51 ±	171 ±	235 ±	388 ±	187 ±	452 ±	835 ±	1101 ±	667 ±	647 ±	335 ±	X	X	X	X	X	X
	8,7	5,6	23,3	7,1	17,8	66,3	65,8	50,4	88,6	123,2	65,7	104,4	70,1	43						
10	52 ±	54 ±	62 ±	46 ±	128 ±	298 ±	599 ±	236 ±	483 ±	563 ±	591 ±	669 ±	60 ±	X	X	X	X	X	X	X
	7,1	13	11,4	5,7	17,3	57,9	48,8	32	67,8	48	65	49,1	10,6							
12	47 ±	45 ±	42 ±	34 ±	109 ±	370 ±	475 ±	550 ±	426 ±	340 ±	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	10,2	10,6	6,4	7,1	22,2	60,8	128,8	98	56,1	26,7										
14	17 ±	30 ±	18 ±	31 ±	142 ±	489 ±	313 ±	418 ±	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	7,3	6,1	6,4	6,8	37,8	31,7	75,1	52,5												



**Graf 4 A a B** – Grafické znázornění průměrného množství roztočů ve standardizované navázce 12,25 mg (každý údaj je průměrem ze 6 opakování). Roztoči byli chováni v různých kombinacích: **A** – teploty 15 °C a 66, 76, 87 a 94% RH; **B** – teploty 20 °C a 66, 76, 86 a 93% RH. Z každé studované kombinace těchto faktorů byl proveden odběr ve 2., 4., 6., 8., 10., 12. a 14. týdnu. Úsečky znázorňují odchylky průměru ze 6 opakování.



**Graf 4 C a D** – Grafické znázornění průměrného množství roztočů ve standardizované navážce 12,25 mg (každý údaj je průměrem ze 6 opakování). Roztoči byli chováni v různých kombinacích: **C** – teploty 25 °C a 65, 75, 85 a 92% RH; **D** – teploty 30 °C a 63, 75, 85 a 91% RH. Z komůrek inkubovaných při daných kombinacích těchto faktorů byl proveden odběr ve 2., 4., 6., 8., 10. a 12. týdnu (pokud se v nich v době příslušného odběru nacházeli živí roztoči). Ve 14. týdnu odběru již nebyli v žádné z kombinací 25 a 30 °C a studovaných vlhkostí živí roztoči přítomni. Úsečky znázorňují odchylky průměru ze 6 opakování.



**E**

**Graf 4 E** – Grafické znázornění průměrného množství roztočů ve standardizované navážce 12,25 mg (každý údaj je průměrem ze 6 opakování). Roztoči byli chováni v různých kombinacích teploty 35 °C a 62, 75, 84 a 91% RH. Z komůrek inkubovaných při daných kombinacích těchto faktorů byl proveden odběr ve 2., 4. a 6. týdnu (pokud se v nich v době příslušného odběru nacházeli živí roztoči). V 10, 12. a 14. týdnu odběru již nebyli v žádné z kombinací 35 °C a 62, 75, 84 a 91% RH živí roztoči přítomni. Úsečky znázorňují odchylky průměru ze 6 opakování.

Při teplotě 30 °C (v kombinaci s různými vlhkostmi) docházelo k rychlejšímu populačnímu růstu (a výraznějším rozdílům v počtu roztočů v rámci jednotlivých odběrů), než při teplotách 15 a 20 °C. Jak však již bylo uvedeno výše, přeživší roztoči se při inkubaci ve 30 °C a 63, 75, 85 a 91 % RH nacházeli pouze do odběru provedeného v 10., 8., 6. a 6. týdnu experimentu (viz Graf 4 D).

Zatímco při teplotě 20 °C (v kombinaci s různými vlhkostmi) byl mezi jednotlivými odběry patrný pozvolný nárůst množství roztočů (resp. dosažení jistého vrcholu a pak jejich postupný úbytek), při 15 °C (v kombinaci s různými vlhkostmi) počty roztočů v různých odběrech spíše oscilovaly kolem obdobných nízkých hodnot (viz Graf 4 A a B).

To, že se roztočům daří nejlépe ve vlhkostech kolem 75 a 85 %, bylo patrné ve kombinaci se všemi studovanými teplotami.

## 6. Diskuse

### 6.1. Experiment I. – Preference roztočů *D. farinae* v rámci teplotního gradientu

V první části této diplomové práce byly studovány preference druhu *D. farinae* v prostředí teplotního gradientu (simulujícího prostředí matrace postele). Při experimentu se zapnutým konstantním gradientem se roztoči nejčastěji vyskytovali (a krmili) v teplotním rozmezí 32-36 °C. Tento sektor (32-36 °C) u nich byl nejvíc preferován i ve variantě experimentu se střídáním cyklů teplotního gradientu a pokojové teploty (představujícího periodicky se opakující obsazování matrace postele člověkem) (viz Graf 2 A). Tyto údaje se částečně shodují i s výsledky experimentů s teplotním gradientem, které provedli Hubert a kol. (2010). V designu jejich experimentu byli roztoči téhož druhu vystaveni gradientu v rozsahu 7-42 °C (obsahujícímu neobarvenou dietou v každém sektoru), přičemž preferovali tepelné rozpětí 26-32 °C.

Pretlove a kol. (2001) změřili, že povrch lůžka obsazeného člověkem se vlivem jeho tělesného tepla poměrně rychle zahřívá a již během 1-2 hodin po obsazení dosahuje teploty kolem 35-37 °C. Vrstva matrace nacházející se 1 cm pod povrchem je oproti tomu chladnější (teploty se v ní pohybují mezi 26-28 °C). Ze srovnání těchto jejich dat s výsledky našich experimentů s teplem gradientem lze usuzovat, že by se roztoči mohli preferenčně vyskytovat spíše blízko povrchu matrace, a tudíž i těla v ní setrvávajícího člověka.

Studie zaměřené na stanovení populační hustoty prachových roztočů v různých částech matrace ukazují, že nejvíce jedinců bývá nacházeno v hloubce asi 5-8 mm pod povrchem (Mulla a kol., 1975; de Boer a van der Geest, 1990; de Boer a Kuller, 1994). V této hloubce (5 mm) by se dle dat Pretlove a kol. (2001) mohla teplota pohybovat kolem 32 °C, což by odpovídalo spodní hranici teploty preferované roztoči v našich pokusech. Tato svrchní vrstva matrace by mohla být pro roztoče optimální vzhledem k tomu, že se v ní – na rozdíl od vrstev spodních – koncentruje velké množství organických zbytků sloužících roztočům coby potrava (Hay, 1995; Colloff 2009). Van Bronswijk (1973) např. uvádí, že kožní šupiny se v rámci vertikálního řezu matrací nenacházejí více než 12 mm hluboko.

Je známo, že při konstantní teplotě 28-33 °C bývá vývoj roztočů rodu *Dermatophagoides* urychlen (Arlan a Dippold, 1996; Colloff, 2009; Rezk, 2016), zatímco stále vyšší teploty (kolem 30 °C) nejsou pro jejich dlouhodobý populační růst vhodné (Spieksma, 1967; Farouk a kol., 1983;

Colloff, 2009; Rezk, 2016). Ačkoliv by se fluktuace teplot ve svrchních vrstvách matrace mohla jevit jako jistý kompromis, je otázkou, zda by tyto teplotní výkyvy (na něž odkazují měření provedená Koekkoek a van Bronswijk (1972) a Pretlove a kol. (2001)) nebyly pro vývoj roztočů přeci jen příliš velké. Což uvádějí například i Cunningham (1998) a Dusbabek (1979).

Pretlove a kol. (2001) zjistili, že v kombinovaném teplotně-vlhkostním gradientu (od 18 °C a 90% RH do 28 °C a 50% RH) roztoči druhu *D. pteronyssinus* migrovali do oblastí s vyšší vlhkostí, přestože v nich byla teplota nižší, než by odpovídalo optimu. Taylor (1975), který vystavil prachové roztoče téhož druhu vlhkostnímu gradientu v rozmezí 50-100% RH (při konstantní teplotě 20 °C) naproti tomu uvádí, že se 55 % pozorovaných roztočů shlukovalo v oblastech z vlhkostí nejnižší. Dle Pretlove a kol. (2001) se při obsazení postele člověkem udržuje nejvyšší vlhkost (kolem 65 %) asi 1 cm pod povrchem matrace – což by zároveň přibližně odpovídalo zóně, ve které by se roztočům mělo dařit nejlépe. V našich experimentech byla relativní vlhkost uvnitř aparatury (za využití vodou naplněných centrifugačních zkumavek) udržována v rozmezí 55,1 - 59,1 %. Ačkoliv se jednalo o vlhkost nižší než je ta v hloubce 1 cm pod povrchem obsazeného lůžka (64-67% RH), s vlhkostí ve střední vrstvě matrace (54-59% RH), jak ji popisují Pretlove a kol. (2001), se v podstatě shodovala.

