



Pedagogická
fakulta
Faculty
of Education

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Pedagogická fakulta
Katedra

Bakalářská práce

Zamrzání hmyzu do ledu

Vypracoval: Matěj Kalát
Vedoucí práce: doc. RNDr. Tomáš Ditrich, Ph.D.

České Budějovice 2023

Čestné prohlášení

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

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

V Českých Budějovicích, dne

.....

Anotace

Kalát, M. (2023). Zamrzání hmyzu do ledu [Bakalářská práce]. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Pedagogická fakulta.

Bakalářská práce se zabývá tématem zamrzání hmyzu do ledu. Literární rešerše obsahuje děje týkající se chladové tolerance u hmyzu a jejich strategie při obraně proti zamrznutí. Ve druhé části práce jsou rozebrány výsledky testů zamrzání vodních členovců do ledu a jejich míra přežití po zamrznutí.

Klíčové slova: chladová tolerance, kryptobióza, zamrzání, vodní členovci

Annotation

Kalát, M. (2023). Insect freezing into ice [Bachelor's thesis]. University of South Bohemia in České Budějovice, Faculty of education.

The bachelor thesis deals with the topic of insects freezing into ice. The literature research includes the history of cold tolerance in insects and their strategies in defending against freezing. The second part of the thesis discusses the results of tests of aquatic arthropods freezing into ice and their survival rates after freezing.

Keywords: cold tolerance, cryptobiosis, freezing, aquatic arthropods

Poděkování

Rád bych poděkoval svému vedoucímu bakalářské práce doc. RNDr. Tomáši Ditrichovi za jeho ochotu, trpělivost a cenné odborné rady. Dále svým přátelům, přítelkyni a rodině za jejich podporu a pochopení.

Obsah

1	Úvod	8
2	Literární rešerše	9
2.1	Obecná charakteristika hmyzu	9
2.1.1	System hmyzu.....	9
2.2	Adaptace hmyzu na změny teplot	10
2.3	Chladová tolerance hmyzu.....	12
2.3.1	Eutermie, hypotermie a kryotermie	13
2.3.2	Ektotermie.....	14
2.3.3	Diapauza	15
2.3.4	Energetické rezervy	16
2.4	Kryptobióza.....	17
2.4.1	Anhydrobióza.....	17
2.4.2	Kryobióza.....	18
2.5	Strategie hmyzu proti zamrzání	19
2.5.1	Oportunní přežívání	20
2.5.2	Citlivost k chladu	21
2.5.3	Tolerance chladu.....	21
2.5.4	Vyhýbání se zmrznutí	22
2.5.5	Tolerance zmrznutí	22
2.5.6	Kombinovaná strategie	24
2.5.7	Kryoprotektivní dehydratace	25
3	Zamrzání vodního hmyzu do ledu.....	26
3.1	Vodní hmyz v chladných stanovištích	26
3.2	Zamrzání vodních členovců do ledu	26
3.2.1	Přehled zamrzání hmyzu do ledu podle Frisbie a Lee (1997)	27

.....	27
3.2.2 Výzkum zamrzání hmyzu do ledu Michalicz (2015).....	28
3.2.3 Výzkum zamrzání roztočů do ledu Zawal (2021)	29
4 Závěr.....	33
5 Seznam literatury.....	34

1 Úvod

Tématem mé bakalářské práce je „zamrzání hmyzu do ledu“. Toto téma jsem si vybral z důvodu, že mě zaujal již samotný název a chtěl jsem se o této problematice dozvědět více. Zároveň jsem chtěl poskytnout užitečné shrnutí dostupné literatury pro další využití ve vědeckém bádání. Hmyz nás obklopuje v mnoha podobách. Vnímáme jej jako obtížnou i užitečnou součást života. Představuje více než polovinu všech známých žijících organismů. Existuje více než 925 000 druhů hmyzu, což je více než polovina všech známých druhů ostatních žijících organismů na planetě Zemi (Wigglesworth, 2023). Jedná se o nejvíce různorodou skupinu živočichů na světě, která zahrnuje téměř milion popsanych druhů. Je obdivuhodné, jak některé druhy hmyzu dokážou vydržet velice nepříznivé teploty pod bodem mrazu a následně po prohrátí těla opět fungovat jako by se nic nestalo. Ovšem není zamrznutí jako zamrznutí.

Cílem mé bakalářské práce je předložit základní přehled z domácích a zahraničních zdrojů ohledně zamrzání hmyzu do ledu. Práce je také rozšířena o ukázky z experimentů ze zamrzání členovců. Chladová odolnost se v poslední době stává běžnějším tématem ve vědeckých člancích, ale přesto je stále velká část problematiky neprobádána. Z pochopitelných důvodů se v tomto ohledu nejvíce zkoumají ekonomicky významné druhy hmyzu.

Práce je rozdělena na kapitoly, které se věnují jednotlivým tématům. Nejprve se v teoretické části budu věnovat charakteristice hmyzu, jeho adaptaci na změnu teploty, chladové toleranci a strategiím proti zamrzání. Práce předpokládá již obecné znalosti anatomie a morfologie hmyzu, proto je dále nerozšiřuje. Další část představuje jednotlivé experimenty ohledně zamrzání členovců. Závěrečná část shrnuje základní informace o problematice zamrzání hmyzu. Pro rozšíření a detailní nastudování uvádím knihy a články zaměřené na konkrétní problémy a oblasti. Bakalářská práce nemůže vyčerpat celou sledovanou problematiku, ale jejím úkolem je srozumitelně předložit témata k zamrzání hmyzu do ledu.

2 Literární rešerše

2.1 Obecná charakteristika hmyzu

Hmyz neboli *Insecta*, je nejúspěšnější skupina živočichů, patřící do kmene členovců neboli *Arthropoda*, z hlediska přizpůsobivosti a širokého rozšíření. Jejich malá velikost a vysoká míra reprodukce jim umožňují vytvořit velké populace a velkou rozmanitost. V suchozemské fauně dominují přibližně s jedním milionem popsáných druhů. To činí zhruba tři čtvrtiny všech popsáných živočišných druhů. Hmyz má segmentované tělo, kloubové nohy a vnější kostru tzv. exoskelet (Wigglesworth, 2023). Tělo se skládá ze tří základních částí – hlavy, hrudi, zadečku. Tímto rozdělením se odlišují od jiných členovců. Protože je hmyz velmi rozmanitou třídou, setkáváme se s mnoha výjimkami, jejichž tělo neodpovídá základnímu modelu (Zahradník, 2015). Na hlavě jsou umístěny složené (i jednoduché) oči, tykadla a ústní ústrojí. Z hrudi vyrůstají tři páry končetin a jeden nebo dva páry křídel (Wigglesworth, 2023). Hmyz nemá vnitřní kostru, ale kutikulu na povrchu těla, kterou můžeme značit jako vnější kostru. Kutikula může být silná, měkká, elastická, sklerotizovaná. Jednotlivé její části jsou spojené elastickou blánou a navzájem pohyblivé (Zahradník, 2015). Většina hmyzu je menší než 6 mm, ale mohou narůstat i větších rozměrů. Jejich postavení v přírodě je velice důležité, jelikož pomáhají při rozkladu organické hmoty a tvorbě půdy bakteriím a houbám. (Wigglesworth, 2023). Bez hmyzu by neexistovaly mnohé druhy rostlin, nebyly by lesy, všude by se povalovala mrtvá těla velkých zvířat i malých živočichů. Hmyzem se živí ryby, žáby nebo ještěrky. Hmyz jedí mnozí ptáci a tvoří základ potravy některých savců. Snadno si tedy představíme, že kdyby vymizel hmyz, byl by život na naší planetě odsouzen k nepředstavitelným změnám (Kohoutková, 2012).

2.1.1 Systém hmyzu

Bakalářská práce předpokládá základní orientaci v taxonomii hmyzu, proto se charakteristice hmyzu věnuje ve zkratce. Třída hmyz (*Insecta*) je systematicky členěna na dvě podtřídy: bezkřídle (*Apterygota*) a křídlaté (*Pterygota*). Celkem je známo 30 řádů hmyzu, z toho na našem území se jich vyskytuje 24. Zdaleka ještě nebyly objeveny všechny hmyzí druhy (Hudec et al., 2007). Každoročně jsou objeveny a popsány další (Wigglesworth, 2023).

Říše: Živočichové (*Animalia*)

Podříše: Mnohobuněční živočichové (*Metazoa*)

Kmen: Členovci (*Arthropoda*)

Podkmen: Šestinozí (*Hexapoda*)

Třída: Hmyz (*Insecta*)

Podtřída: Bezkrídlí (*Apterygota*)

Řád: Rybenky (*Zygentoma*)

Podtřída: Křídlatí (*Pterygota*)

Proměna nedokonalá (*Hemimetabola*)

Řád: Jepice (*Ephemeroptera*)

Řád: Vážky (*Odonata*)

Řád: Švábi (*Blattodea*)

Řád: Kudlanky (*Mantodea*)

Řád: Rovnokřídlí (*Orthoptera*)

Řád: Škvoři (*Dermaptera*)

Řád: Vši (*Mallophaga*)

Řád: Polokřídlí (*Hemiptera*)

Proměna dokonalá (*Holometabola*)

Řád: Síťokřídlí (*Neuroptera*)

Řád: Brouci (*Coleoptera*)

Řád: Chrostíci (*Trichoptera*)

Řád: Motýli (*Lepidoptera*)

Řád: Dvoukřídlí (*Diptera*)

Řád: Blechy (*Siphonaptera*)

Řád: Blanokřídlí (*Hymenoptera*)

