

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Zemědělská fakulta

Metabolismus vybraných druhů dravého vodního hmyzu

Bakalářská práce

Miroslava Kleinová

Vedoucí práce: Ing. MgA. David Boukal, Ph.D.

České Budějovice 2012

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím literatury a pramenů uvedených v seznamu 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 formě elektronickou cestou ve veřejné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Také souhlasím 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. Dále 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

.....

Miroslava Kleinová

Poděkování

Ráda bych poděkovala především svému školiteli Davidu Boukalovi za skvělé vedení po celou dobu průběhu mé bakalářské práce a za jeho obdivuhodný klid a obětavou práci. Můj velký dík patří také Janu Okrouhlíkovi za všechny podnětné poznámky a rady. Oběma moc děkuji. Mému bratrovi chci poděkovat za to, že mi stojí vzorem. Nutí mě tím k neustále lepším výkonům a vyvolává ve mně sílu dojít až k vysněnému cíli. Je mi potěšením poděkovat i Janu Toncarovi za láskyplnou podporu a pevné nervy ve chvílích, kdy jsem je ztrácela. Při děkování nemohu zapomenout ani na Betyнку Kleinovou, která mi v každé situaci dokáže vykouzlit úsměv na tváři. A závěrem můj největší dík patří mým milujícím rodičům, protože bez nich by nebylo vůbec nic!

Děkuji...

Souhrn

Název: Metabolismus vybraných druhů dravého vodního hmyzu.

Cíle: Hlavním cílem této práce bylo analyzovat spotřebu kyslíku dravého vodního hmyzu, v mém případě vážek (řád Odonata, podřád Anisoptera), při metabolismu. Sledovány byly různé instary vážek několika druhů. Dalším cílem bylo zjistit závislost metabolických nároků na druhové příslušnosti a velikost jedince, zhotovit tabulky a grafy shrnující nejdůležitější výsledky a provést základní statistické analýzy.

Metody: V práci jsem použila metodu měření spotřeby rozpuštěného kyslíku pomocí polarografického stanovení koncentrace kyslíkovou sondou.

Výsledky: Rychlost metabolismu se na jednotku hmotnosti snižovala s rostoucí vahou a velikostí, což odpovídá předpokladům metabolické teorie ekologie.

Klíčová slova: Odonata, spotřeba kyslíku, dýchání, metabolismus.

Abstract

Title: Metabolism of selected species of predatory aquatic insects.

Target: The main objective of this study was to analyze metabolic rates of predatory aquatic insects, in my case dragonflies (order Odonata, suborder Anisoptera). Different instars of several species of dragonflies were observed.

Another objective was to determine the dependence of the metabolic demands on the species and size of the individual, create tables and graphs summarizing the most important results and perform a basic statistical analysis.

Methods: In my work I used the method of measuring the consumption of dissolved oxygen, using a polarographic determination of oxygen concentration with a membrane-covered oxygen sensor.

Results: The rate of metabolism on the unit weight decreased with increasing weight and size, which corresponds to the assumptions of metabolic theory of ecology.

Keywords: Odonata, oxygen consumption, respiration, metabolism.

Obsah

1. Úvod	8
1.1 Vodní hmyz	8
1.2 Charakteristika larev vážek	9
2. Rešerše	10
2.1 Princip metabolismu	11
2.2 Rychlost metabolismu	12
2.3 Princip dýchání	13
2.3.1 Tracheální orgány	13
2.3.2 Dýchání hmyzu ve vodě	14
3. Praktická část	17
3.1 Úvod	17
3.2 Materiál a metodika	17
3.2.1 Modelové organismy	17
3.2.2 Charakteristika a princip měření	18
3.2.3 Experimentální uspořádání	18
3.2.4 Vážení a fotodokumentace larev	20
3.2.5 Testované hypotézy	21
3.3 Použitá statistika	21
3.3 Výsledky	21
3.3.1 Spotřeba kyslíku bez přidané vážky	21
3.3.2 Sušení vážek	23
3.3.3 Poměr živé a suché váhy	24
3.3.4 Závislost metabolismu na živé váze	25
3.3.5 Závislost metabolismu na suché váze	28
3.4 Diskuze	30
3.5 Závěr	31
4. Seznam použité literatury	33

1. Úvod

1.1 Vodní hmyz

Vodní hmyz tráví část života nebo celý život ve vodě (Usinger, 1956). Mezi vodní hmyz počítáme druhy z 29 řádů. U většiny druhů žijí ve vodě pouze larvy a dospělci jsou suchozemští (většina), pouze několik řádů prodělává kompletní vývoj ve vodě (Hanel a Zelený, 2000).

Vodní hmyz se také dělí podle způsobu obživy. Řada druhů je býložravá, například larvy komárů, některých chrostíků a většiny jepic se živí výhradně rostlinným materiálem. To hraje významnou roli v přeměně organické hmoty. Zato například larvy vážek, brouků z čeledi potápníkovitých nebo většina vodních ploštic jsou predátoři (Usinger, 1956). Právě způsob obživy vodního hmyzu má velký význam v dynamice vodních společenstev.

Má práce se zaměřuje na vážky (Odonata). Je to řád s proměnou nedokonalou, tedy jejich vývoji nezahrnuje stádium kukly. Zatímco dospělci žijí mimo vodní prostředí, larvy jsou striktně vodní. Nejčastěji je najdeme ve větších stojatých vodách s dobře rozvinutými litorálními porosty jako jsou rybníky, mokřady, tůně, pískovny nebo rašelinště. Menší část druhů je vázána na tekoucí vody (Hanel a Zelený, 2000).

Řád Odonata se dělí na dva podřády. Jsou jimi podřády Zygoptera a Anisoptera. Do podřádu Zygoptera patří asi 2800 druhů, v České republice z nich žije pouze asi 25 druhů. Dospělci mají dva skoro stejné páry zadních a předních křídel. Křídla jsou v klidu mírně rozevřená a vztyčená nad tělem až kolmo k rovině hřbetní (Rozkošný, 1980). Oči mají daleko od sebe a mají štíhlé tělo a protáhlý zadeček (Hanel a Zelený, 2000). Larvy mají na zadečku tři protáhlé výrůstky - žaberní plátky, které slouží k dýchání.

Do podřádu Anisoptera patří asi 2900 druhů. V České republice z nich bylo zaznamenáno asi 47 druhů. Dospělci jsou oproti jedincům z podřádu Zygoptera mnohem mohutnější. Mají oči blíže sebe, větší a často se i dotýkají (Hanel a Zelený, 2000). Přední a zadní křídla se od sebe liší jak žilnatinou, tak tvarem. V klidu křídla zůstávají zcela rozevřena v hřbetní rovině (Rozkošný, 1980). Zadeček je tlustší. Larvy nemají na zadečku žaberní plátky a jsou mohutnější než larvy z podřádu Zygoptera.

1.2 Charakteristika larev vážek

Larvy (nymfy) se líhnou z vajíček, kladených obvykle do vody. Vajíčka vážek dosahují délky od 0,5 do 2 mm. Druhy vážek, které kladou vajíčka do rostlin, mají podlouhlý tvar vajíček, zatímco vajíčka druhů kladoucích je volně mají tvar kulatý a jsou v rosolovitém obalu (Hanel a Zelený, 2000).