V sektoru s rozpětím 32-36 °C se v průběhu našich experimentů zdržovalo signifikantně největší množství roztočů i v případě, kdy bylo pravidelně simulováno opuštění postele člověkem během dne (tj. při střídání cyklů teplotního gradientu a pokojové teploty) (Graf 2 A). To by mohlo navozovat zdání, že se prachoví roztoči ve své preferované svrchní vrstvě matrace zdržují dlouhodobě a vertikálně migrují spíš jen minimálně. Design našich experimentů (tj. použití různě obarvené diety coby indikátoru rozmístění roztočů) však umožňoval studovat teplotní preference pouze u roztočů, kteří zrovna aktuálně přijímali potravu.

Ačkoliv se mapování pohybu roztočů na základě obarvení jejich střeva příslušnými barvivy ukázalo jako funkční, při vyhodnocování experimentů bylo ve všech variantách experimentu nalézáno poměrně velké procento nezabarvených roztočů, kteří patrně potravu nepřijímali. V případě čtyřadvacetihodinových experimentů (kontrolního měření a pokusu s konstantním gradientem) bylo těchto roztočů 49 %, při pětidenní variantě (se střídavě zapnutým gradientem) se pak tento podíl snížil na přibližně 31 %. (viz Graf 2 B) Proč k tomu docházelo, není zcela jasné. Možných vysvětlení tohoto jevu by mohlo být několik:

- (i) o frekvenci krmení prachových roztočů je toho známo jen velmi málo. Je tedy možné, že čtyřiadvacetihodinová inkubace byla příliš krátká na to, aby roztoči (čerstvě nakrmení v chovných komůrkách) dostatečně vyhladověli a měli „motivaci“ obarvenou dietu konzumovat. Na druhou stranu i po 5 dnech inkubace zůstávala významná část (31 %) studovaných roztočů stále neobarvená.
- (ii) dle Akimova (1985) trvá průchod potravy trávicí soustavou astigmátních roztočů přibližně 3 hodiny. Roztoči, kteří byli při vyhodnocování experimentu klasifikováni coby neobarvení/nenakrmení, tedy mohli být pouze čerstvě po defekaci.
- (iii) v experimentu byli využíváni roztoči všech životních stádií. Je proto možné, že někteří z nich mohli být v době ukončení experimentu těsně po metamorfóze v další vývojový instar, kdy se po dobu přibližně 15 hodin nepohybují ani nekrmí (Arlan a Dippold, 1996; Colloff 2009). Velká část neobarvených roztočů v našich experimentech však pohyb vykazovala. A vzhledem k tomu, že předpokusy prokázaly, že podmínky v gradientu nejsou nikterak extrémní, nezdá se též pravděpodobné, že by roztoči nepřijímali potravu z důvodu tvorby k desikaci odolných stádií protonymfy či tritonymfy (jak u nich tento stav popisují Matsumoto a kol., 1986).
- (iv) dalším z možných vysvětlení je, že roztoči druhu *D. farinae* nevyžadují nutně nepřetržité krmení.

Zatímco byl u roztočů, kteří přijímali potravu, nejvíce preferovaný sektor v teplotním rozmezí 32-36 °C, roztoči potravu nepřijímající se nejčastěji zdržovali v sektoru s rozmezím 19-23 °C s tím, že jejich počty v dalších sektorech se se zvyšující teplotou postupně snižovaly (viz Graf 2 B).

Taylor (1975), který po dobu 4 hodin pozoroval prachové roztoče druhu *D. pteronyssinus* v rámci teplotního gradientu (v rozmezí 12-30 °C při proudění suchého či vlhčeného vzduchu), uvádí, že u nich nezaznamenal žádné teplotní preference s výjimkou vyhýbání se oblastem s teplotou vyšší 25-27 °C. Tyto jeho výsledky jsou sice v rozporu s teplotními preferencemi (32-36 °C) u našich potravu přijímajících roztočů, nemusely by se však tolik lišit od preferencí těch, kteří se v našich experimentech nekrmili (a nejvíce se zdržovali v sektoru s 19-23 °C). Inkubační komora s teplem gradientem v Taylorových (1975) experimentech totiž neobsahovala žádnou potravu, kterou by mohli studovaní roztoči konzumovat. Lze tedy odhadovat, zda by se právě onen fakt příjmu potravy nemohl na tepelných preferencích prachových roztočů nějak spolupodílet.

Schopnost prachových roztočů migrovat v závislosti na hygrotermálních podmínkách bývá zmiňována hned v několika studiích (Dusbabek, 1979; Hay, 1995; Wilkinson a kol., 2002). Mosbech a kol. (1988) či de Boer a van der Geest (1990) například pozorovali stahování těchto roztočů z povrchu matrace do hloubky 3,5-5 cm poté, co byla na povrchu lůžka zapnuta vyhřívaná elektrická dečka. Dle Mailleux a kol. (2011) mohou prachoví roztoči v důsledku nepříznivých podmínek migrovat dokonce i kolektivně.

Z výsledků našich experimentů by se tedy dalo usuzovat, že prachoví roztoči, kteří přijímají potravu, by se mohli preferenčně vyskytovat ve svrchnějších vrstvách matrace, kde nalézají dostatek potravy a vzhledem k opakující se přítomnosti člověka se zde dočasně setkávají i s vyšší teplotou. Toto chování (tj. stahování se do blízkosti teplokrevného obratlovce v době krmení) by se mohlo odkazovat na fakt, že roztoči rodu *Dermatophagoidea* zdědili tuto preadaptaci od svého paraziticky žijícího předka (Klimov a OConnor, 2013).

Roztoči, kteří aktuálně potravu nepřijímají, by se oproti tomu mohli stahovat spíše do hlubších vrstev matrace, kde je stabilnější a (pro jejich vývoj optimální) nižší teplota. A zároveň by zde byli lépe chráněni před možnými disturbancemi.

## 6.2. Experiment II. – Vliv teploty a vlhkosti na metabolismus *D. farinae*

V druhé části této diplomové práce bylo cílem stanovit vliv kombinací různých teplot a vlhkostí na respiraci druhu *D. farinae*, tj. určit, jak bude kombinacemi těchto faktorů ovlivněn jejich metabolismus.

U ektotermních členovců se dá předpokládat, že se stoupající teplotou se bude zvyšovat jejich metabolická aktivita (Schowalter, 2006). Tento trend se v rámci našich experimentů částečně potvrdil – s rostoucí teplotou vykazovali roztoči vyšší respiraci, a to až do teplot 25-30 °C, kdy byl objem jimi vyprodukovaného CO<sub>2</sub> vůbec nejvyšší. Při teplotách 30-35 °C se poté jejich metabolická aktivita opět snižovala, i když zůstávala stále o něco vyšší, než tomu bylo za stejných podmínek např. při 20 °C (viz Graf 3).

Arlian (1975b) pozoroval, že samice druhu *D. farinae* inkubované 22 h při 35 °C (a 75% RH) měly tendenci zabraňovat vysychání skrze snížení permeability své kutikuly a tudíž i redukcí výměny plynů s okolím. Díky tomu dokázaly postupně snížit množství spotřebovaného O<sub>2</sub> takřka dvojnásobně v porovnání s těmi, které byly v témže pokusu vystaveny teplotě 25 °C (a 75% RH) (Arlian, 1975b). Z výše popsaného jevu by tedy šlo usuzovat, že i cca čtyřicetihodinová

inkubace při 35 °C (bez možnosti úniku) znamená pro tyto roztoče jistý stres, při němž se brání ztrátám vody skrze redukci metabolismu.

Ve výše popsaných experimentech s teplotním gradientem naproti tomu vyšel jako roztoči nejvíc preferovaný právě sektor s teplotním rozpětím (32-36 °C). V jeho pětidenní variantě teplota uvnitř každého ze sektorů v průběhu dne fluktovala, roztoči tedy nebyli vystaveni stresu z těchto vysokých teplot kontinuálně. Je však otázka, zda by se v tomto sektoru přednostně zdržovali i v případě, kdyby dosahoval těchto vysokých teplot konstantně po dobu delší než 24 h. Dle Dobsona (1980) by nejvyšší konstantní teplota umožňující přežívání roztočů rodu *Dermatophagoides* mohla být mezi 37–40 °C. To potvrzuje i Murton (2000), který pozoroval při 37 °C a 75% pomalý růst populace druhu *D. pteronyssinus*. Nutno však podotknout, že druh *D. pteronyssinus* je v porovnání s druhem *D. farinae* ohledně tepelných nároků více euryvalentní (Arlan a Dippold, 1996; Colloff, 2009).