2.2 Adaptace hmyzu na změny teplot

Hmyz stojí na počátku potravního řetězce a tvoří 80 % živočišných druhů na Zemi. Hmyz může upravovat své chování jako reakci na změnu teploty. Například při vysokých teplotách se mohou hmyzí druhy vyhýbat slunečnímu světlu a hledat stinná místa nebo se aktivně přemístit do chladnějších oblastí. Naopak při nízkých teplotách se mohou shlukovat do skupin, aby vytvořily tepelnou izolaci, nebo vyhledávat teplé úkryty. Hmyz nacházíme téměř všude. Pralesy tropů stejně tak jako savany a stepi subtropických krajin jsou místem k životu statisíců druhů hmyzu. I zdánlivě naprosto pusté oblasti kamenitých stepí a okrajů pouští Afriky a Střední Asie mají svou charakteristickou hmyzí faunu - jsou to různá saranče, brouci smrtníci, někteří nosatci atd. Mírný pás obou polokoulí, a to jak oblast palearktická a nearktická, tak i jižní část oblasti neotropické, mají velmi bohatou hmyzí faunu. Čím dále na sever, tím více ubývá hmyzích druhů. Ale přesto hmyz žije i v oblastech arktických. Pro některé alpské a polární druhy nepředstavují teploty pod bodem mrazu překážku

v aktivním pohybu (Denlinger a Lee, 2010). Na evoluční vývoj hmyzu měly rozhodující vliv doby ledové, neboť vliv tohoto severského zalednění zasahoval daleko na jih. Před dobami ledovými byli živočichové a rostliny naší oblasti subtropické. Když nastalo zalednění, mnoho druhů, které do té doby u nás žily, vyhynuly, a jen některé měly dosti životní pružnosti, aby se novým poměrům přizpůsobily. Mnohé z nich dokonce se tak dalece přizpůsobily novým mrazivým klimatickým poměrům, že se jim staly přímo nezbytností. Hranice souvislého severského ledu, který tehdy pokrýval část Evropy asi tak, jako dnes kryje souvislý ledovec skoro celé Grónsko, se zarazily směrem na jih ve svém postupu asi na čáře odpovídající severní hranici našeho státu. Tehdy všechny vyšší vrcholky pohoří byly pokryty sněhem a ledem, který přetrvával i arktické jaro a léto, které poté vystřídávaly kruté zimy. Tyto klimatické poměry měly velký vliv na vznik naší hmyzí říše. Některé druhy hmyzu se tehdy přizpůsobily těmto mrazivým životním podmínkám tak dalece, že se jim staly nezbytností. Když se po dobách ledových klima naší oblasti začalo poněkud oteplovat, tyto mrazu přizpůsobené druhy už ztratily schopnost přizpůsobit se této tepelné změně a zbývalo jim jen dvojí: buď musely vyhnout - a také patrně mnoho takových druhů tehdy zmizelo úplně - nebo musely sledovat ustupující mráz i sněh, a tak musely stoupat za chladným klimatem do hor. Takové druhy vymizely v nížinách a zachovaly se jen na vrcholcích hor, kde je podstatně chladnější klima. Staly se z nich druhy vysokohorské. Někdy se stalo, že takový otužilý a chladným přírodním podmínkám přizpůsobený druh ustupoval před oteplujícím se klimatem dvojnásobným směrem: jednak vzestupem do hor, kde se průběhem času stal druhem vysokohorským, jednak tak, že ustupoval směrem na sever - za ustupujícím severským ledem. A tak se stává, že některé druhy hmyzu nalézáme ve vysokých a vysokohorských polohách evropských hor a současně tyto druhy nalézáme v nížinách na březích moří nejsevernější Evropy. Hmyz má také fyziologické mechanismy, které jim umožňují reagovat na změny teploty. To může zahrnovat produkci specifických proteinů, enzymů nebo molekul, které chrání buněčné struktury před poškozením způsobeným extrémními teplotami. Kromě toho může hmyz také upravovat svou fyzickou strukturu, jako je tloušťka kutikuly, aby minimalizoval tepelné ztráty nebo zadržoval vlhkost. Hmyz má také schopnost se adaptovat na změny teploty na genetické úrovni. Přirozený výběr může preferovat jedince s genetickými variantami, které jim umožňují lépe přežít v různých teplotních podmínkách. Tím dochází k postupnému vývoji populace s vyšší odolností a přizpůsobivostí na změny teploty. Tyto adaptace umožňují hmyzu přežít a úspěšně se přizpůsobit různým teplotním podmínkám, kterým čelí v různých životních prostředích. Všeobecné pravidlo je, že aklimatizace v nízkých teplotách zvyšuje chladovou odolnost (Novotná, 2012). Úkryty hmyz většinou před

zimou moc nechrání, ale hmyz, naštěstí pro něj, patří mezi živočichy ektotermní, kteří nemají možnost regulovat tělesnou teplotu a musí se spokojit s podmínkami, které mu příroda nabídne. Hmyz může mít také specifické období dospívání a vývoje, které jsou přizpůsobeny klimatickým podmínkám. Například larvy některých druhů hmyzu mohou se svým vývojem čekat na příznivější teploty nebo mohou mít schopnost přežít v nepříznivých podmínkách v podobě dormance nebo diapauzy. S klesající teplotou klesá i pohyblivost hmyzu, takže při teplotě kolem 0 °C se už většina hmyzu nehýbe a jen nepatrně udržuje život ze zásobního tělesného tuku. Řada druhů se také proti uhynutí zimou jistí tím, že v těle snižuje obsah vody.

2.3 Chladová tolerance hmyzu

Hmyz, tak jako ostatní studenokrevní živočichové, musí přežít každoroční období nepříznivých mrazů. Většina druhů vyhledává již před příchodem chladných období vhodný úkryt a přechází z aktivního vývoje do diapauzy. Každý druh se liší tím, kde chce přezimovat. Existují druhy, které se schovávají v půdě nebo ve vrstvě opadanky pod sněhem. Ovšem pod opadankou mohou být napadáni druhy, které jsou během zimy aktivní. Některé druhy zase naopak přezimují na velice otevřených místech, jako jsou například větve stromů, a to proto, že druhy, které by je mohly napadnout, si na taková místa během mrazu netroufnou. Jsou to např. slunéčka *Adalia bipunctata* a *Semiadalia undecimnotata* (Nedvěd, 1996). Když se hmyz nachází v prostředí s extrémně nízkými teplotami a dojde k zamrznutí, vznikající ledové krystalky mohou mít negativní dopad na jeho tělo. Tyto krystaly z pravidla narušují buňky a tkáně, protože jejich objem se oproti kapalně vodě zvětšuje. Vznik ledu uvnitř těla je považován za letální, jelikož brání transportu kyslíku v těle, ale některé druhy hmyzu proti tomu našly úspěšná opatření (Nedvěd, 1996). Zde je několik aspektů, které se při zamrznutí hmyzu vyskytují:

Poškození tkání: Ledové krystalky, které se tvoří v těle hmyzu, mohou způsobovat mechanické poškození tkání. Tyto krystalky mohou propíchnout nebo deformovat buněčné struktury, což může vést k poškození orgánů, svalů a dalších tkání.

Dehydratace: Při tvorbě ledových krystalů se voda v těle hmyzu zahušťuje a může způsobovat dehydrataci neboli nedostatek kapalně vody. Dehydratace vede k nerovnováze tekutin a iontů v těle a může poškozovat buněčné procesy a funkce.

Ztráta homeostázy: Nízké teploty a tvorba ledu mohou ovlivnit homeostázu hmyzu. Homeostáza se vztahuje k udržování stabilních vnitřních podmínek, jako je teplota, pH

a iontová rovnováha. Zamrznutí může narušit tuto rovnováhu a způsobit, že buněčné procesy a biochemické reakce nefungují správně.

Poškození orgánů a systémů: Vznik ledových krystalů v těle hmyzu může způsobit poškození orgánů, jako jsou trávicí systém, nervový systém, svaly nebo reprodukční orgány. Toto poškození může ovlivnit životaschopnost hmyzu po zamrznutí (Danks, 2000).

U většiny druhů hmyzu z tropických oblastí nepozorujeme žádnou větší chladovou odolnost a jejich hodnoty pro zastavení vývoje, či smrt, zůstávají i na hodnotách vysoko nad 0 °C. Např. octomilky D (*melangoster*) svůj vývoj zastavují, pokud je teplota menší než 11 °C, poškození chladem se na ní projeví při teplotě pod 6 °C a pokud teplota dosáhne 0 °C, její smrt nastane v následujících minutách nebo během pár hodin. Ovšem např. severská octomilka *Chymomyza costata* přežije i zmrazení na teplotu kapalného dusíku tj. -196 °C (Košťál, 2014).

2.3.1 Eutermie, hypotermie a kryotermie

Pro pochopení procesů, které probíhají uvnitř těla hmyzu je potřeba si vysvětlit pojmy jako jsou eutermie, hypotermie a kryotermie.

Eutermie je stav, ve kterém teplota těla hmyzu zůstává relativně konstantní a blízká teplotě okolí nebo také je to normálová tělesná teplota všech endotermních živočichů, která je optimální pro jejich fungování (Košťál, 2014). Například u lidí se za normální teplotu považuje 37 °C s denními odchylkami 0,25 až 0,5 °C. Teplota je zároveň ovlivňována mnoha faktory jako je fyzická námaha, zdravotní stav, věk, pohlaví a další (Del Bene, 1990). U endotermních živočichů i u ektotermního hmyzu je udržení eutermie velmi důležité, protože pokud se snižují okolní teploty, dochází k zvyšování energetických nákladů a tím se snižuje aktivita hmyzu. Hmyz s eutermií je schopen udržovat stabilní teplotu svého těla bez ohledu na teplotní změny v okolí. Tento stav je typický pro většinu hmyzu, který žije v příznivých teplotních podmínkách (Harvey et al., 2020).

Hypotermii definujeme jako schopnost žít, nebo alespoň přežít, pokud je teplota okolního prostředí menší než optimální teplota organismu. Je důležité rozlišovat hypotermii s kryotermií, jelikož hypotermii můžeme sledovat u prakticky jakéhokoli živočicha, tak kryotermii ovládá jen pár živočišných druhů. Hypotermie u hmyzu se vyskytuje, když teplota těla hmyzu klesá pod normální rozmezí. Hmyz může upadnout do hypotermie, když je vystaven nízkým teplotám, které překračují jeho schopnost udržovat teplo. Během hypotermie se metabolismus hmyzu zpomaluje, čímž se snižuje energetická spotřeba a minimalizuje se riziko vzniku poškození způsobeného chladem. Kryotermie je stav, kdy teplota těla hmyzu klesne pod bod

mrazu vody, přičemž část těla může být fyzicky zamrzlá. Hmyz s kryotermií je schopen přežít v extrémně nízkých teplotách, které by normálně vedly k jeho smrti. Během kryotermie se metabolismus hmyzu téměř zastaví a jeho tělo může obsahovat krystalky ledu. Hmyz se spoléhá na speciální adaptace a mechanismy, jako je produkce kryoprotektantů, aby minimalizoval poškození způsobené mrazem. Rozdílem, mezi hypotermií a kryotermií tedy je, že u hypotermie klesá normálová hodnota tělesné teploty a při kryotermii dochází k mrznutí tělních tekutin (Košťál, 2014).

2.3.2 Ektotermie

Ektotermie, je stav, ve kterém teplota těla organismu závisí na okolní teplotě. Ektotermní organismy, jako je většina hmyzu, nemají interní mechanismy pro udržování konstantní tělesné teploty. Namísto toho se jejich tělesná teplota pasivně mění podle okolního prostředí.