Z vajíčka se líhne larva po 2 až 4 týdnech (v případě nepřezimování). První stádium, pronymfa, trvá pouze několik minut. V tomto stádiu se ještě téměř vůbec nepodobá vážce. Po následném svlékání na ní můžeme naleznout první rysy společné s dospělcem (Hanel a Zelený, 2000). Svlékání se opakuje 10krát až 15krát. Při každém procesu svlékání larva odvrhne celou pokožku a postupně se vyvíjí a celkově roste. Larva vážek se postupně vyvíjí až několik let. Před posledním svlečením nymfa nepřijímá potravu a vylézá z vody, přichytí se pevného podkladu a z larvy se líhne vážka. Tento proces trvá zhruba hodinu. Po vylíhnutí vážka rovná svá křídla a tvrdne, pak je schopná odletět. Pohlavní zralosti dosahují dospělci ve 14 dnech až měsíci v závislosti na druhu.

Počet stádií ani doba vývoje nejsou stálé. Vývoj může trvat několik měsíců až několik let. Larvy všech druhů jsou bez výjimky dravé a zvláště larvy velkých druhů se řadí ve společenstvech menších vodních tůň bez ryb mezi vrcholové predátory (McPeck, 1998). Výjimkou není ani mezidruhová predace a vnitrodruhový kanibalismus.

Larvy jsou na svůj způsob života dobře adaptovány. Svou kořist rozpoznávají zrakem a pomocí chemických stop nebo mechanických stimulů (Rudolf, 2007). Spodní pysk mají přetvořený na vychlípitelné uchvacovací zařízení, tzv. masku (Hanel a Zelený, 2000). Na rozdíl od dospělého mají hlavu pevně spojenou s hrudí. Složené oči jsou sice mnohem menší než u dospělého a jednoduchá očka jsou pouze naznačená a obvykle nefunkční, přesto mají larvy většiny druhů (zejména těch žijících na vegetaci) ve srovnání s dalšími skupinami hmyzu vynikající zrak. Tykadla jsou sedmičlánková a bývají mnohem větší než u dospělého jedince. Ústní ústrojí je složeno ze spodního pysku tzv. labia. Spodní pysk je nápadně přetvořen a pozměněn ve vymrštitelnou masku, která je složena z podbradku (submentum), brady (mentum) a pohyblivých bočních laloků s pohyblivým drápkem na přídi (Rozkošný, 1980). Nohy mají larvy mnohem delší a silnější než dospělci, protože při vystřelení masky je zbytek těla tlačěn silně dozadu a larva proto musí být dobře přichycena k podkladu. Zadeček je desetičlánkový,

kratší a širší než u dospělců (Hanel a Zelený, 2000). Zejména larvy větších druhů se dokáží velmi účinně dopředu pohybovat pomocí vypuzení proudu vody ze zadečku a uniknout tak například predátorům.

Larvy žijí volně mezi vodními rostlinami, pod kameny, zahrabány v bahně a písku, nebo pod listím na dně vod. Obývají nejčastěji stojaté nebo mírně tekoucí vody. Živí se nejčastěji korýši nebo larvami hmyzu (Rozkošný, 1980).

2. Rešerše

2.1 Princip metabolismu

Metabolismus (z řec. *meta* – přes, *balló* – házím) je látková přeměna. Organismy přijímají látky z okolního prostředí a přeměňují je ve svých tělech do jiných forem (Voet a Voetová, 1995). Ty dále využívají v procesech zlepšujících jejich schopnost přežití a rozmnožování a vylučují pozměněné formy zpět do prostředí. Metabolismus je výhradně biologický proces, ale řídí se chemickými a fyzikálními principy, které řídí transformaci energie a zdrojů. Nejdůležitější jsou zde zákony termodynamiky, t.j. zachování hmoty a energie. Jedná se o soubor všech enzymových reakcí, tedy tzv. metabolických drah. Při nich dochází k přeměně látek a energie v buňkách a živých organismech. Podle směru probíhající změny rozdělujeme metabolismus na katabolismus a anabolismus.

Katabolismus je soubor rozkladných dějů, tj. procesů, při nichž z látek složitějších vznikají látky jednodušší. Při těchto dějích se obvykle uvolňuje energie. Příkladem katabolického procesu je třeba buněčné dýchání. Anabolismus je soubor syntetických reakcí (asimilačních), při kterých z látek jednodušších vznikají látky složitější (stavební a zásobní látky – bílkoviny). Energie se při těchto reakcích spotřebovává (endergonické reakce). Anabolismus převažuje v buňce, která roste a rozmnožuje se.

Metabolická dráha je řada enzymových reakcí, které vedou ke tvorbě určitého produktu. Meziprodukty, reakční složky a produkty dráhy jsou označovány jako tzv. metabolity. Organismus využívá mnoho metabolitů, a proto v něm rovněž probíhá mnoho metabolických drah. Součástí metabolismu jsou již výše zmíněné reakční (metabolické) dráhy. V degradačních (katabolických) drahách dochází k exergonickému rozkladu složitých metabolitů (produktů látkové přeměny) na jednodušší produkty. Volná energie, která je uvolňována při těchto pochodech, je konzervována v ATP. Adenosintrifosfát (ATP, zkratka z angl. *adenosine triphosphate*) je důležitý nukleotid, který se skládá z adenosinu a trojice fosfátů navázané na 5' uhlíku. Je zcela zásadní pro funkci všech známých buněk. Jeho význam spočívá v tom, že při rozkladu ATP na ADP a P_i dochází k uvolnění značného množství energie. Tato energie se využívá téměř ve všech typech buněčných pochodů. To je syntetizované z ADP a fosfátu, nebo v NADPH, které je vzniklé redukcí $NADP^+$. Zvláštní vlastností degradačního metabolismu je, že při něm dochází ke konverzi (přeměně) velkého počtu rozmanitých látek, jako jsou sacharidy,

lipidy nebo proteiny, na společné meziprodukty. Meziprodukty jsou následně dále metabolizovány hlavní oxidační drahou. Pro biosyntetickou dráhu (anabolickou) jsou hlavními zdroji volné energie ATP a NADPH. Tato dráha tedy reprezentuje opačný pochod než degradační dráha. Má relativně málo metabolitů. Je to především purývát, acetyl-CoA a meziprodukty cytrátového cyklu. Meziprodukty anabolické dráhy slouží jako výchozí materiál pro velké množství rozmanitých biosyntetických produktů (Voet a Voetová, 1995).

Citrátový cyklus (cyklus kyseliny citrónové, trikarboxilových kyselin, Krebsův cyklus) je řada reakcí, které tvoří metabolickou dráhu společnou při aerobní oxidaci lipidů, sacharidů a proteinů. Tento cyklus postupnou oxidací a dekarboxylací šestiuhlíkaté kyseliny citrónové uvolňuje redukční ekvivalenty, které jsou použity k syntéze ATP hlavního energetického zdroje buňky při oxidativní fosforylaci (Murray, 2002). Citrátový cyklus hraje hlavní roli i v dalších metabolických dějích, jako je transaminace, deaminace, glukoneogeneze nebo lipogeneze. Některé reakce cyklu proto probíhají v buňkách, které aerobní dýchání nemají. U prokaryotických buňek probíhá v cytosolu, v eukaryotních buňkách jsou enzymy citrátového cyklu v mitochondriálních matrix (Murray, 2002) buďto zakotvené k vnitřnímu povrchu vnitřní mitochondriální membrány, nebo umístěné volně.

2.2 Rychlost metabolismu

Metabolická ekologická teorie předpovídá, jak rychlost metabolismu závisí na velikosti těla a teplotě (Brown et al., 2004). Tato kvantitativní teorie vysvětluje, jak se metabolický stupeň mění v závislosti na nastavení rychlostí přijímaných zdrojů potřebných pro přežití, růst a rozmnožování, dále jak ovlivňuje ekologické procesy na všech organizačních stupních od jedinců až po biosféru.