V rámci sledovaných kombinací faktorů vyprodukovali roztoči největší objem CO<sub>2</sub>, pokud byli inkubováni v teplotách kolem 25-30 °C (viz Graf 3). Tato naše data se poměrně shodují s výsledky experimentů provedených Hubertem a kol. (2010), ve kterých byla měřena respirace tohoto druhu při dvouhodinové inkubaci v 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 a 45 °C a ~ 100% RH. Dle jejich naměřených dat vykazovali tito roztoči nejvyšší respiraci při 30 °C s tím, že při vyšších a nižších teplotách jejich metabolická aktivita – obdobně jako v našich výsledcích – postupně klesala. Mimo této studie (od Huberta a kol., 2010) však nejsou z dostupných zdrojů známé žádné další práce, které by se vlivu teploty na respiraci astigmátních roztočů věnovaly. V experimentech provedených Klimovem a kol. (2019) či Molvou a kol. (2019) bylo s prachovými roztoči v aparatuře respirometru sice pracováno, jejich primárním cílem však bylo stanovit respiraci s nimi asociovaných mikroorganismů, nikoliv těchto roztočů samotných. Jejich design se od námi provedených experimentů navíc odlišoval natolik, že výsledky nelze příliš porovnávat.

Vzhledem k absenci obdobně zaměřených studií lze výsledky respirace prachových roztočů v našich experimentech srovnávat pouze s jinými projevy metabolismu za obdobných hygrotermálních podmínek – například s rychlostí jejich vývoje. Arlian a Dippold (1996) pozorovali u druhu *D. farinae* zkrácení celkové doby vývoje z 35 na 17 dní při zvýšení teploty z 23 na 30 °C (při 75% RH). Při zvýšení teploty na 35 °C se však již jejich vývoj začal naopak zpomalovat (trval 22 dní), což by odpovídalo trendu pozorovanému v našich experimentech. Dobson (1980) oproti tomu uvádí, že roztoči druhu *D. pteronyssinus* byli při 35 °C (a 80% RH) schopni dosáhnout rychlejšího vývoje, než tomu bylo při 30 °C. Zde je ovšem třeba opět zdůraznit, že ač tyto dva druhy často obývají stejný habitat, jejich tepelné preference se liší (Arlan a Dippold, 1996; Colloff, 2009).

V průměru nejvyšší respiraci (211,41 mg/h) vykazovali v našich experimentech roztoči inkubovaní ve 25 °C v kombinaci s 65% RH (viz Graf 3). 22–25 °C bývá v literatuře často uváděno coby optimální teplotní kompromis, při němž u prachových roztočů dochází k maximální produkci vajíček, minimální mortalitě a zároveň poměrně rychlému vývojovému cyklu (Farouk a kol., 1983; Gamal-Eddin, 1983; Colloff, 2009; Rezk, 2016). 25 °C a 75% RH jsou i podmínky, při nichž jsou ve VÚRV udržovány chovy roztočů, z nichž pocházeli jedinci využití v těchto experimentech. U astigmátních roztočů je známo, že jejich teplotní preference a odolnost vůči stresu mohou být ovlivněny aklimatizací (Colloff, 1987; Fields, 1992; Hubert a kol., 2010; Feichtner a kol., 2018). Dalo by se tedy spekulovat, zda tento fakt mohl mít nějaký vliv také na výsledky našich studií.

Teplota 25 °C, při níž byli roztoči při našich měření nejvíce metabolicky aktivní, je jen o něco málo vyšší, než ta v sektoru s rozpětím 19–23 °C, kde se v rámci teplotního gradientu v předchozím experimentu nejčastěji zdržovali roztoči nepřijímající potravu. To by opět mohlo potvrzovat teorii, že prachoví roztoči se ke svým „metabolickým pochodům“ (tj. například trávení či reprodukci) uchylují spíše do hlubších vrstev matrace, kde je stabilnější a o něco nižší teplota než na jejím povrchu.

Nízkou respiraci prachových roztočů při 10 a 15 °C (viz Graf 3) by mohlo jít pravděpodobně přisuzovat běžnému zpomalení metabolismu členovců při nízkých teplotách, jak tento jev popisují například Mellanby (1939) či Fields (1992). Vůbec nejnižší průměrná produkce CO<sub>2</sub> (26,2 mg/h) u nich byla naměřena poté, co byli inkubováni v „extrémní“ kombinaci nízké teploty 10 °C a 65% vlhkosti (viz Tabulka 4).

Ohledně vlivu samotného faktoru vlhkosti se v našich experimentech neprojevil žádný konkrétní trend. Hodnoty CO<sub>2</sub> vyprodukovaného v závislosti na tomto faktoru poměrně fluktovaly. Výraznější pík byl patrný pouze kolem 65% RH v kombinaci s teplotou 25–30 °C (Viz Graf 3). V souladu s respirací v závislosti na teplotě“ (kdy nejvyšší metabolickou aktivitou reagovali roztoči na teploty představující pro ně optimální podmínky) by se dalo předpokládat, že vysoká respirace bude vycházet spíše u vlhkostí v rozpětí 75–80 % (při teplotách nižších 35 °C), které jsou pro roztoče rodu *Dermatophagoides* optimální (Solarz, 1998; Arlian a kol., 1998b; Colloff, 2009).

Průměrná respirace roztočů při 25 °C a 85% RH však v našich experimentech vyšla naopak poměrně nízká (129,85 mg/h) (viz Tabulka 4). Zcela paradoxní by se poté mohly jevit poměrně vysoké hodnoty respirace u roztočů inkubovaných po dobu 24 h při 35 °C a 65% vlhkosti (viz Tabulka 4). Dle Arliana a Veselici (1981) je totiž při této teplotě kritická rovnovážná vlhkost u druhu *D. farinae* rovna 75% RH - tj. při dlouhodobějším vystavení konstantním vlhkostem nižším 75% RH by se

dalo očekávat, že budou reagovat sníženou metabolickou aktivitou v rámci obranných mechanismů proti dehydrataci (Arlian, 1975b).

Funkčnost experimentálního designu použitého při těchto měření byla prokázána během předpokusů. Příčinou nejasných výsledků by proto mohla být spíše možná narušení celistvosti aparatury či závady používaného materiálu:

- (i) v průběhu jednotlivých měření došlo v důsledku závady k dočasnému vyjmutí/výměně některých částí aparatury respirometru (výměna průtokoměru, redukčního ventilu a lahve se syntetickým vzduchem). Přes snahu o maximální zachování konstantních experimentálních podmínek je možné, že toto narušení celistvosti aparatury mohlo ovlivnit výsledky některých měření.
- (ii) injekční stříkačky použité k inkubaci roztočů byly nové a pocházely z originálních obalů. Již při jejich prvotním promývání syntetickým vzduchem však bylo při stlačení pístu patrné, že některé z nich těsní více než jiné. Ač byly netěsnící stříkačky z experimentu vyřazovány, je možné, že v některých z těch zdánlivě „použitelných“ mohlo docházet ke kontaminaci vzdušným CO<sub>2</sub>/posunům v požadované vlhkosti, a tudíž opět ke zkreslování výsledků měření.
- (iii) předpokladem pro nastolení požadovaných vlhkostních podmínek a následného měření množství CO<sub>2</sub> ve vzorcích bylo dokonalé utěsnění celé aparatury. Jednotlivé promývačky s destilovanou vodou/nasycenými roztoky solí však musely být do aparatury napojovány manuálně (viz Obrázek 6), neboť její stavba neumožňovala jejich sériové zapojení za použití trojcestných ventilů. Přes snahu o opětovné utěsnění a ustálení hladiny CO<sub>2</sub> po každé takovéto výměně mohlo touto cestou teoreticky docházet ke kontaminacím či k plnění některých injekčních stříkaček jinou než požadovanou vlhkostí.

Ačkoliv nejsou výsledky působení faktoru vlhkosti na respiraci roztočů průkazné, teplota jejich metabolismus v našich experimentech signifikantně ovlivňovala. Námi naměřená data navíc poměrně odpovídala obecným znalostem o teplotních preferencích těchto roztočů i výsledkům našich předchozích experimentů s teplotním gradientem.