Hmyz je typicky tzv. „studenokrevný“. Jeho tělesná teplota se přibližuje okolní teplotě, což znamená, že teplota jeho těla se mění v závislosti na teplotě okolního prostředí. Pokud je okolní teplota vyšší, hmyz se zahřívá, a pokud je teplota nižší, hmyz se ochlazuje. Ektotermie také umožňuje hmyzu šetřit energii, protože nepotřebuje vydatné množství energie na udržování konstantní teploty těla. Ektotermie u hmyzu má několik důsledků. Například ektotermní organismy mají nižší metabolickou aktivitu při nižších teplotách, což vede k pomalejšímu metabolismu a snížené aktivitě. V extrémně chladných podmínkách se mnoho druhů hmyzu zastavuje a přechází do stavu dormance nebo hibernace, kdy metabolismus a další životní procesy jsou značně zpomalené. Ektotermie u hmyzu také znamená, že jsou citlivější na teplotní změny ve svém prostředí. Extrémně vysoké teploty nebo chladné teploty mohou mít negativní vliv na jejich životní procesy a přežití. Proto hmyz využívá různé strategie, jako je vyhledávání vhodných teplotních mikroprostředí, přizpůsobování se přesunem do teplejších nebo chladnějších oblastí a využívání fyziologických a behaviorálních adaptací, aby minimalizoval negativní dopady teplotních změn. Je však třeba poznamenat, že ne všechny druhy hmyzu jsou zcela ektotermní. Některé druhy, zejména v teplých oblastech, mají schopnost aktivně regulovat svou teplotu prostřednictvím chování, jako je slunění se, vyhledávání stínu nebo aktivní lety, aby si udržely optimální tělesnou teplotu.

2.3.3 Diapauza

Diapauzou chápeme období úplného nebo pozastaveného vývoje během životního cyklu hmyzu (Hadley, 2019). Je řízena centrálně a hormonálně a hmyz upadá do stavu strnulosti. Vývoj hmyzu je v tomto období zastaven, metabolismus zpomalen a je zesilována odolnost vůči podmínkám vnějšího prostředí (Košťál et al., 2017). Její délka je různá a záleží u kterého hmyzu probíhá většinou se ovšem v pohybuje v rádech dnů až měsíců. Tento jev spadá pod tzv. dormanci, což je jev, který potlačuje vývoj jedince (Kodrík, 2000). Dále dormance je jev, který je ekologicky s evolučně smysluplný, nejde tedy o uměle vyvolaný jev (Košťál, 2006). V mírných pásech diapauza trvá obvykle devět až deset měsíců, ale v některých méně častých případech může být delší než rok (Hahn a Denlinger, 2007). Diapauza, je vyvolávána mnoha vnějšími podněty jako je například denní světlo, dostupnost potravy nebo v případě změny teploty. Tzv. fotoperioda je střídání fází světla a tmy ve dne. Hmyz rozpozná, že se zkracují dny před zimou a zahajuje diapauzu (Hadley, 2019). Pokud teploty klesají pod bod mrazu, právě díky diapauze dokáže hmyz přežít i například v polárních oblastech (Košťál, 2006). To ovšem neplatí pro hmyz, který diapauzuje během teplých měsíců či v tropických oblastech, jelikož chlad pomáhá potlačovat metabolické potřeby. Jejich schopnost využívat energetické zásoby se tedy zhoršuje. Vnější podněty nejsou přímou příčinou, ale ovlivňují její začátek a konec. Diapauza nastává v jakékoli fázi životního cyklu ať je to tedy ve fázi embryonální, larvální, kuklové, ale i dospělé, ovšem záleží na druhu hmyzu. Během diapauzy můžeme u hmyzu pozorovat žádný nebo minimální příjem potravy. Hmyz to dělá proto, aby během diapauzy byl co nejméně závislý na energetických rezervách před nástupem do diapauzy (Hahn a Denlinger, 2007).

Diapauzu si dělíme na obligátní a fakultativní. Druhy s obligátní diapauzou začínají ve stejném bodě životního cyklu každou generaci a nehledí na podmínky okolního prostředí (Hahn a Denlinger, 2007). Tedy diapauza se vyskytuje v každé generaci a je spojována s hmyzem, který má jednu generaci za rok (Hadley, 2019). Zatímco druhy s fakultativní diapauzou procházejí obdobím pozastaveného vývoje, když to vyžadují podmínky k přežití (Hahn a Denlinger, 2007). Tento typ diapauzy je spojován s hmyzem, který má dvě nebo více generací za rok. U některých typů hmyzů dochází také k reprodukční diapauze, při které dochází k pozastavení funkcí reprodukčního systému u dospělého hmyzu. Jako příklad si můžeme uvést motýla monarchu ze Severní Ameriky, který se v rámci přípravy na migraci do Mexika dostává do reprodukční diapauzy (Hadley, 2019).

Diapauza má fáze jako pre-diapauza, diapauza a post-diapauza a tyto jednotlivé fáze se dělí do fází dalších. Pre-diapauza je fáze kde pokračuje ontogenetický vývoj. Součástí její fáze je fáze indukční, která se objevuje během ontogenetického vývoje v senzitivním neboli citlivém období. Hmyz v této fázi reaguje na okolní prostředí a jeho podmínky, zastavuje ontogenetický vývoj a připravuje se na diapauzu. První fáze diapauzy je tzv. fáze přípravná (preparation phase), která nastává mezi vyvolání a spuštění diapauzy. Tato fáze je charakteristická behaviorálními a fyziologickými přípravami. Samotná diapauza trvá přibližně od listopadu do ledna. Přímý vývoj je pozastaven, ale fyziologické pochody hmyzu pokračují podle podmínek vnějšího prostředí. Tuto fázi dělíme na tři vývojové etapy a to zahájení, udržování a ukončení (Košťál, 2006).

1) Zahájení: V této etapě dochází k hledání vhodného malého specializovaného stanoviště pro hmyz neboli mikrohabitat, dále k přijímání potravy a ukládání energetických rezerv. Nastává také pozastavení morfogenetického vývoje, který je přímo spjat s potlačováním metabolismu hmyzu.

2) Udržování: Morfogenetický vývoj je v této etapě stále pozastaven, ačkoli jsou v této etapě vhodné podmínky pro pokračování vývoje jedince. Rychlost metabolismu je stále nízká a konstantní. Klesá intenzita diapauzy a narůstá citlivost vnímání pro její ukončení.

3) Ukončení: V této etapě klesá intenzita diapauzy na základě změn vnějších podmínek. Pokud jsou podmínky přijatelné, vývoj je obnoven a období diapauzy končí. Pokud podmínky vhodné nejsou, vývoj nemůže pokračovat a nastává fáze post-diapauzy.

Do post-diapauzy se jedinec dostává v případě nevhodných podmínek pro pokračování samostatného vývoje (Košťál, 2006).

2.3.4 Energetické rezervy

Mnozí zástupci hmyzu prožívají diapauzu ve stádiích, ve kterém nepřijímají žádnou potravu, jako je stádium vajíčka, kukly nebo larvy. Z tohoto důvodu je zásadní, aby hmyz nashromáždil veškeré energetické zásoby ještě před vstupem do diapauzy. Nejdůležitějšími látkami pro hmyz jsou stejné jako pro člověka, tedy lipidy (tuky), proteiny (bílkoviny) a sacharidy (cukry). Hmyz je na samém začátku diapauzy stále ještě pohybově aktivní, tedy nejde o děj přímé strnulosti. Aktivní pohyb na začátku diapauzy mu dává dostatek času si energetické zásoby obstarat přijímáním potravy. (Hahn a Denlinger, 2007).

Hmyz ukládá tukové rezervy ve svých tělech, zejména ve speciálních tukových buňkách. Lipidy jsou energeticky bohatým zdrojem a slouží jako zásoba energie během zimního období. Některé druhy hmyzu mohou ukládat bílkoviny v svalových tkáních jako zásobní zdroj energie před zimou. Bílkoviny jsou metabolizovány a přeměňovány na energii v případě nedostatku potravy. Hmyz uchovává glykogen, což je zásobní forma cukru, ve svých tělech ve specifických tkáních. Nejběžnějším místem pro ukládání glykogenu jsou buňky svalové tkáně hmyzu. Je však třeba poznamenat, že ne všechny druhy hmyzu mají stejné strategie pro uchování energetických zásob. Některé druhy se spoléhají více na lipidy, zatímco jiné mohou preferovat sacharidy nebo bílkoviny. Různé druhy hmyzu mají specifické fyziologické adaptace a preferované způsoby uchovávání energie před zimním obdobím (Kodrík, 2004).

2.4 Kryptobióza

Kryptobióza je stav, ve kterém organismus přechází do stavu hlubokého dormance či neaktivního stavu s extrémně sníženou metabolickou aktivitou. Během kryptobiózy se organismus chrání před nepříznivými podmínkami, jako jsou extrémní teploty, sucha či nedostatek živin. Existuje několik typů kryptobiózy, které jsou charakteristické pro různé druhy organismů. Kryptobiózy existují ve formě anhydrobiózy, anoxybiózy, chemobiózy, kryobiózy a osmobiózy. Ovšem zde v případě hmyzu si představíme dvě nejvýznamnější což je anhydrobióza a kryobióza (Weyda a Košťál, 2009).

2.4.1 Anhydrobióza

Je typem kryptobiózy. Kryptobióza je stav, ve kterém organismus vstupuje do stavu zastavení životních funkcí s cílem přežít nepříznivé podmínky. Anhydrobiózou označujeme stav kdy organismus nemá dostatek vody. V tu chvíli má dvě možnosti buď cestovat v prostoru nebo v čase. Prostorový přesun můžeme chápat jako přesun spíše větších zvířat z bodu A do bodu B, pokud organismus není dostatečně velký, nezbývá mu než „cestovat časem“. Tento přesun využívá zejména hmyz tím, že vytváří odolná stadia nebo vajíčka. Vajíčka patří mezi náročnější přesun, jelikož proces na jejich výrobu zahrnuje velké energetické investice do rozmnožování, vyhledávání partnera a další. Proto se u některých druhů vyvinula anhydrobióza. Pokud je hmyz vystaven nepříznivým podmínkám a je nutno zahájit tento proces, dokáže to během deseti až dvaceti minut. Do této fáze jsou schopni v kterékoli fázi vývoje až do vyčerpání energetických zásob, a to i opakovaně, což umožňuje kolonizaci prostředí, kde panují extrémní podmínky. Díky anhydrobióze jsou druhy přežít podmínky daleko extrémní než kdekoli jinde

na Zemi. Druhy opanující anhydrobiózou jsou schopny přežít jak nízké teploty, vysoké teploty tak i radiaci, a především velká sucha (Devetter, 2015).

Existuje studie, ve které se testovaly larvy afrického pakomára *Polypedilum vanderplanki* (Hinton, 1960). Během této studie se zjistilo, že larvy těchto pakomárů, ačkoli pocházely z tropické západní Afriky, a ne z polárních oblastí, dokázaly přežít teploty kapalného helia (-270 °C) po dobu až pěti minut s mírou přežití 100 %. Tyto larvy pakomárů obývají dutiny skal nebo mělké tůně, které přes vysokou teplotu vysychají (Hall, 1994). Pakomár tedy dokáže přežít až několikaměsíční vymizení vody, oni ovšem nevysychají, pouze zastavují své fyziologické funkce, během níž si vystačí se zásobou vody v těle, kterou tam už mají (Weyda a Košťál, 2009). Díky tomu si pakomár dokázal vyvinout schopnost tolerovat silné vysychání v anhydrobiotickém stavu (Hall, 1994). Anhydrobiotický stav lze určit poklesem podílu vody v organismu pod kritickou mez, která nemusí být vždy nulová. Pokud molekuly nemají dostatečný počet vody, aby se mohly hýbat, dochází k zastavení biochemických procesů a jedinec umírá. Takováto schopnost není pro každého, jelikož složitější organismy jako rostliny nebo obratlovci jsou náchylní i k mírnému poklesu vody v molekulách. Tento jev se vyskytuje především u malých živočichů, jako je právě výše zmiňovaný pakomár africký. Tím, že má pakomár malé tělo, nepotřebuje tak velkou zásobu vody v těle (Weyda a Košťál, 2009). Předpokládá se, že díky těmto jevům je schopen pakomár eliminovat vodu ze svého těla a zároveň blokuje tvoření ledových krystalů v těle při teplotách pod bodem mrazu (Hall, 1994). Druhy želvušek *Echiniscus jenningsi*, *Macrobiotus furciger* a *Diphascon chilense* jsou díky anhydrobióze schopny přežít teploty až -180°C. Tato schopnost jim dokonce umožňuje přežít podmínky panující ve vesmíru (Devetter, 2015).