V podstatě všechny charakteristiky organismů se předpověditelně liší na základě velikosti těla, teploty a chemického složení (Peters, 1983). Rychlost metabolismu je základním biologickým ukazatelem, protože vyjadřuje rychlost spotřebovávání energie, transformace a užití. Pro heterotrofické organismy je rychlost metabolismu rovna rychlosti respirace. Je tomu tak, protože heterotrofové získávají energii oxidováním uhlíkatých sloučenin podle schématu $\text{CH}_2\text{O} + \text{O}_2 \rightarrow \text{energie} + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$.

Většina organismů prokazuje fenotypickou plasticitu organismu (Nagy, 2001). To znamená, že mohou do jisté míry přizpůsobit rychlost metabolismu a reakční cesty

metabolismu, aby se přizpůsobily změnám v množství zdrojů. Je to např. kolísání kvality a kvantity zdrojů nebo změny požadavků na zdroje (rozmnožování, homeostáze).

V praxi měříme stupeň bazálního (standardního, minimálního) metabolismu neaktivního organismu v laboratoři. Bazální stupeň je vždy menší než skutečný metabolický výdej volně žijících organismů. Ve většině organismů je i tak průměrný denní energetický výdej pro biologickou aktivitu poměrně konstantním násobkem (typicky dvojnásobek až trojnásobek) bazálního metabolického výdeje (Voet a Voetová, 1995).

2.3 Princip dýchání

Kyslíkem zásobuje organismus dýchací proces, a tím je zajištěn průběh biochemických procesů, při kterých dochází k oxidaci látek za uvolňování energie, která se ve formě makroergických sloučenin ATP konzervuje (Kodrík, 2011). Dýchání je tedy klíčové pro zajištění životních funkcí organismu. Aerobní metabolismus (t.j. za přítomnosti vzduchu) má jako odpadní produkty vodu, oxid uhličitý a popřípadě amoniak (u bílkovin). I v anaerobní části metabolismu (t.j. bez přítomnosti vzduchu) se produkuje ATP (menší část molekul), a to během anaerobní glykolýzy, která předchází anaerobním procesům a jejímž výsledkem je produkce kyseliny pyrohroznové ($C_3H_4O_3$), která představuje převážnou část vázané energie uvolněné až při oxidační dekarboxylaci (vznik acetyl-koenzymu A) a následně pak v citrátovém cyklu.

Enzymatická výbava, která zajišťuje u hmyzu anaerobní biochemické procesy, se částečně liší od obratlovců. U obratlovců dochází ve svalech při nedostatku kyslíku k redukci puryvátu na laktát (katalyzátorem je laktátdehydrogenáza). Je tomu tak proto, aby se oxidoval (regeneroval) nikotinamidadenindinukleotid: $NADH_2 \rightarrow NAD$, a byl tak k dispozici pro transport vodíku v dostatečném množství. Laktátdehydrogenáza však u bezobratlých zpravidla chybí, a proto je výše zmíněná reakce nahrazena jinou, a to redukcí dihydroxyacetonfosfátu na alfa-glycerofosfát za katalyckého působení glycerofosfát-dehydrogenázou (Kodrík, 2011). Účelem této reakce je, stejně jako u obratlovců, tvorba koenzymu NAD (volného nosiče H^+ kationtů).

2.3.1 Tracheální orgány

U zástupců vzdušnicovců je dýchání zajištěno tzv. tracheální dýchací soustavou: soustavou trubic, která prostupuje celým tělem (Kodrík, 2011). Ty zajišťují zásobování těla kyslíkem přímo bez účasti tělních tekutin. Tracheální soustava je odvozena od inte-

gumentu, který je primárním dýchacím orgánem všech živočichů. U hmyzu je však funkce primárního dýchacího orgánu značně komplikována jeho stavbou, a především přítomností plynům značně nepropustnou kutikulou. Difúze plynů přes ni je ve většině případů zanedbatelná a většinou nedostačující pro zásobování těla kyslíkem. V průběhu evoluce se proto u vzdušnicovců vyvinulo několik mechanismů, které zajišťují efektivnější výměnu plynů a umožňují aktivní způsob života a i určité zvětšování velikosti těla:

- zvětšení dýchacího povrchu – vznik již zmíněné tracheální dýchací soustavy, jejíž složitá stavba zajišťuje velké zvětšení dýchacího povrchu

- posílení mechanismu difúze – cílená difúze tracheální soustavou je velice efektivní, protože kyslík se dostává přímo na určité místo, a tak je tedy cesta tkáňové difúze velmi krátká

- udržování vysokého koncentračního spádu – ventilační pohyby uskutečňují výměnu vzduchu v tracheální soustavě. Tyto pohyby zajišťují udržování vysokého koncentračního gradientu kyslíku mezi tkáněmi a okolním vzduchem (Kodrík, 2011).

2.3.2 Dýchání hmyzu ve vodním prostředí

Obsah kyslíku ve vzduchu je asi 210 000 ppm (parts per milion), ale ve vodě maximálně 15 ppm (ve studené, kyslíkem nasycené vodě). I když některé druhy mohou vydržet delší dobu v anoxických podmínkách, musí kyslík získávat. Anaerobní respirace funguje ovšem jen na buněčné úrovni a poskytuje pouze 19krát méně energie než aerobní respirace.

Obsah kyslíku ve vodě je přímo závislý na několika faktorech. Jsou to hlavně teplota, salinita a parciální tlak (Kodrík, 2011). Ve stojatých vodách je voda nasycená především pomocí difúze. Obsah kyslíku v tekoucí vodě, a to především ve studené, je o poznání vyšší. Je to díky pohybu vody, kdy dochází k prokysličení. Kyslík je také produkován zelenými řasami, ale je jimi zase spotřebováván v noci při dýchání. Kyslík samozřejmě spotřebovávají i mikroorganismy a bakterie. To může vést až k bentické anoxii nebo ke změnám obsahu kyslíku ve vodě jak sezónního, tak cirkadiálního charakteru.

Vodní hmyz, který přijímá kyslík z vody, má uzavřený tracheální systém. To znamená, že jejich stigmata (otvory na straně těla hmyzu, směřující do vzdušnic) jsou nefunkční. Kyslík se do těla dostává pomocí tracheálních žaber. Jsou to členité, lamelární útvary. Tyto útvary jsou kryté velmi tenkou kutikulou a jsou uspořádány tak,

aby vytvářely co největší povrch a zásobovaly tak snadněji tělo kyslíkem. Kyslík je v žábrách zachycen dýchacím epitelem, odtud difunduje do tracheol žaber a dále se v plynném stavu šíří vzdušnicemi do tkání. U vážek jsou žábry umístěny v rektu a nazývají se střevní tracheální žábry. Síť tracheol je rozvětvená v rozšířené stěně konečníku. Kyslík se do nich dostává z vody, která je nasávána a vypuzována rektem.

U některých zástupců vodního hmyzu, jako jsou např. pakomáři, se při zásobování tkání kyslíkem uplatňuje hemoglobin, jako je tomu u obratlovců (Kodrík, 2011). Hemoglobin vyskytující se u hmyzu se však liší od hemoglobinu obratlovců. Hemoglobin obratlovců má relativně nízkou afinitu vůči kyslíku, protože obratlovci získávají kyslík z volného prostředí, kde je kyslík v nadbytku. Hemoglobin hmyzu se však setkává jen s nízkým tlakem kyslíku, proto musí mít vysokou afinitu. Larvy pakomárů sytí svůj hemoglobin tím, že kmitají tělem v okysličené vodě a urychlují tak pronikání kyslíku přes kutikulu a jeho vazbu na hemoglobin.