### 6.3. Experiment III. – Vliv teploty a vlhkosti na populační růst *D. farinae*

V poslední části této diplomové práce bylo cílem analyzovat populační dynamiku roztočů *D. farinae* chovaných po 14 týdnů ve 20 kombinacích konstantní teploty (15, 20, 25, 30 a 35 °C) a vlhkosti (62-66, 75-76, 84-87, 89-94 %).

Při teplotě 35 °C a 75% RH pozorovali Arlian a Dippold (1996), že pouze 2 % jedinců ze studované populace druhu *Dermatophagoides farinae* byla schopna dokončit svůj vývojový cyklus. Přičemž – jak již bylo uvedeno – dle Arliana a Veselici (1981) je při dané teplotě (35 °C) 75% RH u tohoto druhu zároveň rovna kritické rovnovážné vlhkosti. Také při našich experimentech nevykazovali tito roztoči při teplotě 35 °C (a ani jedné z testovaných vlhkostí) žádný populační růst. Přeživší jedinci se v komůrkách inkubovaných za těchto podmínek nacházeli při 62, 75, 84 a 89% RH pouze do 7., 5., 3. a 3. týdne od založení experimentu (viz Graf 4 E). Při vyšších vlhkostech (tj. 84 a 89% RH) byli tito roztoči tedy paradoxně schopni přežít po ještě kratší dobu, než tomu bylo při a pod limitem jejich kritické rovnovážné vlhkosti (tj. 75 a 62% RH). Důvodem mohlo být namnožení některých druhů mikroskopických akaropatogenních hub, které kombinace vyšších vlhkostí a teplot preferují (Hay a kol., 1993; Colloff, 2009; Petrova-Nikitina a kol., 2011). Ačkoliv byl substrát všech komůrek pravidelně protřepáván, hyfy těchto hub v něm byly v době ukončení inkubace v 35 °C patrné. I když se tato vysoká teplota (35 °C) zdá být pro dlouhodobý populační růst prachových roztočů druhu *D. farinae* nevhodná, Colloff (1987) při ní (v kombinaci s 80-85% RH) zaznamenal (z jím studovaných hygrotermálních podmínek) vůbec nejlepší líhivost a nejnižší mortalitu jejich vajíček.

Při opačném teplotním extrému - tj. 15 °C – se v našich experimentech (při všech vlhkostech) nacházeli živí roztoči až do posledního plánovaného odběru ve 14. týdnu od začátku inkubace. Ani při této teplotě (v kombinaci se všemi vlhkostmi) u nich však nedocházelo k populačnímu růstu. Jejich stavy se po celou dobu experimentu držely na trvale nízkých hodnotách (kolem 20-50 jedinců v 12,25 mg navážce) (viz Graf 4 A). Při 16 °C a 75% RH bylo dle Arliana a Dippolda (1996) schopno dokončit vývojový cyklus (z vajíčka až do dospělce) pouze 15 % sledované populace tohoto druhu, což by námi pozorovaný jev opět poměrně potvrzovalo. Pro srovnání: Spiexsma (1967) u populace *D. pteronyssinus* naproti tomu sledoval při 73 dní trvající inkubaci při 17 °C a 80% RH pozvolný populační nárůst. Uvádí však, že počet roztočů se v navážce oproti počátečnímu stavu (20 jedinců) ve „vrcholné“ fázi populačního růstu pouze zdvojnásobil (tj. zvýšil na 40 jedinců). Ačkoliv mají druhy *D. farinae* a *D. pteronyssinus* odlišnou populační dynamiku (Arlian a kol., 1998b; Colloff, 2009), zdá se, že ani jeden z nich není schopen při teplotách 15-17 °C (a libovolné vlhkosti) výraznějšího populačního růstu.

Což by se – minimálně u druhu *D. farinae* – shodovalo i s nízkými hodnotami respirace (metabolismu), které jsme za těchto podmínek pozorovali u roztočů v našich experimentech.

Obecně lze říct, že signifikantní populační růst vykazovali v našich experimentech roztoči inkubovaní v teplotním rozmezí 20–30 °C (v kombinaci se všemi studovanými vlhkostmi). Tento růst byl vůbec nejvyšší při teplotě 25 °C a 85% RH. Při vystavení roztočů těmto podmínkám byly ve vzorcích odebraných v 8. týdnu inkubace napočítány jejich vůbec nejvyšší počty v rámci všech v experimentu provedených odběrů (viz Graf 4 C). Konkrétně se průměrně jednalo o 1101 jedinců ve 12,25 mg navážky, při dalším odběru (provedeném v 10. týdnu inkubace) však již jejich počet poklesl na 591. V 11. týdnu se poté v substrátu žádní živí roztoči již nenacházeli (viz Graf 4 C). Rodríguez a kol. (2021), kteří inkubovali roztoče téhož druhu při 24-26 °C a 75-80 %, naproti tomu uvádí, že k vrcholu jejich populačního růstu (v přepočtu 600 jedinců na 10 mg odebraného substrátu) docházelo až ve 14. týdnu inkubace a živí roztoči byli v jejich experimentu patrní dokonce až do odběru v 18. týdnu. Lze odhadovat, že tyto nuance v rozložení populačního růstu by mohly být způsobeny rozdílným designem experimentů, použitím odlišných laboratorních kmenů roztočů či různým složením diety, jíž byli tito roztoči v průběhu inkubace krmeni (jak uvádí Colloff, 1987; Colloff, 2009).

V 8. týdnu inkubace byl v našich experimentech zaznamenán vrchol populačního růstu také u roztočů vystavených 25 °C a 75% RH. Počty jedinců ve 12,25 mg navážce byly za těchto podmínek (ve srovnání s maximálním populačním růstem při 25 °C a 85% RH) o něco nižší (v průměru kolem 835 jedinců). Stále se však jednalo o druhý nejvyšší populační růst ze všech testovaných kombinací hygrotermálních faktorů. Živí roztoči se v substrátu za těchto podmínek nacházeli až do 13. týdne inkubace (viz Graf 4 C). Yella a kol. (2013) a Ree a kol. (1997) oproti tomu zaznamenali u druhu *D. farinae* (při 25 °C a 75% RH) vrchol populačního růstu v 6. a 10. týdnu inkubace. Dle Ree a kol. (1997) poté byli v kultuře za těchto podmínek patrní živí roztoči dokonce až po dobu 20 týdnů. Tyto rozdíly mohou být způsobeny opět výše popsánymi nuancemi v experimentálním designu.

To, že však prachoví roztoči vykazují ve 25 °C a 75-85% RH – v porovnání s jinými kombinacemi teplot a vlhkostí – nejvýraznější populační růst, naznačují krom výsledků naší studie také data nasbíraná Gamal-Eddinem, 1983; Reem a kol., 1997; Crowtherem a kol., 2006; Yellou a kol., 2011; Yellou a kol., 2013. V našich experimentech byla u druhu *D. farinae* zaznamenána nejvyšší respirace při 25 °C a 65% RH. Jejich populační dynamika při 25 °C a 65% RH se však – na rozdíl od skokového nárůstu při 75 a 85% RH – projevovala spíše pozvolným navyšováním počtů v rámci jednotlivých odběrů.

Při inkubaci v teplotě 30 °C (kombinované se všemi vlhkostmi) byl pro prachové roztoče v našich experimentech typický strmý populační růst (s vrcholem již během 4. týdne inkubace při 85 a 91% RH)

(viz Graf 4 D). Ten mohl, jak již bylo uvedeno výše, souviset s urychlením jejich vývojového cyklu za těchto podmínek (Arlian a Dippold, 1996; Colloff, 2009; Rezk, 2016). Značný populační růst prachových roztočů při 30 °C a 86% RH zaznamenali např. také Crowther a kol. (2006), kteří popisují, že počet jedinců druhu *D. pteronyssinus* se při 21 dní dlouhé inkubaci za těchto podmínek znásobil 19,5 krát. Tento strmý populační nárůst byl však v našich experimentech pouze krátkodobý a maximální počty roztočů při něm nedosahovaly těch v komůrkách inkubovaných při 25 °C. Tento jev by mohl souviset s tím, že u roztočů za těchto podmínek klesá průměrná doba dožívání (Arlian a Dippold, 1996; Rezk, 2016). Stejně tak jako při 25 a 35 °C se se zvyšující vlhkostí i při 30 °C zkracovala doba, po níž byli roztoči schopni za daných podmínek přežít.