2.4.2 Kryobióza

Kryobióza je považována za extrémní formu mrazové tolerance. Je definována jako zastavení metabolických funkcí v reakci na teplotu okolního prostředí. Kryobióza je specifický typ kryptobiózy, který se týká schopnosti organismů přežít extrémně nízké teploty. Během kryobiózy se tělesná tekutina organismu přemění na amorfni sklovitý nebo krystalický stav, který chrání buněčné struktury před poškozením způsobeným mrazem. Organismy, které procházejí kryobiózou, jsou schopny se ochránit před tvorbou ledových krystalů a dalšími negativními účinky mrazu. Tento termín se obvykle používá ve vztahu k organismům, které jsou schopny přežít a přizpůsobit se extrémně nízkým teplotám, jako jsou některé mikroorganismy, hmyz nebo obojživelníci (Weyda a Košťál, 2009).

2.5 Strategie hmyzu proti zamrznání

Abychom pochopili, jaké jsou rozdíly v zamrznání hmyzu, je důležité, abychom si uvědomili, jaké jsou jejich strategie pro přežití a ochranné mechanismy, když se blíží mráz (Rozsypal a Košťál, 2018).

Strategie hmyzu proti zamrznání jsou souborem adaptací a fyziologických mechanismů, které umožňují hmyzu přežít extrémně nízké teploty a minimalizovat poškození způsobené zamrznáním. Některé druhy hmyzu mají schopnost snášet extrémně nízké teploty blízko bodu mrazu, aniž by se fyzicky zamrzly. Tato schopnost je známá jako podchlazení (supercooling). Hmyz využívá různé adaptace, jako je snížení bodu mrazu tělesných tekutin, inhibice tvorby ledových krystalů a ochrana buněčných membrán. To jim umožňuje přežít i při teplotách pod bodem mrazu, i když nejsou v kryotermickém stavu. Některé druhy hmyzu produkují speciální látky nazývané kryoprotektanty, které slouží jako "protimrznoucí látky". Tyto látky snižují bod mrazu tělesných tekutin, čímž brání tvorbě velkých ledových krystalů, které by mohly poškodit buňky. Kryoprotektanty mohou zahrnovat látky, jako jsou cukry, alkoholy, aminokyseliny nebo speciální proteiny. Některý hmyz se před zimou aktivně dehydratuje, což znamená, že z těla odstraňuje vodu. Tím se snižuje množství vody v těle, což usnadňuje přechod do stavu kryotermie. Méně vody znamená menší riziko tvorby velkých ledových krystalů, které by mohly poškodit buňky. Tyto strategie umožňují hmyzu přežít v extrémních teplotních podmínkách a minimalizovat poškození způsobené zamrznáním. Jednotlivé druhy hmyzu mohou používat různé kombinace těchto strategií v závislosti na svém prostředí a fyziologických vlastnostech (Kodrík, 2004).

Tyto strategie se často mohou chápat jako dichotomické, tedy tak, že většina hmyzu je kategorizována buď jako vyhýbající se přechlazení nebo jako tolerantní vůči mrazu (Rozsypal a Košťál, 2018). Mezi hmyzem rozeznáváme druhy, které tolerují zmrznutí tzv. freezing tolerance kde dochází k zamrznání mezibuněčných tekutin bez poškození buněk a druhy, které se zmrznutí vyhýbají a tzv. freezing avoidance, které využívají kryoprotektanty snižující teplotu, při kterém tuhnou tělní tekutiny (Kodrík, 2000). Jemnosti dělení těchto strategií se mohou podle různých autorů lišit, může jich být např. sedm (Nedvěd, 1996).

2.5.1 Oportunní přežívání

Oportunní strategie přežívání neboli také strategie příhodná. Spočívá v toleranci členovců k nízkým teplotám. Jedná se o strategii, ve které členovci vyhledávají příhodné místo k přezimování (tedy bereme teplotu ve které je organismus schopen normálního vývoje). Tato strategie je především populární hlavně mezi členovci, kteří se dostanou do chladnějšího podnebného pásu ze subtropických či tropických oblastí a jejich tělo je zvyklé na vyšší teploty. Z řádu *Insecta* sem můžeme řadit například mouchu domácí, včelu medonosnou či mravence faraona (Nedvěd, 1996). Příhodná místa k přezimování si hmyz vybírá z hlediska místa jejich života. Například vodní hmyz žije pod ledem, kde je sice chladný, nicméně je chráněn před přímým působením mrazivých teplot díky specifickým tepelným vlastnostem vody. Včely medonosné, termiti nebo mravenci se zase dokážou dostat pod zem kde je hranice mrazu menší a přezimovat tam. Pokud sníh tvoří alespoň šest palců tlustou pokrývku, vytváří dostatečnou tepelnou izolaci pro zem a dokáže vytvořit příhodnější podmínky pod zemí na rozdíl od mrazivého větru. Tato izolace se nazývá „subniveanská zóna“ a teploty v této zóně se zřídka dostane více stupňů pod bod mrazu. Například štírovník sněžný a další jsou dobře uzpůsobeny k aktivnímu životu v této zóně (Schell, 2013).

Některé formy oportunního přežívání u hmyzu zahrnují diapauzu a dále estivaci, aestivaci nebo hibernaci.

Estivace je forma diapauzy, která se vyskytuje v teplém a suchém prostředí. Hmyz, který se přizpůsobil estivační strategii, se stahuje do úkrytu nebo se zahrabává do půdy a snižuje svou aktivitu a metabolismus, aby minimalizoval ztrátu vody a energetické nároky. Estivace je často spojována se suchozemským hmyzem, který čelí dlouhodobému suchu.

Aestivace je podobným konceptem jako estivace, ale vztahuje se na hmyz žijící v tropických oblastech, které čelí sezónním obdobím sucha. Aestivace je strategie snížení aktivity a metabolismu, aby se hmyz vyhnul nepříznivým podmínkám sucha a ušetřil vodu.

Hibernace je stav hlubokého zimního spánku, který někteří hmyz prochází za účelem přežití chladných teplot. Během hibernace se metabolismus hmyzu zpomaluje, tělesná teplota klesá a aktivita se minimalizuje. Hmyz se často ukrývá v úkrytech, jako jsou listy, kůra stromů nebo podzemí, aby se chránil před mrazem a chladem. Tyto formy oportunního přežívání umožňují hmyzu adaptovat se na nepříznivé podmínky a zvýšit svou šanci na přežití. Při nadejití příznivých podmínek se hmyz vrací ke svému normálnímu životnímu cyklu a aktivitě (Vašíčková, 2007).

2.5.2 Citlivost k chladu

Další strategií může být tzv. citlivost hmyzu k chladu. Do této strategie spadají členovci, kteří zvládnou přežít dlouhodobě teploty, které jsou menší, než jaké potřebují ke svému vývoji, ale zároveň neklesají pod bod mrazu. Tito jedinci přežívají na dobře ukrytých místech. Mezi zástupce můžeme řadit některé mšice, popř. kukly dvoukřídlých (Nedvěd, 1996). Druhy využívající tuto strategii jsou dále definovány tak že, mohou mít rozsáhlé podchlazení, k úmrtí dochází při krátkém vystavování teplot menší než $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ a přežití v podmínkách $0 - 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Bale, 1996).

2.5.3 Tolerance chladu

Tolerance chladu je mezi hmyzem nejběžnější formou vyrovnávání se s nízkými teplotami. Je to jev, při kterém teplota ledu v těle jedince, je pouze lehce pod nulou. Zde mluvíme pouze o dospělém jedinci, jelikož některá vajíčka hmyzu dokážou přezimovat ve zmrzlém stavu (Schell, 2013). Pokud je dospělý jedinec vystavován dlouhodobě teplotám pod bodem mrazu, může uhynout bez jakékoli tvorby ledu uvnitř těla. Tuto strategii využívá nejvíce druhů hmyzu skrze různá stadia i taxony (Nedvěd, 1996). Citlivost k chladu je ovlivněna několika faktory:

Bod mrazu tělesných tekutin: Každý druh hmyzu má určitý bod, při kterém se jeho tělesné tekutiny začnou mrazit. Některé druhy mají tekutiny s nižším bodem mrazu, což jim umožňuje lépe snášet nízké teploty.

Ochrana buněčných struktur: Některé druhy hmyzu mají speciální fyziologické adaptace, které chrání buněčné struktury před poškozením způsobeným mrazem. To může zahrnovat tvorbu speciálních bílkovin nebo tuků, které zvyšují stabilitu buněčných membrán.

Kryoprotektanty: Některé druhy hmyzu produkují kryoprotektanty, které snižují bod mrazu jejich tělesných tekutin. Tyto látky zabraňují tvorbě velkých ledových krystalů, které by mohly poškodit buňky.

Metabolický stav: Metabolický stav hmyzu může ovlivnit jeho citlivost na chlad. Například během diapauzy, kdy dochází k metabolickému útlumu, je hmyz často odolnější vůči nízkým teplotám.

Je třeba poznamenat, že citlivost k chladu může být také ovlivněna dalšími faktory, jako je druh potravy, prostředí, ve kterém hmyz žije, a genetické faktory (Sinclair, 1999).

2.5.4 Vyhýbání se zmrznutí

Do této strategie řadíme druhy, které jsou schopny přežít vystavení dlouhodobějších nízkých teplot, ale v případě mrznutí tělních tekutin umírají. Jejich hemolymfa obsahuje tzv. kryoprotektanty (Nedvěd, 1996). Kryoprotektanty se vyskytují nejčastěji jako polyhydričné alkoholy tzv. polyoly nebo jako nízkomolekulární sacharidy (Kodrík, 2000). Jsou to látky bránící tvorbě ledu uvnitř organismu. Jsou velmi důležité, jelikož led jako takový může způsobovat poškození biologické tkáně během ochlazování organismu. Mimo jiné mají významnou roli v regeneraci buněk a během hlubokých kryogenních teplotách. Hmyz se aktivně vyhýbá nízkým teplotám schováváním se do úkrytů, zesílením vrstvy kutikuly či uzavíráním průduchů. Strategie je přítomna u mnoho druhů, např. housenky *Epiblima scudderiana*, vajíček píďalky *Epirrita autumnata* (Bale, 1996), ale i některé vodní ploštice jako jsou hladinatky (*V. caprai*, *V. saulii*), bruslařky (*A. paludum*, *G. odontogaster*) a další (Ditrich, 2019).