Některé druhy vodního hmyzu, např. některé druhy dvoukřídlých (Diptera), brouků (Coleoptera) a vodních ploštic (Heteroptera), se pravidelně chodí nadechovat k hladině a jsou tak zcela nezávislé na obsahu kyslíku ve vodě. Jiné druhy mohou přijímat kyslík z vaskulárního systému kořenů nebo stonků vodních rostlin (Rozkošný, 1980). Tyto druhy si vytvářejí zásoby vzduchu ve formě bublin pod křídly, kutikulárních výběžků nebo chlupů (Kodrík, 2011). Larvy řádu Heteroptera mají otevřenou vzdušnicovou soustavu a funkční průduchy (Rozkošný, 1980). Dýchají tedy kyslík ze vzduchové bubliny. Bublina ulpívá na různých částech těla, nejčastěji na břišní straně nebo u starších instarů i pod křídlovými plochami. Druhy z čeledi Corixidae dýchají celým povrchem těla nebo rektem (Rozkošný, 1980). Druhy z čeledi Aphelocheiridae žijící v tekoucích vodách dýchají plastronem. Plastron je tenká vrstvička vzduchu, která je udržovaná zvláštními hustými chloupky na povrchu těla (Rozkošný, 1980). Larvy z čeledi Nepidae mají ze 7.-9. článku zadečku vytvořený výběžek. V něm se udržuje a rozvádí vzduch. Na jeho spodní straně je kanálek, který je napojen na postranní kanálky zadečku. Do těchto postranních kanálků ústí 7 párů zadečkových stigmat (Rozkošný, 1980).

Larvy řádu Coleoptera mají stigmata vyvinutá většinou na jednom až dvou hrudních člancích a na 7-8 zadečkových člancích. Funkční bývají především průduchy na zadečkových člancích. To znamená, že larvy musejí často vyplouvat k vodní hladině, musejí být v mělkých vodách nebo se zdržovat v blízkosti vodních rostlin (Rozkošný, 1980). Larvy z čeledi Gyrinidae mají tracheální žábry ve formě obrvených přívěšků

po stranách zadečkových článků. Larvy z čeledi Haliplidae mají po těle výrůstky, které slouží jako mikrožábry. Larvy z čeledi Elmidae a Psephenidae mají 3 svazky vějířovitých žaber v kloakální dutině. Originální způsob dýchání je znám u larev z čeledi Helodidae, které žijí celý život v bahně na kořenech vodních rostlin (Rozkošný, 1980). Larvy získávají vzduch z rostlinných tkání pomocí bodcovitých výběžků, které jsou napojeny na zadní průduchy.

3. Praktická část

3.1 Úvod

Laboratorními pokusy jsem v návaznosti na hlavní témata vytyčená v rámci rešerše zjišťovala, jakou roli hraje velikost jedince při metabolismu u larev vybraných druhů vážek podřádu Anisoptera.

3.2 Materiál a metodika

3.2.1 Modelové organismy

Od června do října 2011 jsem testovala především larvy druhů *Libellula quadrimaculata* (Linné, 1758), *Libellula depressa* (Linné, 1758), *Cordulia aenea* (Linné, 1758), *Anacischna isosceles* (Linné, 1758), *Sympetrum vulgatum* (Linné, 1758), *Aeshna cyanea* (Müller, 1764) a *Anax imperator* (Linné, 1758). Údaje o ekologii a rozšíření jednotlivých druhů jsem čerpala z prací Hanel a Zelený (2000) a Askew (2004).

Libellula quadrimaculata je rozšířena v holarktické oblasti. Vyskytuje se od Severní Ameriky přes téměř celou Evropu, severní a centrální Asii až po Japonsko. Larvy tohoto druhu mají dvouletý, zcela výjimečně i tříletý vývoj. V konečných instarech dorůstají délky až 27 mm. Dospělci mají největší aktivitu v červnu a červenci. Vyskytují se nejčastěji v malých vodních nádržích s minimem vegetace. Larvy se vyskytují na dně na povrchu detritu.

Libellula depressa je nejhojnějším druhem z rodu. Najdeme jej ve stojatých vodách. Larvy se vyvíjí 2 roky.

Aeshna cyanea se vyskytuje téměř po celé Evropě kromě Balkánu od Mediteránu po jižní Skandinávii (Rozkošný, 1980). Larvy v konečných instarech dosahují velikosti až 48mm. U dospělých jedinců je největší aktivita od června do října. Nacházejí se v tůních, vodních kanálech a menších jezírkách.

Anax imperator se vyskytuje ve stojatých vodách a je to běžný druh téměř po celé Evropě. Anální pyramida je dlouhá až 7 mm (Rozkošný, 1980). Dosahuje délky až 60mm. Vyvíjí se po dobu 11 měsíců ve stojatých vodách.

Sympetrum vulgatum je druh, který se hojně vyskytuje ve střední a severovýchodní Evropě. Západně se vyskytuje až k Pyrenejím, jižně je jeho areál rozšíření

až po severní Itálii, na východ se vyskytuje přes Ural a Sibiř až do Číny (Rozkošný, 1980). Dospělci mají největší aktivitu od května do října, někdy až do listopadu. V konečných instarech dosahují larvy délky 15 - 19 mm. Vyskytují se nejčastěji v mělčích vodách nebo také mezi rostlinami.

Cordulia aenea je dosti rozšířeným druhem. Nalezneme ji nejčastěji ve stojatých vodách v lesích. Vývoj larev trvá 3 roky (Rozkošný, 1980). Délka těla dosahuje až 23 mm.

Anacischna isosceles má tělo zřetelně skvrnité. Larvy mají na nohách zřetelné kroužky. Tělo dosahuje délky až 48 mm. Larvy se vyvíjí 2 roky, nejčastěji ve stojatých vodách (Rozkošný, 1980).

3.2.2 Charakteristika a princip měření

Principem polarografického stanovení koncentrace kyslíku je, že se rozpuštěný kyslík na povrchu katody začne redukovat, je-li na katodu z ušlechtilého kovu vložen dostatečně vysoký záporný potenciál vůči referenční katodě (Linek a kol., 1989). Polarogram, t.j. závislost proudu procházejícího mezi elektrodami na vloženém potenciálu, je určen rychlostí dvou následných procesů: rychlostí transportu kyslíku z hlavního objemu tekutiny transportní zónou k povrchu katody a rychlostí a celkovou stechiometrií katodické redukce kyslíku. Rychlost katodické redukce kyslíku závisí na vložení potenciálu a elektrokatalické aktivitě materiálu katody. Ta závisí na materiálu katody a způsobu přípravy jejího povrchu, vlastnostech povrchové vrstvy, přítomnosti absorbovaných látek či případných oxidů, složení elektrolytu, zvláště pH a podobně (Linek a kol. 1989).