Roztoči inkubovaní při 20 °C vykazovali (za všech vlhkostí) populační růst spíše pozvolný. Na rozdíl od těch inkubovaných při 25, 30 a 35 °C však jejich populace při 20 °C přežívaly až do odběru ve 14. týdnu (tj. do doby plánovaného ukončení experimentu) (viz Graf 4 B). Dle Andersena (1988) byli roztoči druhu *D. pteronyssinus* za obdobných podmínek (20 °C 80% RH) schopni přežít dokonce po dobu 22 týdnů. s tím, že jejich počty v rámci jednotlivých odběrů nerostly, spíše fluktovaly kolem podobných hodnot. Také dle Arliana a kol. (1999a) se při 20 °C a 85% RH počty roztočů druhu *D. farinae* v jednotlivých odběrech v průběhu pozorování příliš nelišily. V 10. týdnu inkubace však v kultuře pozorovali výrazný nárůst mikroskopických hub, s nímž jsme se my za těchto podmínek v našich experimentech nesetkali.

S nárůstem mikroskopických hub coby limitujícím faktorem populačního růstu (i samotného přežívání) roztočů jsme se v našich experimentech setkali poměrně často při teplotách 25, 30 a 35 °C (zejména v kombinaci s vyššími vlhkostmi). Dalším z důvodů předčasného ukončení populačního růstu/vymírání kolonií, mohlo být to, že jednotlivé experimentální populace byly zakládány z poměrně velkého počtu roztočů (kolem 30 jedinců ve 12,25 mg navážce). Petrova-Nikitina a kol. (2011) uvádějí, že použití vyššího množství roztočů při zakládání experimentu může vést (v porovnání s menším množstvím jedinců) k výraznému zkrácení růstové fáze, rychlejšímu dosažení maximální populační hustoty a k větší populační hustotě v rámci tohoto maxima. Populace roztočů v našich experimentech (u nichž byl vlivem vystavení vyšším teplotám zkrácen životní cyklus) tedy mohly během poměrně krátké doby dosáhnout své maximální nosné kapacity a v komůrkách být limitovány prostorem nebo množstvím potravy. Populace roztočů inkubované při 20 °C mohly v našich experimentech svým pozvolným růstem tyto „zdroje“ spotřebovávat postupně, a tudíž i v daném prostředí déle přežít. I u nich však při ukončování experimentu v chovném substrátu převažovala mrtvá těla, exkrementy a svlečky roztočů. Dietu neobsahoval skoro žádnou.

Dle Pretlove a kol. (2001) oscilují teploty ve střední vrstvě matrace během jejího „cirkadiálního“ cyklu obsazování/opouštění člověkem kolem 17-23 °C. Což by se i částečně shodovalo s preferencemi

potravu nepřijímajících roztočů (19-23 °C) v rámci našich experimentů s teplem gradientem. V této části matrace dosahuje relativní vlhkost - dle měření Pretlove a kol. (2001) - 54-59 %, zatímco – dle měření Cunninghama (1998) - 64-71 %. Tato vlhkost by se – zejména v podobě, jak ji uvádí Cunningham (1998) – shodovala s tou, v níž roztoči v našich experimentech vykazovali (při teplotách 25-35 °C) nejvyšší respiraci. Nikoliv však už s vlhkostí (kolem 75-85 %), při níž jsme u těchto roztočů (za všech konstantních teplot) pozorovali nejvyšší populační růst/přežívání (viz Graf 4 A-E).

Prachoví roztoči se ve svých přirozených habitatech s konstantní teplotou a vlhkostí prakticky nesetkávají. Je však otázkou, zda by se pro své rozmnožování a vývoj nemohli stahovat do míst, kde RH alespoň na část dne dosahuje o něco vyšších - pro populační růst roztočů příznivějších - hodnot (jak by tomu naznačovaly i výsledky Arliana a kol., 1999a a Arliana a kol., 1999b). Takováto místa by se v matraci (dle dat Cunninghama, 1998 a Pretlove a kol., 2001) mohla nacházet někde mezi jejím středem a 1 cm pod povrchem. Teplota by v těchto místech nemusela dosahovat tak vysokých hodnot jako ve svrchní vrstvě matrace a na jejím povrchu. Zároveň by se však aspoň částečně prolínala s hodnotami kolem 25 °C, při nichž tyto roztoči vykazují vysokou metabolickou aktivitu i populační růst (dle výsledků našich i dalších výše zmiňovaných studií).

Výsledky všech tří částí této diplomové práce naznačují tomu, že optimem pro stabilní a dlouhodobý populační růst prachových roztočů druhu *D. farinae* by mohly být nižší teploty 20-25 °C v kombinaci se 75-85% RH (což uvádí i většina dostupné literatury). Při inkubaci za těchto podmínek vykazují tyto roztoči také i poměrně vysokou metabolickou aktivitu (reprezentovanou v našich experimentech vysokými hodnotami respirace). V rámci jejich přirozeného habitatu se s těmito optimálními hygrotermálními podmínkami mohou roztoči setkat spíše v hlubších, od těla spícího člověka vzdálenějších vrstvách matrace.

Chování druhu *D. farinae* v konstantním i fluktuujícím teplotním gradientu naopak naznačuje, že prachoví roztoči, kteří přijímají potravu, migrují do svrchnějších vrstev matrace, kde se poté zdržují v blízkosti člověka. Tento jev (tj. stahování se do blízkosti „hostitele“ v době příjmu potravy) by mohl odkazovat na preadaptaci zděděnou od jejich parazitických předků.

## 7. Závěr

- Na základě obarvené potravy a následné analýzy zbarvení střeva bylo zjištěno, že roztoči druhu *Dermatophagoides farinae* v rámci 24 h trvajících teplotního gradientu (19-41 °C) přijímali nejčastěji potravu v teplotním sektoru 32-36 °C (při 55-59% RH). Stejný sektor u nich byl preferován i v případě pětidenního experimentu střídajícího teplotní gradient (8 h) a pokojovou teplotu (16 h), který simuloval cyklické obsazování a opouštění lůžka člověkem.
- V obou variantách experimentu s teplem gradientem bylo zjištěno i poměrně velké množství roztočů (v případě čtyřadvacetihodinových experimentů 49 % a při pětidenní variantě se střídavě zapnutým gradientem 31 %), kteří nepřijímali potravu v žádném ze sektorů. Největší množství těchto roztočů se v obou variantách experimentu zdržovalo v sektoru s nejnižším teplotním rozpětím 19-23 °C (při 55-59% RH).
- Při čtyřadvacetihodinové inkubaci v různých kombinacích teplot a vlhkostí vykazovali roztoči druhu *D. farinae* nejvyšší respiraci při teplotách 25-30 °C. Objem jimi vyprodukovaného CO<sub>2</sub> byl největší při 25 °C a 65% RH. Vliv samotného faktoru vlhkosti se nám však v tomto experimentu nepodařilo dostatečně prokázat.
- Při analýze populační dynamiky roztočů *D. farinae* chovaných po 14 týdnů ve 20 různých kombinacích konstantní teploty a vlhkosti byl patrný nejvyšší a zároveň stabilní populační růst u kolonií inkubovaných při 25 °C a 85% RH. Signifikantní populační růst však vykazovaly všechny kolonie inkubované v teplotním rozmezí 20–30 °C (v kombinaci se všemi studovanými vlhkostmi – tj. v RH v rozmezí 63-66; 75-76; 85-86 a 91-93 %). Při všech studovaných teplotách prospívali nejlépe roztoči vystavení 75-85% RH.
- Výsledky našich experimentů lze interpretovat tak, že v rámci matrace se potravu přijímající roztoči přednostně vyskytují v relativní blízkosti jejího povrchu, který je zahříván (při pravidelném obsazování lůžka) teplotou lidského těla (a to až k hodnotám blízkým 32-36 °C). Roztoči, kteří aktuálně potravu nepřijímají, pravděpodobně migrují do hlubších vrstev matrace, kde se mohou aspoň po část dne setkávat s nižšími teplotami (20-25 °C) a vyšší vlhkostí (kolem 75% RH) optimální pro jejich vývoj, reprodukci a populační růst.