2.5.5 Tolerance zmrznutí

Tato strategie spočívá ve schopnosti přežít úplné zamrzání tělních tekutin. Funguje na podobném principu jako předchozí strategie s tím rozdílem, že do hemolymfy jsou vylučovány vlastní nukleátory, na kterých dochází k tvorbě ledových krystalů při teplotách -3 až -10 °C. Tyto nukleátory zpomalují růst ledových krystalů v těle a umožňují buňkám rychlejší regeneraci a dostatek času na vyrovnání osmotického tlaku. Zároveň se v těle hromadí kryoprotektanty, které mimo jiné snižují pohyblivost vody a také zpomalují proces tvoření ledových krystalů. Nahromaděním kryoprotektantů a nukleátorů vzniká vysoká koncentrace roztoků, která brání vzniku letálnímu vzniku ledu pro hmyz. Až 30 % vody je pevně vázána na makromolekuly, takže se růstu ledových krystalů neúčastní. Mimo jiné některý hmyz má v těle tzv. hysterezní proteiny, které inhibují růst již vznikajících krystalů. Druhy hmyzu používající tuto strategii před mrazem jsou schopny přežít teploty až -70 °C ve zmrzlém stavu. Mezi zástupce můžeme řadit především larvy hmyzu s dokonalou proměnou jako jsou larvy páteřníčka sněhového, housenky a další (Nedvěd, 1996).

Order	Family	Species	Life stage	Habitat	SCP	LLT	Group	Reference
Coleoptera	Carabidae	<i>Damaster blaptoides rugipennis</i>	adult	decaying wood – Northern Japan	-6.3	-10	m	Ohyama & Asahina, 1972
		<i>Pterostichus brevicornis</i>	adult	Rotting wood in Arctic Alaska	-11	-70	s	Miller, 1982
		<i>Pterostichus orientalis</i>	adult	decaying wood – Northern Japan	-7.5	-10	m	Ohyama & Asahina, 1972
		<i>Melasma collaris</i>	adult	alpine Scandinavia	-4.5	-27	s	Gehrken & Southon, 1997
	Chrysomelidae	<i>Phratora</i> sp.	adult	under loose bark, Alaska	-8	-45	s	Miller, 1982
		<i>Phyllodecta laticollis</i>	adult	beneath bark	-7	-42	s	van der Laak, 1982
	Cucujidae	<i>Cucujus clavipes</i>	larva	under bark in northern temperate forests	-10	-26	s	Duman, 1984
	Ostomatidae	<i>Ostoma ferruginea</i>	adult	under loose bark	-12	-55	s	Miller, 1982
	Perimylopidae	<i>Hydromedion sparsutum</i>	larva	sub-antarctic	-3.8	-8.9	m	Worland et al., 1992
		<i>Hydromedion sparsutum</i>	adult	sub-antarctic	-3	-8.5	m	Worland et al., 1992
		<i>Perimylops antarcticus</i>	larva	sub-antarctic	-5.4	-10.4	m	Worland et al., 1992
		<i>Perimylops antarcticus</i>	adult	sub-antarctic	-4.6	-9.7	m	Worland et al., 1992
		<i>Dendroides canadensis</i>	larva	beneath bark	-9	-26	s	Horwath & Duman, 1984
	Pythidae	<i>Pytho deplanatus</i>	larva	Canadian alpine	-54	-55	l	Ring, 1982
		<i>Pytho americanus</i>	larva	Canadian Arctic – decaying wood	-4.1	-40	s	Ring & Tesar, 1980
		<i>Pytho americanus</i>	adult	Canadian Arctic – decaying wood	-8.7	-40	s	Ring & Tesar, 1980
	Tenebrionidae	<i>Bolitophagus reticulatus</i>	adult	high latitude temperate forest	-6.5	-20	m	Gehrken et al., 1991
		<i>Upis ceramoides</i>	adult	under bark in Arctic Alaska	-6	-60	s	Miller, 1982
	Silphidae	<i>Phosphuga atrata</i>	adult	decaying wood – Northern Japan	-8.3	-10	m	Ohyama & Asahina, 1972
Diptera	Blattidae	<i>Celatoblatta quinque-maculata</i>	nymphs and adults	New Zealand alpine grasslands	-3.4	-8.9	m	Sinclair, 1997
		<i>Periplaneta japonica</i>	nymphs	decaying wood, Northern Japan	-7.4	-9	m	Tanaka & Tanaka, 1997
	Cryptoceridae	<i>Cryptocercus punctulatus</i>	adult	decaying logs in Northern US	-5.5	-10	m	Hamilton et al., 1985
Diptera	Bibionidae	<i>Bibio rufiventris</i>	larva	in soil, Japan	-3	-10	m	Sakagami et al., 1983
	Chironomidae	<i>Belgica antarctica</i>	larva	maritime Antarctic	-5.3	-15	m	Baust & Edwards, 1979
	Drosophilidae	<i>Chymomyza costata</i>	diapausing larva	Northern Hemisphere	-2	-80	s	Shimada & Riihimaa, 1988
	Mycetophilidae	<i>Mycetophila</i> sp.	adult	under bark	-33	-40	l	Miller, 1982
	Syrphidae	<i>Syrphus ribesii</i>	larva	UK Temperate leaf litter	-6.8	-35	s	Hart & Bale, 1998
	Tephritidae	<i>Eurasta solidaginis</i>	larva	Goldenrod galls, inland North America	-6	-50	s	Baust & Lee, 1981
	Tipulidae	<i>Tipula excisa</i>	larva	mid alpine Norway 1,200 m	-4.8	-4.8	p	Todd & Block, 1995
		<i>Tipula montana</i>	larva	montane heathland (UK) 500 m	-4.7	-4.7	p	Todd & Block, 1995
		<i>Tipula paludosa</i>	larva	upland pasture UK 500 m and lowland habitats	-4.6	-4.6	p	Todd & Block, 1995
		<i>Tipula trivittata</i>	larva	decaying wood – inland North America	-8	-30	s	Duman et al., 1985
	Xylophagidae	<i>Xylophagus</i> sp.	larva	Arctic	-6.6	-43	s	Ring, 1982
	Sciariidae	<i>Sciara</i> sp.	prepupa	inside stems, Japan	-4.2	-15	m	Tanno, 1977

Obr. 1. Tabulka řádů, čeledí a druhů a jejich SCP a LLT. (life stage = životní stádium, habitat = místo nalezení, group = skupina -> p = částečně odolný proti chladu, m = mírně odolný proti chladu, s = silně odolný proti chladu, l = odolný proti mrazu s nízkým SCP). Převzato a upraveno podle Sinclair (1999)

Tato bakalářská práce předkládá na ukázkou studii (Sinclair, 1999), kde autor vytvořil tabulku různých druhů hmyzu a vypsál takzvané SCP a LLT body.

SCP neboli supercooling point znamená bod podchlazení a LLT neboli lower lethal temperature znamená spodní letální teplota. Díky těmto dvěma naměřeným hodnotám můžeme zjistit, zdali je testovaný hmyz tolerantní či netolerantní vůči chladu. SCP nám označuje teplotu při které dochází v tělních tekutinách ke krystalizaci vody (Ditrich, 2019). Na začátku zimy larvy se zbavují obsahu střev, který by mohl sloužit jako ledové nukleátory, a namísto toho ve

velkém množství vytvářejí kryoprotektanty v hemolymfě, především s nízkou molekulovou hmotností, což snižuje jejich přirozený bod mrazu (SCP) (Lencioni, 2004). Když jedinec neobsahuje nukleátory, může se malý vzorek ochladit na -30 až -40 °C bez toho, aniž by vznikl led. Jako nukleátor můžeme brát některé bakterie, prachová zrnka, makromolekuly a další. Nukleátory ovlivňují při jaké teplotě dojde ke vzniku ledových krystalů v tělních tekutinách (Nedvěd, 1996). K podchlazenému stavu dochází při postupném ochlazování tělních tekutin a po dosažení bodu tání. Až při dosažení SCP se uvolňuje skupenské teplo a dochází k náhlému zmrznutí. Pokud se během pokusu u exempláře neustále měří teplota, lze zachytit uvolněné teplo, které se nazývá exoterma, které nám indikuje dosažení SCP. Testováním můžeme zjistit, zda jsou jednotlivé druhy hmyzu tolerantní či netolerantní vůči mrazu. Pokud hodnota LLT vyjde nižší než SCP, tedy hmyz zmrzne, ale nezahyne, zjistíme, že je hmyz tolerantní k zamrznutí. Pokud je hodnota LLT vyšší nebo stejná jako SCP definujeme tyto druhy jako netolerantní k zamrznutí (Ditrich, 2019).

Díky těmto dvěma bodům dokážeme vyčíst z tabulky tolerantnost a netolerantnost jednotlivých hmyzích zástupců. Např. u řádu *Diptera* neboli dvoukřídlých můžeme pozorovat druh *Chymomyza costata*, že jejich LLT hodnota se pohybuje na -80 °C, ale jejich SCP na -2 °C. Nejde ovšem o dospělého jedince, ale o larvu v diapauze. Z těchto hodnot poté můžeme vyvodit závěr, že larvy těchto octomilek během diapauzy mají vysokou chladovou tolerance vůči mrazu. Na druhou stranu larvy z čeledi tiplicovitých (*Tipulidae*) mají SCP a LLT bod stejný, tedy netolerují promrznutí. Pouze druh *Tipula trivittata* má toleranci k promrznutí výrazně vyšší.

Vodní hmyz nemusí být schopný zabránit vnitřnímu zamrznutí (tedy pokud zůstanou nezmrzlí při teplotách pod bodem mrazu tělesných tekutin), protože když jejich tělesné teploty dosáhnou bodu mrazu tělesných tekutin, budou tyto organismy pravděpodobně v kontaktu s vnějším ledem, který může tzv. inokulací vyvolat tvorbu vnitřního ledu přes kutikulu. Tato iniciace tvorby ledových krystalů uvnitř těla hmyzu prostřednictvím kontaktu kutikuly s vnějším ledem se nazývá „inokulativní zamrznání“ (Frisbie a Lee, 1997).

2.5.6 Kombinovaná strategie

Jde o strategii, ve které se mísí vyhýbání se zmrznutí a tolerance zmrznutí. Tato strategie je velice vzácná a využívána velmi málo druhy jako je například brouk *Pytho deplanatus*. Jde o typ, ve kterém se snižuje bod podchlazení vysokou koncentrací glycerolu a vyloučením

nukleátorů na méně než -50 °C. Pokud ovšem tato ochrana selže hmyz zmrznutí hemolymfy přežívá (Nedvěd, 1996).