3.2.3 Experimentální uspořádání

Pro analýzu spotřeby kyslíku byly larvy odebírány z pěti různých lokalit v okolí Českých Budějovic: rybník Černiš, Vávrovský rybník, Suchdol nad Lužnicí, Řídká Blana a Jílovice. Odběry byly prováděny od července do konce září 2011. Lokality Suchdol nad Lužnicí a Jílovice jsou bývalé pískovny. Lokalita Suchdol nad Lužnicí představuje rekultivovaný okraj velké pískovny s řadou malých tůňek v otevřeném terénu zčásti zarostlé orobincem úzkolistým, žabníkem a dalšími vodními rostlinami. Pískovna v Jílovicích je menší a starší a postupně zarůstá lesní vegetací. V okrajových částech tůní převažuje porost orobince a je zde poměrně čistá voda. Larvy z Černiše

(severozápadní okraj Českých Budějovic) byly odebírány z kanálu v zamokřené olšině s hustou pobřežní vegetací a bohatým detritem. Na lokalitě Řídká Blana u Zlivi jsem larvy odebírala v lesní tůňce téměř bez vegetace, pouze s vodními mechorosty.

Larvy byly do Českých Budějovic dopraveny jednotlivě nebo v malých skupinkách stejně velkých jedinců v nádobkách s vodou o objemu cca 60-200 ml, posléze roztrženy podle příslušnosti k druhu a umístěny jednotlivě v nádobkách o objemu 80-500 ml v klimaboxu Entomologického ústavu Biologického centra. Larvy byly před vlastním měřením umístěny v prostoru s konstantní teplotou 20°C a fotoperiodou. Krmení bylo prováděno v pravidelném intervalu 24hodin. Každé krmení bylo zasnamenáno na průvodní kartu. Larvy byly 24 hodin před pokusem nechány vyhladovět. Hladovění bylo zaznamenáno na průvodní kartě vážek. Dále pak byly přeneseny do druhého klimaboxu, kde po 24 hodinách probíhalo vlastní měření za světelného režimu v klimaboxu se stálou teplotou 18°C.

V mé práci byla použita metoda měření rozpuštěného kyslíku, tedy polarografické stanovení koncentrace kyslíku za použití kyslíkové sondy pokryté membránou. Principem polarografického stanovení koncentrace kyslíku je, že se rozpuštěný kyslík na povrchu katody začne redukovat, je-li na katodu z ušlechtilého kovu vložen dostatečně vysoký záporný potenciál vůči referenční katodě (Linek a kol., 1989). Polarogram udává závislost proudu procházejícího mezi elektrodami na vloženém potenciálu a je určen rychlostí dvou následných procesů: rychlostí transportu kyslíku z hlavního objemu tekutiny transportní zónou k povrchu katody a rychlostí, a celkovou stechiometrií katodické redukce kyslíku. Rychlost katodické redukce kyslíku záleží na vložení potenciálu a elektrokatalické aktivitě materiálu katody. Ta závisí na materiálu katody a způsobu přípravy jejího povrchu, vlastnostech povrchové vrstvy, přítomnosti absorbovaných látek či případných oxidů, složení elektrolytu, zvláště pH a podobně (Linek a kol., 1989).

Pro stanovení obsahu kyslíku ve vodě byla použita membránou pokrytá kyslíková sonda WTW SERIES OXI 730 (firma WTW, www.wtw.de). Vlastní měření probíhalo ve skleněných kyslíkových nádobách se zabroušeným uzávěrem. Nejprve jsem tyto nádoby naplnila odstátou vodou nasycenou kyslíkem, odebíranou ze zásobní, nepřetržitě prokysličované nádoby s neupravovanou vodovodní vodou (původem z Římovské nádrže). Každou nádobu jsem pomocí sifonu plnila několikanásobně větším objemem a k analýze byl použit až „třetí“ objem nádoby. Do každé nádoby byla umístěna rulička z měděného pletiva, která sloužila pro uchycení vážek a jako jejich úkryt. V každé plné

nádobě byla následně zjištěna kyslíkovou sondou počáteční koncentrace kyslíku. Po zjištění obsahu kyslíku byla vložena do každé z nich předem vyhladovělá (připravila jsem si 24hod před pokusem) vážka, která byla řádně zdokumentovaná (druh, lokalita sběru, datum a čas sběru + hladovění, příslušné číslo vzorku). Bylo připraveno i několik (4-5) nádob testovacích vzorků, kam jsem neumístila žádnou larvu. Posléze byly všechny nádobky řádně uzavřeny zábrusovou skleněnou zátkou a upevněny svorkou. Po 24 (výjimečně 48) hodinách byly nádobky postupně otevřeny a změřena koncentrace rozpuštěného kyslíku.

3.2.4 Vážení a fotodokumentace larev

Larvy byly za účelem identifikace a pro pozdější proměření fotografovány za použití stereomikroskopu Olympus SZX10 s trinokulární hlavicí a fotoaparátu Olympus E-620 (viz Obr. 1-2). Data byla ukládána do počítače pomocí programu QuickPHOTO CAMERA 2.3 (firma Promicra, www.promicra.cz). Každá z vážek byla zcela ponořená do vody a třikrát vyfotografována kvůli vyloučení možných náhodných chyb.



Obrázek 1 *Aeshna cyanea*



Obrázek 2 *Cordulia aenea*

U každé vážky jsem dále určila, po skončení experimentu, její živou a suchou váhu. Suchou váhu jsem určila tak, že jsem každého jedince zmrazila a po skončení všech pokusů jsem všechny vzorky usušila v sušárně Sanyo OMT OVEN. Optimální teplotou se ukázalo 60°C po dobu 13 hodin (viz Výsledky). Poté jsem každý vzorek zvážila s přesností na 0,00001 gramu.

3.2.5 Testované hypotézy

Hlavní zkoumanou hypotézou byl jeden ze základních předpokladů metabolické teorie ekologie, t.j. alometrická závislost mezi velikostí larvy a spotřebou kyslíku při metabolismu. Přesněji jsem testovala, zda množství spotřebovaného kyslíku na jednotku hmotnosti larvy klesá s její velikostí a zda je tato závislost na logaritmu velikosti lineární. Proto jsem v experimentech kombinovala různé velikosti a instary larev. Dále jsem se snažila ověřit, zda je rychlost metabolismu vztažená na jednotku hmotnosti nižší u méně aktivních druhů (představovaných v pokusu zástupci rodu *Libellula*) než u druhů více aktivních (představovaných v pokusu zástupci rodu *Anax* a *Anaciaeschna*).

3.2.5 Použitá statistika

Získaná data jsem zpracovala v programu Microsoft Excel ve verzi 2007. Předpokládanou alometrickou závislost ve tvaru $y = a \cdot x^b$ jsem převedla na lineární závislost ve tvaru $\log_{10}(y) = \log_{10} + b \cdot \log_{10}(x)$. Provedla jsem pak lineární regresi takto transformovaných dat.

3.3 Výsledky

3.3.1 Spotřeba kyslíku bez přítomnosti vážky

Během pilotních pokusů se objevilo spontánní kolísání naměřených hodnot úbytku kyslíku. Kontrolní pokusy bez vážek ukázaly, že dochází k úbytku kyslíku i v nádobkách bez vážek. Proto jsme z kontrolních pokusů zpracovali data tím způsobem, že jsme odečetli konečné hodnoty obsahu kyslíku ve vodě od prvotních hodnot a z výsledků následně vypočítali střední hodnotu a variabilitu (Tabulka 1). Střední hodnotu jsme následně odečítali od každého měření vážky. U kontrolních pokusů byla teplota v rozmezí 16,1-19,1°C.