## 8. Seznam použité literatury

- Acevedo, N., Zakzuk, J., and Caraballo, L. (2019). House dust mite allergy under changing environments. *Allergy, Asthma and Immunology Research*, 11(4), pp. 450–469. <https://doi.org/10.4168/aaair.2019.11.4.450>
- Akimov, I. A. (1985). [Biological foundations of harmfulness of acaroid mites], 1st edition. Naukova Dumka, Kiev, Ukraine. p. 100. ISBN: 595-427-59I-43-59I-53-576-744. (in Russian)
- Alexander, A., Fall, N. and Arlian, L. (2002). Mating and fecundity of *Dermatophagoides farinae*. *Experimental and Applied Acarology*, 26(1–2), pp. 79–86. doi: 10.1023/A:1020920320439
- Andersen, A. (1988). Population growth and developmental stages of the house dust mite, *Dermatophagoides pteronyssinus* (Acari: Pyroglyphidae). *Journal of Medical Entomology*, 25(5), pp. 370–373. <https://doi.org/10.1093/jmedent/25.5.370>
- Arlian, L. G. (1975a). Dehydration and survival of the European house dust mite, *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Journal of Medical Entomology*, 12(4), pp. 437–442. doi: 10.1093/jmedent/12.4.437.
- Arlian, L. G., Brandt, R. L., and Bernstein, R. (1978). Occurrence of house dust mites, *Dermatophagoides* spp. (Acari: Pyroglyphidae), during the heating season. *Journal of Medical Entomology*, 15(1), pp. 35–42. <https://doi.org/10.1093/jmedent/15.1.35>
- Arlian, L. G. a Veselica, M. M. (1981). Reevaluation of the humidity requirements of the house dust mite *Dermatophagoides farinae* (Acari: Pyroglyphidae). *Journal of Medical Entomology*, 18(4), pp. 351–352. doi: 10.1093/jmedent/18.4.351.
- Arlian, L. G. (1992). Water balance and humidity requirements of house dust mites. *Experimental and Applied Acarology*, 16(1–2), pp.15–35. doi: 10.1007/BF01201490.
- Arlian, L. G., Neal, J. S. and Bacon, S. W. (1998a). Survival, fecundity, and development of *Dermatophagoides farinae* (Acari: Pyroglyphidae) at fluctuating relative humidity. *Journal of Medical Entomology*, 35(6), pp. 962– 966. doi: 10.1093/jmedent/35.6.962.
- Arlian, L. G., Confer, P. D., Rapp, C. M., Vyszenski-Moher, D. L. and Chang, J. C. S. (1998b). Population dynamics of the house dust mites *Dermatophagoides farinae*, *D. pteronyssinus*, and *Euroglyphus maynei* (Acari: Pyroglyphidae) at specific relative humidities. *Journal of Medical Entomology*, 35(1), pp. 46–53. doi: 10.1093/jmedent/35.1.46.
- Arlian, L. G. and Dippold, J. S. (1996). Development and fecundity of *Dermatophagoides farinae* (Acari: Pyroglyphidae). *Journal of Medical Entomology*, 33(2), pp. 257–260. doi: 10.1093/jmedent/33.2.257.
- Arlian, L. G. Neal, J. S., Morgan, M. S., Vyszenski-Moher, D. L., Rapp C. M. and Alexander A. K. (2001). Reducing relative humidity is a practical way to control dust mites and their allergens in homes temperate climates. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 107(1), pp. 99–104. doi: 10.1067/mai.2001.112119.
- Arlian, L. G., Neal, J. S. and Vyszenski-Moher, D. L. (1999a). Reducing relative humidity to control the house dust mite *Dermatophagoides farinae*. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 104(4 I), pp. 852–856. [https://doi.org/10.1016/S0091-6749\(99\)70298-8](https://doi.org/10.1016/S0091-6749(99)70298-8)
- Arlian, L. G., Neal, J. S. and Vyszenski-Moher, D. L. (1999b). Fluctuating hydrating and dehydrating relative humidities effects on the life cycle of *Dermatophagoides farinae* (Acari: Pyroglyphidae). *Journal of Medical Entomology*, 36(4), pp. 457–461. <https://doi.org/10.1093/jmedent/36.4.457>

- Arlian, L. G. and Platts-Mills, T. A. E. (2001). The biology of dust mites and the remediation of mite allergens in allergic disease. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 107(3 SUPPL.), pp. 406–413. <https://doi.org/10.1067/mai.2001.113670>
- Arlian, L. G. and Wharton, G. W. (1974). Kinetics of active and passive components of water exchange between the air and a mite, *Dermatophagoides farinae*. *Journal of Insect Physiology*, 20(6), pp. 1063–1077. doi: 10.1016/0022-1910(74)90148-6
- Arlian, L. G. (1975b). Water exchange and effect of water vapour activity on metabolic rate in the dust mite, *Dermatophagoides*. *Journal of Insect Physiology*. 21(8), pp. 1439-1442. doi: 10.1016/0022-1910(75)90204-8.
- Arlian, L. G., Morgan, M. S. and Neal, J. S. (2002). Dust mite allergens: Ecology and Distribution. *Current Allergy and Asthma Reports*, 2, pp. 401–411. <https://doi.org/10.1002/hrdq.3920060410>
- Blythe, M. E. (1976). Aspects of the ecological study of the house dust mites. *British Journal of Diseases of the Chest*. 70(3), pp. 3–31. [https://doi.org/10.1016/0007-0971\(76\)90003-6](https://doi.org/10.1016/0007-0971(76)90003-6)
- Brandt, R. L. and Arlian, L. G. (1976). Mortality of house dust mites, *Dermatophagoides farinae* and *D. pteronyssinus*, exposed to dehydrating conditions or selected pesticides. *Journal of Medical Entomology*, 13(3), pp. 327–331. <https://doi.org/10.1093/jmedent/13.3.327>
- Calderón, M. A., Linneberg, A., Kleine-Tebbe, J., de Blay, F., de Rojas, D. H. F., Virchow, J. C. and Demoly, P. (2015). Respiratory allergy caused by house dust mites: What do we really know? *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 136(1), pp. 38–48. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2014.10.012>
- Chang, J. C. S. (1998) Survival of the house dust mite, *Dermatophagoides farinae*, at high temperatures (40-80 °C), *Indoor Air*, 8(1), pp. 34–38. doi: 10.1111/j.1600-0668.1998.t01-3-00005.x.
- Colloff, M. J. (1987) Effects of temperature and relative humidity on development times and mortality of eggs from laboratory and wild populations of the European house-dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus* (Acari: Pyroglyphidae), *Experimental and Applied Acarology*, 3(4), pp. 279–289. doi: 10.1007/BF01193165.
- Colloff, M. J. (1998). Distribution and abundance of dust mites within homes. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology, Supplement*, 53(48), pp. 24–27. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.1998.tb04992.x>
- Colloff, M. J. (2009). Dust Mites, 1st edition. CSIRO Publishing, Collingwood, VIC, pp. 77-78, 105, 119-123, 125, 130, 139, 148-157, 164-166, 173-177, 216-218, 238, 260, 266-169, 244, 255-260, 273-284. ISBN: 978-0-643-10049-7.
- Crowther, D, Oreszczyn, T., Pretlove, S., Ridley, I., Horwood, J., Cox, P. and Leung, B. (2001). Controlling house dust mites through ventilation: the development of a model of mite response to varying hygrothermal conditions. In: Biocontaminants de l'air intérieur: Effets sur la santé et prévention, International Society of the Built Environment, Dijon, France. 15. 6. 2001
- Crowther, D., Horwood, J., Baker, N., Thomson, D., Pretlove, S., Ridley I. and Oreszczyn, T. (2000). House dust mites and the built environment: A literature review. Report for the EPSRC project "A Hygrothermal Model for Predicting House-DustMite Response to Environmental Conditions in Dwellings". The Bartlett, UCL, London, United Kingdom.
- Crowther, D., Wilkinson, T., Biddulph, P., Oreszczyn, T., Pretlove, S. and Ridley, I. (2006) A simple model for predicting the effect of hygrothermal conditions on populations of house dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus* (Acari: Pyroglyphidae), *Experimental and Applied Acarology*, 39(2), pp. 127–148. doi: 10.1007/s10493-006-9003-8.
- Cunningham, M. J. (1998). Direct measurements of temperature and humidity in dust mite microhabitats. *Clinical and Experimental Allergy*, 28(9), pp. 1104–1112. <https://doi.org/10.1046/j.1365->