2.5.7 Kryoprotektivní dehydratace

Tato strategie nepatří mezi tolerantní nebo netolerantní vůči mrazu, ale sama o sobě tvoří vlastní skupinu (Sørensen a Holmstrup, 2011). Jedná se o metodu přežití půdního hmyzu, ale i dalších bezobratlých žijících v půdě, kteří žijí v chladných oblastech. (Košťál, 2014). Celý tento proces probíhá v závislosti na tlaku. Pokud promrzá půda zvyšuje se parciální tlak uvnitř jejich těl. Tlak je potom vyšší uvnitř jejich těl než v okolním prostředí. Jejich voda v těle tedy uniká a zvyšuje se koncentrace rozpuštěných látek to zapříčiní snížení bodu tání. To probíhá až do opětovného vyrovnání tlaků par tělních tekutin a okolního ledu (Sørensen a Holmstrup, 2011). Hmyz využívající tuto strategii vylučuje ze svého těla veškerou vodu, aby nemohlo docházet ke vzniku ledových krystalů a nahrazují ji tzv. trehalózou. Trehalóza jsou ve své podstatě dvě molekuly glukózy, tedy jednoduchého cukru, spojené chemickou vazbou. Přeměna vody na trehalózu umožňuje jedinci ochranu jejich proteinů a jemných buněk před poškozováním mrazem. Tato strategie účinně chrání hmyz před poškozováním buněk tam, kde se teploty pravidelně pohybují pod -50 °C (Schell, 2013). Tato strategie byla pomocí různých metod doposud testována na relativně málo druhích. Bezobratlí živočichové žijící v polárních oblastech se musí denně potýkat s teplotami hluboko pod normálním bodem tání jejich tělesných tekutin. Během zamrzání okolního prostředí dochází k úbytku kapalné vody a u žijících bezobratlých hrozí vysoušení. Druhy, u kterých lze pozorovat kryoprotektivní dehydratace musí splňovat podmínky jako je malá velikost a vysoká propustnost vody. Tato strategie byla dosud objevena u háďátek, roupic, larev pakomárů, chvostoskoků a u aljašského brouka *Cucujus clavipes puniceus*. U chvostoskoků se tato schopnost vypožadovala pouze u druhů *Megaphorura arctica* a *Cryptopygus antarcticus*, ale lze předpokládat, že bude rozšířená i mezi dalšími druhy (Sørensen a Holmstrup, 2011).

3 Zamrzání vodního hmyzu do ledu

Vodní hmyz je velmi různorodá skupina, která skýtá přibližně 76 tisíc druhů různých řádů přizpůsobených všem sladkovodním biotopům. Pochází ze suchozemských předků, kteří osídlili vodní prostředí. U některých druhů, jako například jepice, vážky a další probíhají ve vodě pouze některá životní stádia, nikoli celý vývoj (Balian et al., 2008).

3.1 Vodní hmyz v chladných stanovištích

Vodní hmyz žije ve velmi široké škále biotopů. Jejich rozdíly závisí hlavně na tom, zda jejich stanoviště jsou lentická (stojatá voda) nebo lotická (tekoucí voda), dále na jejich stálosti, velikosti nebo na tom, jak je do stanoviště přiváděna voda. Obecně platí, že velká a trvalá stanoviště jsou ovlivněna chladem méně než stanoviště malá a dočasná. To je dáno tím, že velký objem vody tlumí změnu teploty. U tekoucích vod jsou hlavní sezónní stresy způsobeny přívaly a změnou rychlosti proudu, případně vysycháním. Proudění vody v lotických vodách tvorbě ledu brání, ale řeky mohou zamrzat z důvodu nízkého průtoku. Pokud je, ale proudění vody zachováno, dochází ke vzniku tzv. frazilského ledu. Frazilský led je forma ledu, která se vytváří v chladných podmínkách při mírném proudění vody. Jedná se o tenké, jehličkovité ledové krystalky, které se vznášejí ve vodě (Danks, 2008). Malá a dočasná vodní tělesa se od těch větších mohou lišit ztrátou veškeré vody a přiblížit se teplotnímu profilu, který mají suchozemská stanoviště. Jako příklad si můžeme uvést malou dočasnou tůňku, která zamrzá bez ohledu na to, jestli zadržuje vodu před zamrznutím nebo nikoli (Danks, 2007). V rozsáhlých lentických biotopech zůstávají sedimenty nezamrzlé, obvykle i při teplotě 4 °C, což je teplota, při níž má voda největší hustotu. V biotopech, které nezamrzají úplně, což jsou například hluboká jezera nebo toky ovlivňované podzemními vodami, můžeme pozorovat aktivitu v podobě růstu a rozmnožování u některých druhů i při nízkých teplotách. Některé druhy hmyzu, včetně některých muchniček, pošvatek, jepic, chrostíků a pakomárů, skutečně dosahují významného růstu i v zimě (Danks, 2008).

3.2 Zamrzání vodních členovců do ledu

Vlastnosti hmyzu, ale i jiných členovců při teplotách pod bodem mrazu dosud nejsou tolik probádány a existuje velmi málo výzkumů, které byly provedeny. V následující kapitole bude představeno několik těchto výzkumů s důrazem na to, při jakých teplotách hmyz zamrzá a zda dokáže přežít vystavení teplotám pod bodem mrazu.

3.2.1 Přehled zamrzání hmyzu do ledu podle Frisbie a Lee (1997)

Literární přehled dosavadních znalostí o tomto tématu přinesli Frisbie a Lee (1997). Rešerši provedli na šesti článcích, které se k roku 1997 touto problematikou zabíraly. V této studii autoři odkazují na sběr dat z jiných zdrojů. Sledovali výsledky expozici různých druhů vodního hmyzu teplotám nižším než 0 °C po různě dlouhou dobu. Poté se sledovalo procento jejich přežití (obr. 2). Jednotliví zástupci byli nasbíráni z různých biotopů ať už v tocích, dočasných rybnících a dalších. Všechn testovaný hmyz byl před samotným pokusem držen po dobu jednoho až pěti dní v rybníku o teplotě 4 °C. Krystalizační teploty byly určovány v suchém prostředí, nebo v kontaktu s ledem. V případě, kdy byl hmyz testován v suchém prostředí musel být před začátkem testu vysušen a zabalen do papíru. Tolerance nízkých teplot u bezobratlých byla testována za různých podmínek. Některým ochlazovali teplotu tělních tekutin na bod tání a testovalo se přežití po dobu v suchém, mokřém nebo zmraženém papíru. Jiní byli ochlazení hluboce pod bod tání a testovalo se, zda přežijí v podchlazeném či zmraženém stavu.

Taxon	Temperature (°C)	Duration	Conditions	Survival (%)	Reference
Arthropoda					
Insecta					
Plecoptera					
Nemouridae	-9.0, -2.0, -0.5	3 d	water and gravel	0	Irons et al. 1993
Perlidae	-9.0, -2.0, -0.5	3 d	water and gravel	0	Irons et al. 1993
"stoneflies"	-18.0	12 h+	water	0*	Brown et al. 1953
Ephemeroptera					
Baetidae	-9.0, -2.0, -0.5	3 d	water and gravel	0	Irons et al. 1993
Heptageniidae	-9.0, -2.0, -0.5	3 d	water and gravel	0	Irons et al. 1993
"mayflies"	-18.0	12 h+	water	0*	Brown et al. 1953
Odonata					
<i>Enallagma boreale</i>	-1.0	20 h	water	48	Duffy and Liston 1985
	-4.0	20 h	water	5	Duffy and Liston 1985
	-10.0	20 h	water	0	Duffy and Liston 1985
<i>Coenagrion angulatum</i>	-5 to -6	overnight	water	50*	Sawchyn and Gillott 1975
<i>Coenagrion resolutum</i>	-5 to -6	overnight	water	50*	Sawchyn and Gillott 1975
Trichoptera					
Limnephilidae	-9.0, -2.0, -0.5	3 d	water and gravel	0	Irons et al. 1993
Rhyacophilidae	-9.0, -2.0, -0.5	3 d	water and gravel	0	Irons et al. 1993
"caddisflies"	-18.0	12 h+	water	0*	Brown et al. 1953
Diptera					
Tipulidae	-9.0, -2.0, -0.5	3 d	water and gravel	0	Irons et al. 1993
Simuliidae	-9.0, -2.0, -0.5	3 d	water and gravel	0	Irons et al. 1993
"midges"	-18.0	12 h+	water	0*	Brown et al. 1953
Chironomidae	-16, -20, -32	?	wet filter paper	~100*	Scholander et al. 1953
<i>Einfeldia synchrona</i>	-4	1 d	wet filter paper	23*	Danks 1971b
<i>Polypedium simulans</i>	-4	1 d	wet filter paper	92*	Danks 1971b

Obr. 2. Přehled řádů vodního hmyzu s teplotou (temperature), dobou pobytu hmyzu v teplotách pod bodem mrazu (duration), podmínkami (conditions), počtem přežití jedinců v procentech (survival) a odkazy z prací ze kterých autor čerpal (reference). Převzato a upraveno podle Frisbie a Lee (1997).

Zde můžeme pozorovat úspěšnost přežití u kmene *Arthropoda* (členovci) z třídy *Insecta* (hmyz). Jako řády jsou zde uvedeny *Plecoptera* (pošvatky), *Ephemeroptera* (jepice), *Odonata* (vážky), *Trichoptera* (chrostíci) a *Diptera* (dvoukřídli). Všechny tyto druhy spojujeme s vodním prostředím, jelikož ve vodě probíhá alespoň jedno jejich vývojové stádium. Pokud

vezmeme pošvatky, jepice a chrostíky, lze vidět, že nehledě na jak dlouhou dobu a v kolika stupních byli vystaveni teplotám pod bod tání, tak jejich celkové přežití dosahovalo 0 % tedy žádný z testovaných jedinců nepřežil. To samé platí pro zástupce dvoukřídlých, konkrétně pak z čeledi *Tipulidae* (tiplicovití) a *Simuliidae* (muchničkovití). Jiné výsledky můžeme pozorovat u vážek konkrétně u druhu *Enallagma boreale*, jejíž závislost na přežití ovlivňovala teplota okolního prostředí. V -1 °C po dobu dvaceti hodin ve vodě její míra přežití sahá až k 50 % ovšem čím se teplota snižovala, tím se snižovala i schopnost přežít. V -4 °C můžeme vidět pouze 5 % přežití testovaných jedinců a při teplotě -10 °C už nepřežila žádná vážka tohoto druhu. U vážek druhu *Coenagrion angulatum* a *Coenagrion resolutum* už ale vycházely výsledky mnohem lépe. Vážky byly nechané přes noc ve vodě o teplotě -5 až -6 °C s průměrným přežitím 50 %. Nejlepších výsledků ovšem v tomto testování dosáhli *Chironomidae* (pakomárovití), kteří i přes vystavování teplotám hluboko pod nulou (-16 °C, -20 °C a -32 °C) dokázali přežít bez úmrtí. Ačkoli může být trochu zavádějící, že v originální publikaci není uveden čas, jak dlouho byli vystaveni nízkým teplotám. Při pohledu níže u druhu *Polypedilum simulans* lze pozorovat vysokou míru přežití (až 92 %) za teploty -4 °C po dobu jednoho dne. Lze tedy vidět, že oproti jiným testovaným druhům se pakomárům v těchto podmínkách daří nejlépe. V této studii se mimo jiné také dokázalo, že záleží na měsíci, ve kterém sbíráme jedince, které chceme testovat, jelikož v každém měsíci má hmyz v těle jiný počet kapalně vody a podle toho může přežít chladnější podmínky. Testovaný hmyz při teplotách -0,5 °C nebyl zamražen do ledu, jelikož teplota byla na hranici zmrznutí jejich tělních tekutin. Krystalky ledu se tedy ve výsledku u těchto jedinců neukázaly a byly přítomny pouze u hmyzu zamraženého hlouběji pod bod mrazu (Frisbie a Lee, 1997).