Datum	<i>n</i>	střední hodnota	směrodatná odchylka
01.09.2011	4	0,49	0,01
02.09.2011	4	0,48	0,01
04.09.2011	11	0,47	0,01
05.09.2011	20	0,17	0,01
06.09.2011	20	0,17	0,01
07.09.2011	12	0,37	0,01
08.09.2011	16	0,17	0,01
10.10.2011	9	0,18	0,02
15.09.2011	14	0,13	0,01
19.07.2011	17	0,61	0,20
23.09.2011	7	0,09	0,02
24.09.2011	7	0,17	0,01
26.09.2011	8	0,07	0,02
28.09.2011	6	0,09	0,01
29.09.2011	14	0,11	0,05
30.09.2011	6	0,47	0,02
31.08.2011	3	0,41	0,03

Tabulka 1. Spotřeba kyslíku v kontrolních pokusech v jednotlivých dnech. Písmeno *n* znamená počet provedených pokusů. Střední hodnota a směrodatná odchylka jsou uváděny v ml O₂.g⁻¹.h⁻¹.

Abych ověřila, že úbytek kyslíku v pokusech bez vážky nebyl způsoben oxidací měděného pletiva, které jsem používala jako úkryt vážek, udělala jsem navíc dne 18.7. 2011 pokus, kde jsem porovнала plastové a měděné pletivo se zcela prázdnými nádobami jen s vodou:

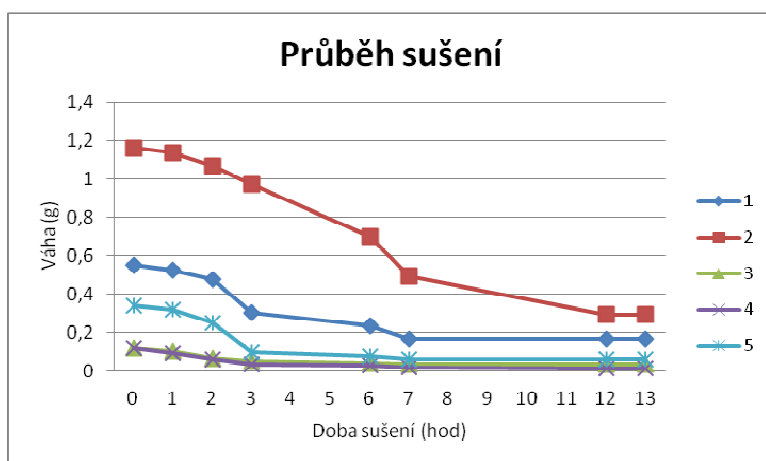
vzorek	<i>n</i>	střední hodnota	směrodatná odchylka
měď	5	0,99	0,02
voda	3	0,80	0,01
plast	4	1,07	0,15
měď + plast	1	0,87	----

Tabulka 2. Pokusné vzorky. Měď - v kyslíkové nádobě umístěna rolička z mědi, plast - umístěna rolička z plastu, voda - nádoba bez roličky (poze voda). Písmeno *n* znamená počet provedených pokusů. Střední hodnota a směrodatná odchylka jsou uváděny v ml O₂·g⁻¹·h⁻¹.

Ve všech testovacích nádobách byl úbytek téměř ve stejné výši u plastové sítky, měděného pletiva či v úplně prázdné nádobě s vodou (Tabulka 2). K úbytku kyslíku docházelo nejspíše v důsledku metabolické činnosti mikroorganismů, nebo redukci organických látek obsažených ve vodě.

3.3.2 Sušení vážek

Sušení larev probíhalo po dobu 13 hodin. Obrázek č. 3 ukazuje průběh sušení u pěti vzorků různé hmotnosti a velikosti:

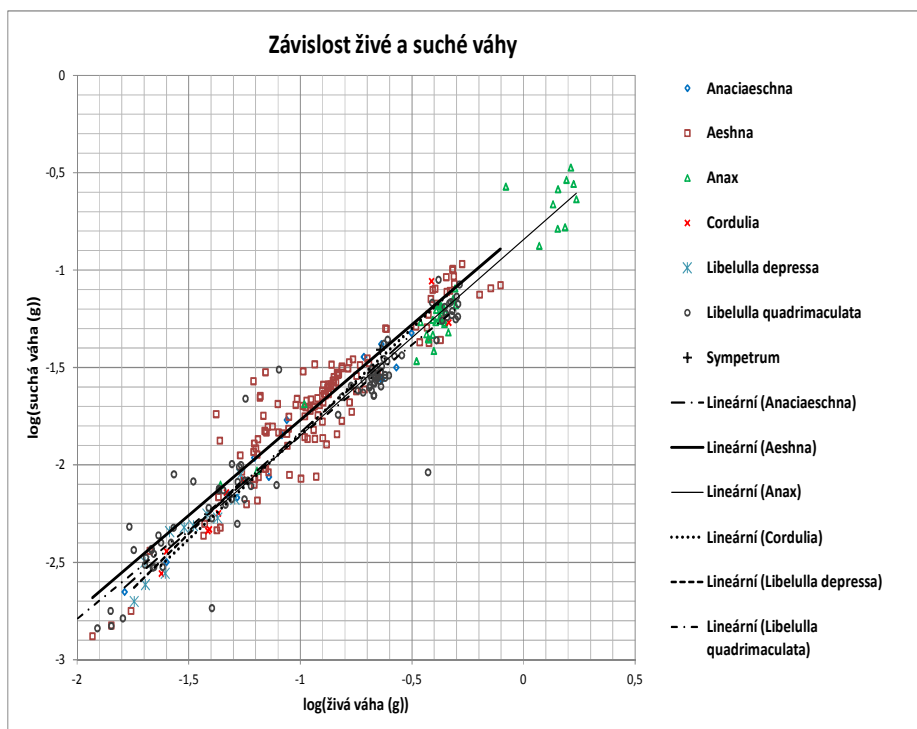


Obrázek 3. Průběh sušení v čase pro pět různých jedinců druhu *Aeshna cyanea*.

Z grafu na Obr. 3 vyplývá úbytek hmotnosti v závislosti na čase. Po 12 hodinách sušení je hmotnost téměř neměnná, tzn. že pro vážení suché váhy bylo třináctihodinové hodinové sušení dostačující.

3.3.3 Poměr suché a živé váhy

Nejprve jsem zjišťovala, jaký je poměr suché a živé váhy larev každého druhu. Výsledky shrnuje Obrázek 4:



Obrázek 4. Závislost živé a suché váhy u druhů *Aeshna cyanea*, *Anaciaeschna isosceles*, *Anax imperator*, *Cordulia aenea*, *Libellula quadrimaculata*, *L. depressa* a *Sympetrum vulgatum*. Symboly = údaje pro jednotlivé druhy vážek (viz legenda), čáry = mocninné závislosti nejlépe popisující data pro jednotlivé druhy (rovnice a hodnoty R^2 modelů jsou uvedeny v Tabulce 3).

druh	n	$W_{\min}$	$W_{\max}$	a	b	R^2
<i>Aeshna cyanea</i>	152	0,0117	0,7873	0,162	1,02	0,85
<i>Anaciaeschna isosceles</i>	13	0,0163	0,3143	0,149	1	0,96
<i>Anax imperator</i>	37	0,0438	1,7221	0,148	0,99	0,92
<i>Cordulia aenea</i>	8	0,0238	0,4615	0,174	0,97	0,97
<i>Libellula depressa</i>	10	0,018	0,0539	0,219	1,13	0,88
<i>Libellula quadrimaculata</i>	100	0,009	0,516	0,128	0,95	0,92
<i>Sympetrum vulgatum</i>	1		0,2281			
Všechny druhy spolu	321	0,009	1,7221	0,145	0,98	0,92

Tabulka 3. Rovnice a hodnoty R^2 modelů pro Obrázek 5. V tabulce n značí počet pokusů, $W_{\min}$ a $W_{\max}$ značí minimální a maximální živou váhu (g).