- de Boer, R., and Kuller, K. (1997). Mattresses as a winter refuge for house dust mite populations. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 52(3), pp. 299–305.  
<https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.1997.tb00994.x>
- de Boer, R., and van der Geest, L. P. (1990). House-dust mite (Pyroglyphidae) populations in mattresses, and their control by electric blankets. *Experimental and Applied Acarology*, 9(1–2), pp. 113–122.  
<https://doi.org/10.1007/BF01198989>
- de Oliveira, C. H., Binotti, R. S., Muniz, J. R. O., dos Santos, J. C., Do Prado, A. P., and de Pinho, A. J. (2003). Comparison of house dust mites found on different mattress surfaces. *Annals of Allergy, Asthma and Immunology*, 91(6), pp. 559–562. [https://doi.org/10.1016/S1081-1206\(10\)61534-7](https://doi.org/10.1016/S1081-1206(10)61534-7)
- Dobson, R. M. (1980.) Some effects of microclimate on the longevity and development of *Dermatophagoides pteronyssinus* (Trouessart). *Acarologia*, 21(3–4), pp. 482–486.
- Dusbabek, F. (1979) Dynamics and structure of mixed populations of *Dermatophagoides farinae* and *D. pteronyssinus*. In: Rodriguez, J. G. (ed) (1979). Recent Advances In Acarology. Vol. II, 1st edition. Academic Press, New York, NY, pp. 173-177. ISBN: 9781483275543.
- Eraso, E., Martínez, J., García-Ortega, P., Martínez, A., Palacios, R., Cisterna, R. and Guisantes, J. A. (1998). Influence of mite growth culture phases on the biological standardization of allergenic extracts. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 8(4), pp. 201–206.
- Erban, T., and Hubert, J. (2008). Digestive function of lysozyme in synanthropic acaridid mites enables utilization of bacteria as a food source. *Experimental and Applied Acarology*, 44(3), pp. 199–212.  
<https://doi.org/10.1007/s10493-008-9138-x>
- Feichtner, C. R., Arlian, L. G., Morgan, M. S. and Vyszynski-Moher, D. A. L. (2018). Home freezers kill house dust mites. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 141(1), pp. 451–454.  
<https://doi.org/10.1016/j.jaci.2017.09.028>
- Fernández-Caldas, E., and Lockey, R. F. (2004). *Blomia tropicalis*, a mite whose time has come. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 59(11), pp. 1161–1164.  
<https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2004.00727.x>
- Fields, P. G. (1992) The control of stored-product insects and mites with extreme temperatures, *Journal of Stored Products Research*, 28(2), pp. 89–118. doi: 10.1016/0022-474x(92)90018-1.
- Gamal-Eddin, F. M., Shehata, K. K., Tayel, S. E., Abou-Sinna, F. M., Aboul-Atta, A. M., Seif, A. I., Imam, M. H. and Hafez, A. H (1983). Duration of the developmental stages of house dust mites *Dermatophagoides farinae* and *D. pteronyssinus* under control conditions, to pave the way in front of the workers in field of house dust mite asthmatic bronchitis; 2 - Oviposition period, fecundity and oval duration. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, 13(2), pp. 557-581.
- Gamal-Eddin, F. M., Shehata, K. K., Tayel, S. E., Abou-Sinna, F. M., Aboul-Atta, A. M., El-Ahmedaawy, B. A., Fayed, M. A., Imam, M. H. and Hafez, A. H (1983). Duration of the developmental stages of house dust mites *Dermatophagoides farinae* and *D. pteronyssinus* under control conditions, to pave the way in front of the workers in field of house dust mite asthmatic bronchitis; 3 - Larval duration. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, 13(2), pp. 583-595.
- Hart, B. J., Crowther, D., Wilkinson, T., Biddulph, P., Ucci, M., Pretlove, S., Ridley, I. and Oreszczyn, T. (2007) Reproduction and development of laboratory and wild house dust mites (Acari: Pyroglyphidae) and their relationship to the natural dust ecosystem, *Journal of Medical Entomology*, 44(4), pp. 568–574.  
 doi: 10.1603/0022-2585(2007)44[568:radola]2.0.co;2.

- Hay, D. B. and Douglas, A. E. and Hart, B. J. (1993). Effects of the fungus *Aspergillus penicillioides* on the house dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus*: an experimental re-evaluation. *Medical and Veterinary Entomology*, 7(3), pp. 271-274. doi: 10.1111/j.1365-2915.1993.tb00687.x.
- Hay, D. B. (1995). An in situ coring technique for estimating the population size of house dust mites in their natural habitat. *Acarologia*, 36(4), pp. 341-345.
- Hubert, J., Pekár, S., Nesvorná, M. and Šustr, V. (2011) Temperature preference and respiration of acaridid mites, *Journal of Economic Entomology*, 103(6), pp. 2249–2257. doi: 10.1603/ec10237.
- Ju, H. L. (2012). Acaricidal and allergen-denaturing activities of *Pinus densiflora* needle oil and *Hovenia dulcis* constituents against *Dermatophagoides farinae*. A thesis for the degree of masters of science. Seoul National University, Seoul, p. 4.
- Klimov, P. B. and OConnor, B. (2013) Is permanent parasitism reversible? – Critical evidence from early evolution of house dust mites, *Systematic Biology*, 62(3), pp. 411–423. doi: 10.1093/sysbio/syt008.
- Klimov, P. B., Molva, V., Nesvorna, M., Pekar, S., Shcherbachenko, E., Erban, T. and Hubert, J. (2019). Dynamics of the microbial community during growth of the house dust mite *Dermatophagoides farinae* in culture. *FEMS Microbiology Ecology*, 1;95(11), fiz153. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiz153>
- Koekkoek, H. H. M. and Bronswijk, J. E. M. H. (1972) Temperature requirements of a house-dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus* compared with the climate in different habitats of houses, *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 15(4), pp. 438–442. doi: 10.1111/j.1570-7458.1972.tb00231.x.
- Kuller, K. and de Boer, R. (1994). House dust mites (*Dermatophagoides pteronyssinus*) in mattresses Vertical distribution. *Proceedings of Experimental and Applied Entomology*, 5, pp. 129-130.
- Lloyd, C. M. and Gregory, L. G. (2011). Orchestrating house dust mite-associated allergy in the lung. *Trends in Immunology*. 32(9), 402–411. doi: 10.1016/j.it.2011.06.006.
- Mailleux, A. C., Astudillo Fernandez, A., Martin, G. S., Detrain, C. and Deneubourg, J. L. (2011). Collective migration in house dust mites. *Ethology*, 117(1), 72–82. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0310.2010.01845.x>
- Matsumoto, K., Okam, M. and Wada, Y. (1986) [Effect of relative humidity on life cycle of the house dust mites, *Dermatophagoides farinae* and *D. pteronyssinus*], *Medical Entomology and Zoology*, 37(1), pp.79–90. doi: 10.7601/mez.37.79. (in Japanese)
- McDonald, L., and Tovey, E. (1992). The role of water temperature and laundry procedures in reducing house dust mite populations and allergen content of bedding. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 90(4 PART 1), pp. 599–608. [https://doi.org/10.1016/0091-6749\(92\)90132-L](https://doi.org/10.1016/0091-6749(92)90132-L)
- Mellanby, K. (1939). Low temperature and insect activity. *Royal Society*, 127 (849), pp. 473-487. <https://doi.org/10.1098/rspb.1939.0035>
- Mollet, J. A., and Robinson, W. H. (1996). Dispersal of American house dust mites (Acari: Pyroglyphidae) in a residence. *Journal of Medical Entomology*. 33, pp. 844–847. doi:10.1093/JMEDENT/33.5.844
- Molva, V., Nesvorna, M. and Hubert, J. (2019). Feeding interactions between microorganisms and the house dust mites *Dermatophagoides pteronyssinus* and *Dermatophagoides farinae* (Astigmata: Pyroglyphidae). *Journal of Medical Entomology*, 56(6), pp. 1669–1677. <https://doi.org/10.1093/jme/tjz089>
- Mosbech, H., Korsgaard, J., and Lind, P. (1988). Control of house dust mites by electrical heating blankets. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 81(4), pp. 706–710. [https://doi.org/10.1016/0091-6749\(88\)91042-1](https://doi.org/10.1016/0091-6749(88)91042-1)
- Mounsey, K. E., Willis, C., Burgess, S. T. G., Holt, D. C., McCarthy, J. and Fischer, K. (2012).

Quantitative PCR-based genome size estimation of the astigmatid mites *Sarcoptes scabiei*, *Psoroptes ovis* and *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Parasites and Vectors*, 5(1), pp. 1–7. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-3>

Mulla, M. S., Harkrider, J. R., Galan, S. P., and Amin, L. (1975). Some house dust control measures and abundance of *Dermatophagoides* mites in Southern California (Acari: Pyroglyphidae). *Journal of Medical Entomology*, 12(1), pp. 5–9. <https://doi.org/10.1093/jmedent/12.1.5>

Murton, J. J. and Madden, J. L. (2000). Observations on the biology, behaviour and ecology of the house-dust mite, *Dermatophagoides pteronyssinus* (Trouessart) (Acarina: Pyroglyphidae) in Tasmania. *Australian Journal of Entomology*, 16(3), pp. 281–287. <https://doi.org/10.1111/j.1440-6055.1977.tb00104.x>

Naegele, A., Reboux, G., Scherer, E., Roussel, S. and Millon, L. (2013) Fungal food choices of *Dermatophagoides farinae* affect indoor fungi selection and dispersal, *International Journal of Environmental Health Research*, 23(2), pp. 91–95. doi: 10.1080/09603123.2012.699029.