3.2.2 Výzkum zamrzání hmyzu do ledu Michalicz (2015)

V této studii se zkoumala rozmanitost hmyzu přezimujícím v zamrzlém sedimentu nebo v hlubším ledu v saskatchewanské prérii. Saskatchewanský prériový rybník, kde výzkum probíhal, je lokalizován na západě Kanady (souřadnice GPS: 52.055767, -106.584867). Cílem studie bylo určit schopnost přežití zamrznutí hmyzu do ledu během zimy. Tento výzkum probíhal tak, že odebrali vzorky ledu ze zamrznutého rybníku. První blok ledu byl odebrán o rozměrech s hloubkou 0,2 m a se šířkou 0,1 m a druhý s délkou 0,7 m, šířkou 0,5 m a hloubkou 0,25 m. Z vysekaných bloků ledu ručně hledali hmyz, který se nacházel v ledu a začali ho rozmrazovat vložením do chladničky o teplotě 4 °C. Rychlost rozmrazení jedinců spočívala i ve velikosti jedince. Po rozmrazení byl testovaný hmyz zahříván pomalu na pokojovou teplotu,

dokud nevykazoval známky života. Jedinci, kteří známky života nevykazovali po čtyřech hodinách, byli prohlášeni za mrtvé.

Specimen	Number Alive	Number Dead	Total Number	Survival Rate	Location
Corixidae (Hemiptera)					
<i>Cymatia americana</i>	43	11	54	79.6%	Deep Ice
<i>Callicorixa audeni</i>	0	1	1	0%	Sediment
Notonectidae (Hemiptera)					
<i>Notonecta undulata</i>	0	1	1	0%	Deep Ice
Haliplidae (Coleoptera)					
<i>Halipus sp.</i>	1	1	2	50%	Sediment
Ceratopogonidae (Diptera)					
<i>Bezzia/Palpomyia sp.</i>	0	4	4	0%	Sediment
Chironomidae (Diptera)	29	63	92	31.5%	Sediment
Coenagrionidae (Zygoptera)					
<i>Enallagma/Coenagrion sp.</i>	0	10	10	0%	Deep Ice

Obr. 3. Přehled řádů a čeledí vodního hmyzu s počtem přežitých jedinců (number alive), počtem jedinců, kteří nepřežili (number dead), celkovým počtem testovaných jedinců (total number), počtem přežití jedinců v procentech (survival rate) a lokací kde byl vodní hmyz odebrán (location). Převzato a upraveno podle Michalicz (2015).

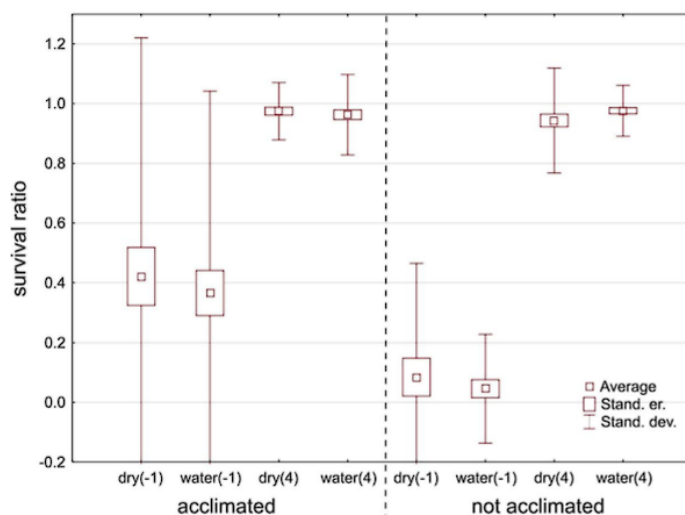
Ze získaného sedimentu a ledu se našlo celkem 164 vzorků. Celkem jich přežilo 73 a po rozmrazení normálně žili dál. V ledu našli skupiny *Hemiptera* (polokřídli), *Coleoptera* (brouci), *Diptera* (dvoukřídli) a *Zygoptera* (stejnokřídlice). *Notonectidae* (znakoplavkovití) v tomto výzkumu můžeme vynechat, jelikož celkový vzorek je pouze jeden jedinec a nemůžeme z takových hodnot dělat závěry. Ovšem u *Corixidae* (klešťanky) ze stejného řádu můžeme sledovat daleko zajímavější hodnoty. Z 54 testovaných klešťanek druhu *Cymatia americana* jich přežilo 43 (79,6 %). Zároveň byly nalezeny v nevýrazných shlucích, které tvořili tři až deset jedinců. Zástupců *Coenagrionidae* (šidélkovití) se našlo celkem deset jedinců, ani jeden však nepřežil. Zástupci *Haliplidae* (plavčíkovití) měli malý vzorek jedinců, a to dva. Jedinci této čeledi pravděpodobně mají schopnost odolávat teplotám pod bod mrazu, protože jeden z nich přežil, ale pro přesnější procento výsledků by bylo třeba více nalezených jedinců. Ze čtyř jedinců čeledi *Ceratopogonidae* (pakomárcovití) žádný nepřežil. Mezi pakomáry (*Chironomidae*) patřilo 92 jedinců, kteří měli míru přežití 31.5 %. V této studii byla zmíněna obtížnost identifikace samotných pakomárů nad úroveň čeledi. Někteří pakomáři tedy mohli patřit do jiné čeledě a souhrnná míra přežití neukazuje na konkrétní druhy (Michalicz, 2015).

3.2.3 Výzkum zamrzání roztočů do ledu Zawal (2021)

Zde si uvedeme jeden příklad experimentu, který byl zkoušen na roztočích z kmene Arthropoda (členovci). Dále si zkusíme ho porovnat s ostatními výsledky prací, abychom mohli rozeznat, zda členovci jako takoví, zvládnou vytvořit dostatečnou ochranu proti vnitřnímu zamrznutí. Celkem pro tento pokus bylo využito 2452 exemplářů padesáti druhů vodních

roztočů. Roztoči pocházeli z Polska a Černé hory. Nyní se podíváme na výsledky jednotlivých experimentů (Zawal et al., 2021).

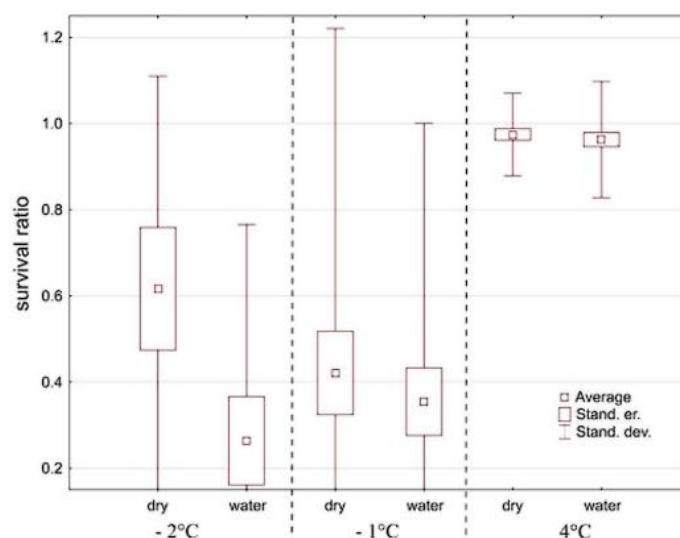
První experiment: Během tohoto experimentu byli umístěni aklimatizovaní a neaklimatizovaní roztoči do vody a sucha při teplotách $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ na jeden den. Aklimatizace proběhla vložením roztočů do vody o teplotě $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ na jeden týden. Neaklimatizovaní roztoči byli umístěni do vody o teplotě $15\text{ }^{\circ}\text{C}$.



Obr. 4. Přehled výsledků přežití vodních roztočů aklimatizovaných (acclimated) a neaklimatizovaných (not acclimated) v suchu a vodě za teplot $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Převzato a upraveno podle Zawal et al. (2021).

Celkem během tohoto pokusu bylo použito 232 exemplářů patřící k 26 druhům z čehož ale pouze osm druhů mělo více než deset exemplářů. Roztoči, kteří byli aklimatizovaní dosahovali mnohem lepších výsledků než roztoči, kteří aklimatizovaní nebyli. Nešlo tedy ani o podmínky jako spíš o aklimatizaci. Statistiky použitých druhů a jejich míra přežití může být dále dohledána v originální práci (Zawal et al., 2021)

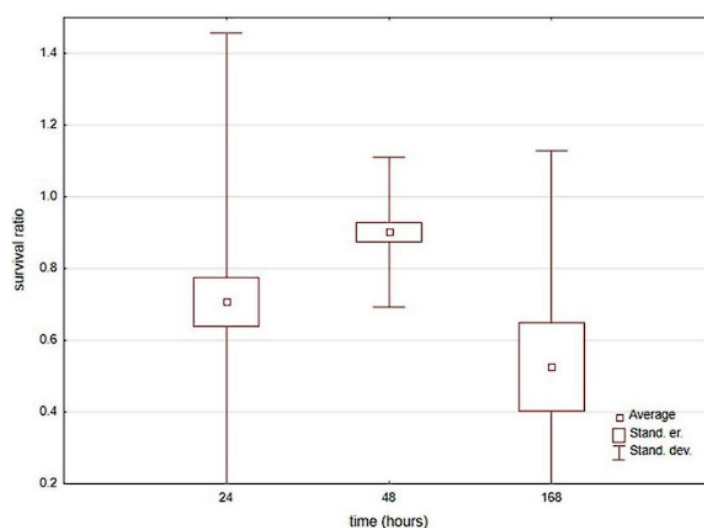
Druhý experiment: Ve druhém experimentu byli roztoči vystaveni teplotám -1 , -2 , -3 , -5 a $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu jednoho dne.



Obr. 5. Přehled a porovnání výsledků přežití vodních roztočů za teplot -2 °C, -1 °C a 4 °C v suchu a vodě. Převzato a upraveno podle Zawal et al. (2021).