Suchá váha pro všechny druhy tedy představuje asi 1/6 živé váhy bez ohledu na velikost jedince. Poměr mezi suchou a živou vahou představuje asi 10% - 20%. Rozdíly mezi jednotlivými druhy jsou zanedbatelné.

3.3.4 Závislost metabolismu na živé váze

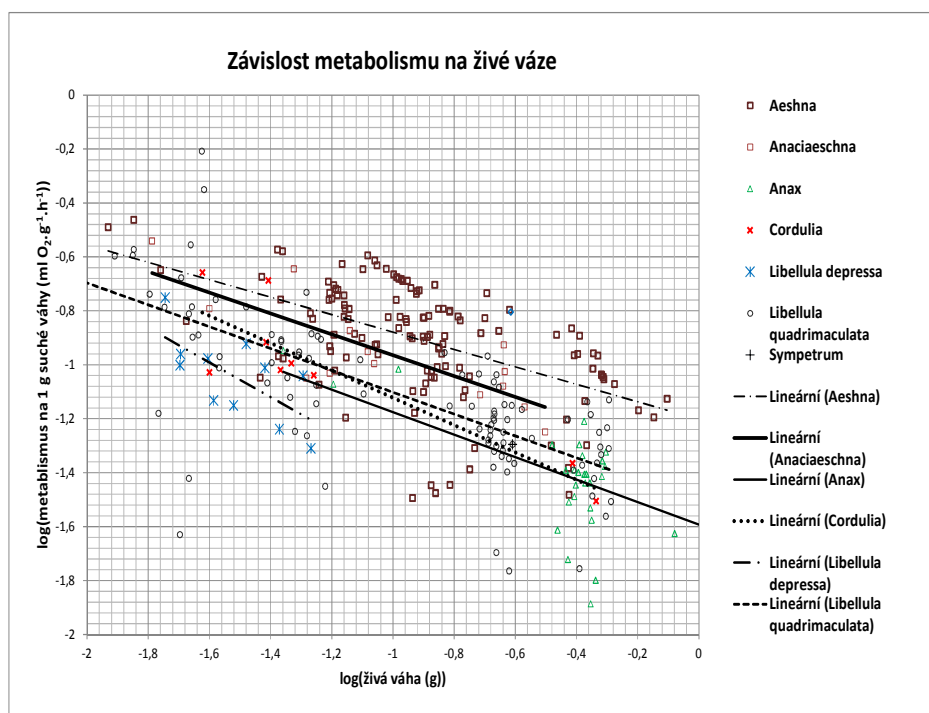
Metabolická spotřeba kyslíku vztažená na jednotku živé hmotnosti jedince se pohybovala zhruba v rozmezí od 0,01-0,03 ml $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ u největších larev po 0,1-0,6 ml $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ u nejmenších jedinců (Obr. 5). U všech druhů se rychlost metabolismu na jednotku hmotnosti snižovala s rostoucí vahou a velikostí. Při měření metabolismu byla u druhu *Anax imperator* nejvyšší hodnota naměřena 0,113 ml $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ a nejnižší 0,013 ml $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$; u druhu *Cordulia aenea* byla nejvyšší naměřená hodnota 0,22 ml $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ a nejnižší 0,031 ml $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$; u *Aeshna cyanea* byla nejvyšší hodnota 0,39 ml $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ a nejnižší hodnota 0,026 ml $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$; *Libellula depressa* má maximum 0,18 ml $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ a minimum 0,049 ml $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$; u *Libellula quadrimaculata* byla nejvyšší hodnota 0,62 ml $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ a nejnižší 0,017 ml $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$; *Anaciaeschna isosceles* byla nejvýše na hodnotě 0,29 ml $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ a nejnižší 0,056 ml $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$. U *Sympetrum vulgatum* byla naměřena pouze jedna larva, její spotřeba kyslíku byla 0,056 ml $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$.

Se zvyšující se vahou se tedy snižuje metabolismus vztažený na jednotku hmotnosti. Tato závislost je u druhů *Anax imperator*, *Cordulia aenea* a *L. quadrimaculata* velmi podobná. Další druhy se od nich liší. *Libellula depressa* má relativně nejmenší

metabolickou spotřebu, zatímco druhy *Aeshna cyanea* a *Anaciaeschna isosceles* ji mají nejvyšší.

Největší variabilitu můžeme pozorovat mezi jedinci druhů *Aeshna cyanea*, *Libellula quadrimaculata*, *L. depressa* a *Anax imperator*. U malých larev (v rozsahu 0,0085–0,014 g živé váhy) druhu *Libellula quadrimaculata* může být variabilita metabolismu i dvanáctinásobná, u larev druhu *Aeshna cyanea* dosahuje maximální variabilita metabolismu devítinásobných rozdílů pro larvy o velikosti 0,0013–0,0025 g suché váhy a u druhu *Anax imperator* osminásobných rozdílů u larev o velikosti cca. 0,008–0,012 g suché váhy. Hodnoty R^2 pro jednotlivé modely udávají, jak moc jsou individuální data v celku odlišná od průměrné závislosti. Čím je R^2 větší, tím je tato variabilita menší. Celková variabilita vztahující se na všechny zkoumané druhy je tedy poměrně velká a největší druhovou variabilitu vykazují *Libellula depressa* a *Aeshna cyanea*.

Sklon regresní přímky metabolismu vztaženého na jednotku hmotnosti je -0,36 až -0,64 u živé váhy. U *Aeshna cyanea* je sklon -0,37; u *Anaciaeschna isosceles* je -0,38; u *Anax imperator* je -0,36; *Cordulia aenea* je sklon -0,41; u druhu *Libellula quadrimaculata* je -0,58; u *Libellula depressa* je -0,64; pro všechny zkoumané druhy dohromady je sklon křivky -0,49.



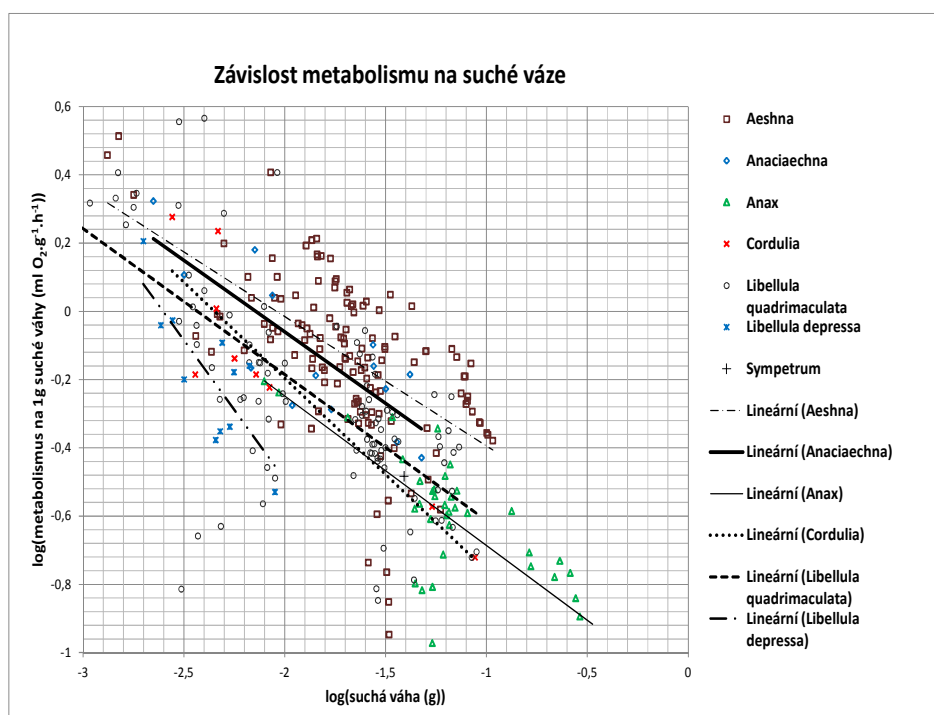
Obrázek 5. Závislost metabolismu na živé váze u druhů *Aeshna cyanea*, *Anaciaeschna isosceles*, *Anax imperator*, *Cordulia aenea*, *Libellula quadrimaculata*, *L. depressa* a *Sympetrum vulgatum*. Symboly = údaje pro jednotlivé druhy vážek (viz legenda). Koeficienty rovnic a hodnoty R^2 modelů jsou uvedeny v Tabulce 4.