Paul, T. C. and Sinha, R. N. (1972) Low-temperature survival of *Dermatophagoides farinae*, *Environmental Entomology*, 1(5), pp. 547–549. doi: 10.1093/ee/1.5.547.

Pekár, S. and Brabec, M. (2017). Generalized estimating equations : A pragmatic and flexible approach to the marginal GLM modelling of correlated data in the behavioural sciences. *Ethology*, 124(2), pp. 86-93. <https://doi.org/10.1111/eth.12713>

Petrova-Nikitina, A. D., Antropova, A. B., Bilanenko, E. N. and Mokeeva, V. L. (2011). Population dynamics of mites of the family Pyroglyphidae and micromycetes in laboratory cultures. *Entomological Review*, 91(3), pp. 377-387. <https://doi.org/10.1134/S0013873811030134>

Pretlove, S. E. C., Ridley, I., Horwood, J. A., Leung, B., Cox, P., Thomson, D., Baker, N., Crowther, D. and Oreszczyn, T. (2001). A combined transient hygrothermal and population model of house dust mites in beds. IAQ 2001: Moisture, Microbes and Health Effects: Indoor Air Quality and Moisture in Buildings, ASHRAE, San Francisco, USA. 4.-7. 11. 2001

R Development Core Team (2017). R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna

Ree, H., Leei, I. Y., Kim, T. E., Jeon, S. H and Hong, C. (1997). Mass culture of house dust mites, *Dermatophagoides farinae* and *D. pteronyssinus* (Acari: Pyroglyphidae). *Medical Entomology and Zoology* 48(2), pp. 109-116. DOI:10.7601/mez.48.109.

Rezk, H. A. (2016) Influence of temperature on life history parameters of the American house dust mite, *Dermatophagoides farinae*, Hughes (Acari: Pyroglyphidae), *Alexandria Journal of Agricultural Research*, 49(3), pp. 25 – 31.

Rodríguez, D., Palacios, R., Martínez, J., Guisantes, J. A. and Postigo, I. (2021). Kinetics of *Dermatophagoides pteronyssinus* and *Dermatophagoides farinae* growth and an analysis of the allergen expression in semi-synthetic culture medium. *Acarologia*, 61(2), pp. 403–411. <https://doi.org/10.24349/acarologia/20214439>

Schowalter, T. D. (2006) *Insect Ecology. An Ecosystem Approach*, 2<sup>nd</sup> edition. Elsevier, Amsterdam, p. 34. ISBN: 978-0-12-088772-9.

Schroerer, R., Kaldorf, M., Praetorius, F. and Winkens, A. (2008). Distribution of the house dust mite allergens Der f1 and Der p1 in carpets, mattresses and upholstered furniture. *Allergologie*, 31(5), pp. 170-175.

- Solarz, K. (1998). The allergenic acarofauna of house dust from dwellings, hospitals, libraries and institutes in Upper Silesia (Poland). *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 5(1), pp. 73–85.
- Spieksma, F. T. (1967) The house dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus* (Trouessart 1897), producer of the house dust allergens (Acari: Psoroptidae). A thesis for the degree of doctor of science. Leiden University, Leiden, pp. 26–27, 30, 33, 37–38.
- Spieksma, F. T. M. (1997). Domestic mites from an acarologic perspective. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 52(4), pp. 360–368. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.1997.tb01012.x>
- Taylor, R. N. (1975). Contributions to the biology and ecology of house dust mites. A thesis for the degree of Ph.D..University of Glasgow, Glasgow, United Kingdom, pp. 50-52; 57-58; 79
- Thomas, W. R. (2010). Geography of house dust mite allergens. *Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology*, 28 (4), pp. 211–224.
- Vackova, T., Pekar, S., Klimov, P. B. and Hubert, J. (2021). Sharing a bed with mites: preferences of the house dust mite *Dermatophagoides farinae* in a temperature gradient. *Experimental and Applied Acarology*, 84(4), pp. 755–767. <https://doi.org/10.1007/s10493-021-00649-9>
- van Asselt, L. (1999). Interactions between domestic mites and fungi. *Indoor and Built Environment*, 8(4), pp. 216–220. <https://doi.org/10.1177/1420326X9900800402>
- van Bronswijk, J. E. (1973). *Dermatophagoides pteronyssinus* (Trouessart, 1897) in mattress and floor dust in a temperate climate (Acari: Pyroglyphidae). *Journal of Medical Entomology*, 10(1), pp. 63–70. <https://doi.org/10.1093/jmedent/10.1.63>
- van Bronswijk, J. E. M. H., Drs, B. and Sinha, R. N. (1971). Pyroglyphid mites (Acari) and house dust allergy. A review, *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 47(1), pp. 31–52. doi: 10.1016/S0091-6749(71)80315-9.
- van Bronswijk, J. E. M. H., Schoonen, J. M. C. P., Berlie, M. A. F. and Lukoschus, F. S. (1971) On the abundance of *Dermatophagoides pteronyssinus* (Trouessart, 1897) (Pyroglyphidae: Acarina) in house dust, *Researches on Population Ecology*, 13(1), pp. 67–79. doi: 10.1007/BF02522014.
- Vidal-Quist, J. C., Ortego, F., Lombardero, M., Castañera, P. and Hernández-Crespo, P. (2015). Allergen expression in the European house dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus* throughout development and response to environmental conditions. *Medical and Veterinary Entomology*, 29(2), pp. 137–146. <https://doi.org/10.1111/mve.12102>
- Wharton, G. W. and Furumizo, R. T. (1977). Supracoxal gland secretions as a source of freshwater for Acaridei. *Acarologia*, 19 (1), pp. 112-116.
- Wilkinson, T., Horwood, J., Cox, P., Crowther, D., Ridley, I., Oreszczyn, T. and Pretlove, S. (2002). Factors affecting the carrying capacity (K) of a mattress for the house dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus* (Acari: Pyroglyphidae). Platform Presentation given at 11th International Congress of Acarology, Universidad Nacional Autonoma de Mexico, Merida, Yucatan, Mexico. 8. –13. 9. 2002
- Wood, A. T. G., and Lawton, J. H. (2016). Experimental studies on the respiratory rates of mites (Acari) from beech-woodland leaf. *Oecologia*, 12(2), pp. 169-191.
- Yan, J. and Fine, J. (2004). Estimating equations for association structures. *Statistic in Medicine*, 23(6), pp. 859-874. <https://doi.org/10.1002/sim.1650>.
- Yella, L., Morgan, M. S., and Arlian, L. G. (2013). Population growth and allergen accumulation of *Dermatophagoides farinae* cultured at 20 and 25 °C. *Experimental and Applied Acarology*, 60(1), pp. 117–126. <https://doi.org/10.1007/s10493-012-9626-x>

### Webové stránky:

Koster, L. (2016). Indoor humidity. The National Asthma Council Australia.

Dostupné z: <https://www.nationalasthma.org.au/news/2016/indoor-humidity> [cit. 7. 1. 2022].

Omega-PSIR (2021). Medical University of Silesia. Researchers. Krzysztof Solarz. Dostupné z:

<https://ppm.sum.edu.pl/info/author/SUM750fc62f40af476989fdb82bf299ca51/Person+profile+%25E2%2580%2593+Krzysztof+Jan+Solarz+%25E2%2580%2593+Medical+University+of+Silesia?ps=20&lang=en&pn=1&cid=2007>. [cit. 19.3. 2022].

MUNI (2022). Masarykova univerzita. Lidé. Prof. Mgr. Stanislav Pekár, Ph.D. Dostupné z:

<https://www.muni.cz/lide/56765-stanislav-pekar>. [cit. 19.03.2022].

UniProt (2021). *Dermatophagoides farinae* (American house dust mite). Taxonomy. Dostupné z:

<https://www.uniprot.org/taxonomy/6954> [cit. 22.11.2021].

WHO/IUIS (2021). Allergen Nomenclature Sub-Committee . Dostupné z:

[http://www.allergen.org/search.php?allergen\\_source=Dermatophagoides+farinae](http://www.allergen.org/search.php?allergen_source=Dermatophagoides+farinae). [cit. 21.11. 2021].