Během tohoto experimentu přežili roztoči vystavení teplotám -1 °C a -2 °C. Při teplotách -3 °C, -5 °C a -8 °C žádný roztoč nepřežil. Během tohoto experimentu se pracovalo se vzorkem 672 exemplářů, které náleželi k osmnácti různým druhům. Osm z těchto osmnácti druhů mělo více než deset exemplářů. Statistiky použitých druhů a jejich míra přežití může být dále dohledána v originální práci (Zawal et al., 2021)

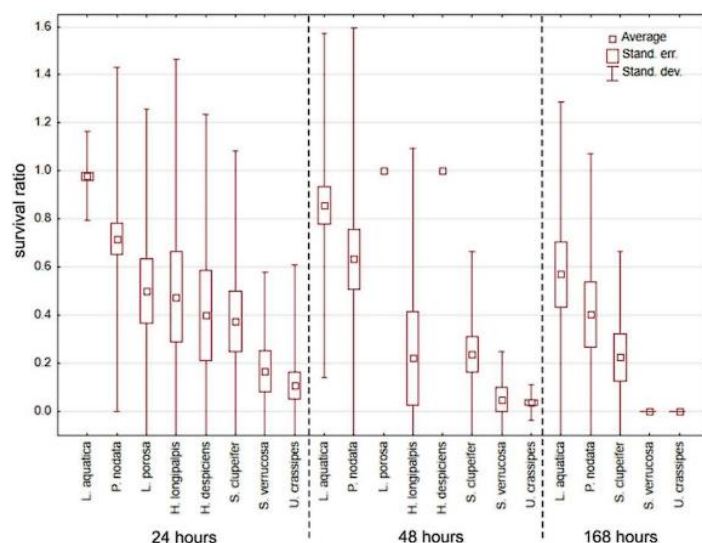
Třetí experiment: Ve třetím experimentu se na roztočích testovala teplota -1 °C po dobu jednoho, dvou a sedmi dní. Tedy sledovalo se, jaký vliv má na roztoče doba v chladném prostředí.



Obr. 6. Přehled výsledků přežití vodních roztočů při teplotě -1 °C po dobu 24, 48 a 168 hodin. Převzato a upraveno podle Zawal et al. (2021).

Ačkoli se na první pohled může jevit, že nejlepší podmínky pro přežití měli roztoči, kteří byli ve vodě dva dny, tak tomu tak není. V tomto případě je zavádějící míra přežití, jelikož

někteří roztoči dle výsledků měli po dvou dnech 100% výsledek přežití. V tomto případě je nutné doplnit výsledné hodnoty o tabulku jednotlivých druhů roztočů.



Obr. 7. Přehled výsledků přežití vodních roztočů při teplotě $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 24, 48 a 168 hodin s konkrétními zástupci pro rozlišení výsledků za daných hodin. Převzato a upraveno podle Zawal et al. (2021).

Nejlepší podmínky pro přežití roztočů při teplotě $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$ bylo tedy po jednom dni. Během tohoto experimentu bylo použito 309 exemplářů náležejících k patnácti druhům a osm druhů mělo více než 10 exemplářů. Statistiky použitých druhů a jejich míra přežití může být dále dohledána v originální práci. (Zawal et al., 2021).

Výsledky: Ve výzkumu byli využiti roztoči z padesáti různých druhů. Ve většině případů dospělí jedinci přežili podmínky lépe než larvy. Pokud byli roztoči vloženi do teplot pod bodem mrazu míra jejich přežití závisela na aklimatizaci. Pokud byli aklimatizováni jejich míra přežití byla vyšší než u roztočů, kteří aklimatizováni nebyli. Druhý výzkum se sledovala míra přežití roztočů v závislosti na čase, kde se zjistilo, že čím déle byli roztoči v teplotách pod bodem mrazu, tím méně jich ve výsledku přežilo. Dále se posuzovala teplota, která samozřejmě hraje roli také. Roztoči se testovali při teplotách -1 , -2 , -3 , -5 a $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$, ale z výsledných teplota můžeme pozorovat, že $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$ už byly pro roztoče letální.

V této práci nebylo uvedeno, zda roztoči zamrzající v $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$ promrzli na led nebo nikoli. Přesto se došlo k užitečným závěrům z této problematiky, které jsou uvedené výše (Zawal et al., 2021).

4 Závěr

Bakalářská práce byla věnována problematice „zamrzání hmyzu do ledu“. Součástí této práce je nejprve teoretická část (charakteristika hmyzu, jeho adaptace na změnu teploty, chladová tolerance a strategie proti zamrzání.) Dále následuje praktické sepsání dostupné literatury pro další využití ve vědeckém bádání a shrnutí základních informací o problematice zamrzání hmyzu. Pro rozšíření a detailní jsou uvedeny knihy a články zaměřené na konkrétní problémy a oblasti tohoto jevu, který se v současnosti podrobuje důkladnému zkoumání. Hodnotným zdrojem pro tuto práci byly vědecké studie profesora Vladimíra Košťála.

Studií zabývajících se zamrzáním hmyzu do ledu zatím tolik neexistuje. Přesto z výsledků výzkumů a dohledaných informací můžeme usuzovat, že existují druhy vodního hmyzu, kteří mají schopnost přežít promrznutí v ledu. Z výše zmíněných výzkumů je patrné, že některé druhy pakomárů jsou v tomto ohledu pravděpodobně dobře přizpůsobení zamrzání do ledu, podobně jako některé klešťanky. Převážná většina tohoto hmyzu ale zamrzání do ledu nepřežije.

Téma zamrzání hmyzu do ledu je natolik zajímavé, obsáhlé, a ne zcela prozkoumané, že jistě časem vznikne mnoho dalších vědeckých studií.

5 Seznam literatury

- Bale, J. S. (1996). Insect cold hardiness: A matter of life and death. *European Journal of Entomology*, 93, str. 369-382.
- Balian, E.V., Segers, H., Lévêque, C. et al. (2008). The Freshwater Animal Diversity Assessment: an overview of the results. *Hydrobiologia* 595, 627–637 (2008).
- Danks, H. V. (2000), Dehydration in dormant insects, *Journal of Insect Physiology*, Volume 46, Issue 6, Pages 837-852,
- Danks, H. V. (2007). How aquatic insects live in cold climates. *The Canadian Entomologist*, 139(4), 443-471.
- Danks, H. V. (2008). Aquatic insect adaptations to winter cold and ice. *Aquatic insects: challenges to populations*, 1-19.
- Del Bene, V.E., (1990). *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*. 3rd edition., Temperature, Chapter 218
- Denlinger, D. L & Lee, R. E. (2010). *Low Temperature Biology of Insects*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Devetter, M., (2015). Život na hraně –půdní hydrobionti vědí, jak na to, časopis, živa 5/2015, Nakladatelství Academia, SSČ AV ČR, 227-229
- Ditrich, T. (2019). Nové poznatky v teplotní biologii hmyzu. Habilitační práce, JU.
- Frisbie, M. P., & Lee Jr, R. E. (1997). Inoculative freezing and the problem of winter survival for freshwater macroinvertebrates. *Journal of the North American Benthological Society*, 16(3), 635-650.
- Hadley, D. (2019). "Diapause in Insects." ThoughtCo, [thoughtco.com/types-of-diapause-1968243](https://www.thoughtco.com/types-of-diapause-1968243).
- Hahn, D.A., Denlinger, D.L. (2007). Meeting the energetic demands of insect diapause: Nutrient storage and utilization. *J. Ins. Phys.* 53: 760 – 773
- Hall, Jason P.W. (1994). Chapter 4 - Most Tolerant of Cold, *University of Florida Book of Insect Records*, 8-9
- Harvey, J.A. et al. (2020). Climate change-mediated temperature extremes and insects: From outbreaks to breakdowns. *Glob Chang Biol.* 6685-6701.

Hinton, H.E. (1960). A fly larva that tolerates dehydration and temperatures of -270 °C to +102°C. *Nature* 188: 333-337

Hudec, K. et al., (2007). *Příroda České republiky: Průvodce faunou*. Praha: Academia, 439 s.

Kodrík, D. (2000). *Fyziologie hmyzu. Učební texty. Entomologický ústav AV ČR a Biologická fakulta, JČU v Českých Budějovicích*, 217 s.

Kodrík, D. (2004). *Fyziologie hmyzu. Učební texty. Entomologický ústav AV ČR a Biologická fakulta, JČU v Českých Budějovicích*, 220 s.

Kohoutková, Z. (2012). *Vybrané názvy hmyzu v češtině a slovinštině. Diplomová práce. Masarykova univerzita, Filozofická fakulta.*

Košťál, V. (2006). Eco-physiological phases of insect diapause. *J. Ins. Physiol.* 52: 113 – 127.

Košťál, V. (2014). Proč se hmyz hodí pro základní výzkum chladové odolnosti živočichů?, *časopis, živa 5/2014, Nakladatelství Academia, SSČ AV ČR*, 209-210

Košťál, V., Štětina T., Poupardin R., Korbelová J., Bruce A. W. (2017). Conceptual framework of the ecophysiological phases of insect diapause development justified by transcriptomic profiling. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 114: 8532-8537

Lencioni, V. (2004). Survival strategies of freshwater insects in cold environments. *Journal of limnology*, 63(Suppl 1), 45-55.

Mihalicz, J. E. (2015). An Observation of the Overwintering Aquatic Insects in a Prairie Pond in Saskatchewan, Canada. *USURJ: University of Saskatchewan Undergraduate Research Journal*, 1(2).

Nedvěd, O. (1996). Chladová odolnost hmyzu a tropy. *Vesmír*, 75, 669.

Novotná, I. (2012). Chladová odolnost hladinatky *Velia caprai*: vliv aklimace a věkové třídy na bod podchlazení. *Č. Bud.*, diplomová práce (Mgr.). Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. Pedagogická fakulta.

Rozsypal, J., & Košťál, V. (2018). Supercooling and freezing as eco-physiological alternatives rather than mutually exclusive strategies: a case study in *Pyrhocoris apterus*. *Journal of insect physiology*, 111, 53-62.

Schell, S. (2013). Insects have cool strategies to weather winter extremes, *Barnyards & Backyards*, University of Wyoming, Winter 2013, 19-21

Sinclair, B. J., (1999). Insect cold tolerance: How many kinds of frozen?, *Eur. J. Entomol.* 96 (2): 157-164

Sørensen J. G., Holmstrup M. (2011). Cryoprotective dehydration is widespread in Arctic springtails. *J Insect Physiol.*;57(8):1147-53

Vašíčková, M. (2007). Klidové stavy živočichů. Brno, bakalářská práce (Bc.). Masarykova univerzita v Brně. Přírodovědecká fakulta.

Weyda, F., Košťál, V. (2009). Když přijdou sucha - anhydrobióza. *Vesmír*, 88, 304.

Wigglesworth, V. B. (2023). "insect". *Encyclopedia Britannica*, <https://www.britannica.com/animal/insect>.

Zawal, A., Czernicki, T., Michoński, G., Bańkowska, A., Stryjecki, R., Pešić, V., ... & Szlauer-Łukaszewska, A. (2021). Freezing: how do water mites (Acari: Hydrachnidia) survive exposure to sub-zero temperatures?. *Experimental and Applied Acarology*, 1-19.