druh	<i>n</i>	W_{min}	W_{max}	<i>a</i>	<i>b</i>	R^2
<i>Aeshna cyanea</i>	152	0,0117	0,7873	0,068	-0,37	0,26
<i>Anaciaeschna isosceles</i>	13	0,0163	0,3143	0,041	-0,38	0,65
<i>Anax imperator</i>	37	0,0438	1,7221	0,025	-0,36	0,52
<i>Cordulia aenea</i>	8	0,0238	0,4615	0,023	-0,41	0,77
<i>Libellula quadrimaculata</i>	100	0,018	0,0539	0,039	-0,58	0,51
<i>Libellula depressa</i>	10	0,009	0,516	0,009	-0,64	0,46
<i>Sympetrum vulgatum</i>	1		0,2281			
Všechny druhy	321			0,037	-0,49	0,44

Tabulka 4. Rovnice a hodnoty R^2 modelů pro Obrázek 6. V tabulce *n* značí počet pokusů, W_{min} a W_{max} značí minimální a maximální živou váhu(g).

3.3.5 Závislost metabolismu na suché váze

Z těsné závislosti mezi suchou a živou váhou vyplývá, že závislost metabolismu na suché váze musí být podobná jako u živé váhy. Přesto jsem z důvodů drobných pozorovaných odchylek provedla i porovnání pro suchou váhu. Naměřená data shrnuje Obr. 6:



Obrázek 6. Závislost metabolismu na suché váze u druhů *Aeshna cyanea*, *Anaciaeschna isosceles*, *Anax imperator*, *Cordulia aenea*, *Libellula quadrimaculata*, *L. depressa* a *Sympetrum vulgatum*. Symboly = údaje pro jednotlivé druhy vážek (viz legenda). Koeficienty rovnic a hodnoty R^2 modelů uvedeny v Tabulce 5.

druh	<i>n</i>	$W_{\min}$	$W_{\max}$	<i>a</i>	<i>b</i>	R^2
<i>Aeshna cyanea</i>	152	0,00132	0,10751	0,168	-0,25	0,34
<i>Anaciaeschna isosceles</i>	13	0,00223	0,0475	0,126	-0,41	0,65
<i>Anax imperator</i>	37	0,00792	0,33619	0,075	-0,40	0,57
<i>Cordulia aenea</i>	8	0,00277	0,08772	0,047	-0,56	0,81
<i>Libellula quadrimaculata</i>	100	0,00199	0,00894	0,091	-0,41	0,47
<i>Libellula depressa</i>	10	0,009	0,08926	0,007	-0,81	0,63
<i>Sympetrum vulgatum</i>	1		0,03899			
Všechny druhy	321			0,101	-0,43	0,46

Tabulka 5. Rovnice a hodnoty R^2 modelů pro Obrázek 6. V tabulce *n* značí počet pokusů, $W_{\min}$ a $W_{\max}$ značí minimální a maximální suchou váhu (g).

Metabolická spotřeba kyslíku vztažená na jednotku suché hmotnosti jedince se pohybovala zhruba v rozmezí od 0,076 po 3,685 ml $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ u nejmenších jedinců (Obr. 6). S rostoucí vahou klesá metabolismus na jednotku suché váhy stejně jako u živé váhy a rozdíly mezi jednotlivými druhy jsou podobné stejně jako u závislosti metabolismu na živé váze (viz Obr. 5). Celková variabilita vztahující se na všechny zkoumané druhy je opět poměrně velká, u malých larev (0,011–0,04 g) se tato variabilita může blížit až osminásobným rozdílům. Hodnoty R^2 udávající vnitrodruhovou variabilitu jsou o něco vyšší než u živé váhy, t.j. variabilita je při použití suché váhy o něco nižší.

Sklon regresní přímky metabolismu vztaženého na jednotku hmotnosti je -0,25 až -0,81 u živé váhy. U *Aeshny cyanea* je sklon -0,25; u *Anaciaeschny isosceles* je -0,41; u *Anax imperator* je -0,40; *Cordulia aenea* je sklon -0,56; u druhu *Libellula quadrimaculata* je -0,41; u *Libellula depressa* je -0,81; pro všechny zkoumané druhy dohromady je sklon křivky -0,43.

3.4 Diskuze

Je zřejmé, že největší vliv na metabolický výdej má různá velikost a váha jedinců. Vzájemné působení těchto faktorů není zcela objasněno. Je to proto, že spolu s nimi působí na jedince další vlivy, jako stres, příslušnost k druhu a vývojová fáze jedince nebo změny podmínek prostředí apod.

V experimentální části jsem zkoumala poměr suché a živé váhy. Bylo zjištěno, že suchá váha pro druhy *Anax imperator*, *Aeshna cyanea*, *Anaciaeschna isosceles*, *Corulia aenea*, *Libellula depressa*, *Libellula quadrimaculata* a *Sympetrum vulgatum* představuje zhruba 1/6 živé váhy - poměr mezi živou a suchou váhou se pohyboval v úzkém rozmezí 10-20%. To znamená, že pro stanovení alometrického vztahu mezi velikostí a spotřebou kyslíku je zřejmě možné použít jen suchou nebo jen živou váhu a výsledek bude stále dostatečně přesný. Z porovnání obou měření vyplývá, že méně variabilní výsledky poskytuje měření se suchou váhou. Dále jsem zkoumala spotřebu kyslíku při metabolismu se zaměřením na vliv váhy a druhové příslušnosti dané larvy. Zjistila jsem, že tyto faktory mají přímý vliv na míru metabolismu, přičemž se rychlost metabolismu na jednotku hmotnosti snižovala s rostoucí vahou a velikostí, což odpovídá předpokladům metabolické teorie ekologie.

Hlavní zkoumanou hypotézou byl jeden ze základních předpokladů metabolické teorie ekologie, t.j. alometrická závislost mezi velikostí larvy a spotřebou kyslíku při metabolismu. Přesněji jsem testovala, zda množství spotřebovaného kyslíku na jednotku hmotnosti larvy klesá s její velikostí a zda je tato závislost na logaritmu velikostí lineární. Proto jsem v experimentech kombinovala různé velikosti a instary larev. Metabolismus se nezvyšuje tolik v závislosti na velikosti těla, jak předpovídá metabolická teorie ekologie. Mé výsledky naznačují sklon regresní přímky pro všechny zkoumané druhy dohromady v rozmezí -0,49 až -0,43; což je méně než teoretický předpoklad. Jen *Libellula depressa*, má výrazně nižší sklon křivky (-0,81 u suché váhy). To může být způsobeno malým množstvím pokusů nebo přítomností řas při pokusu. Ostatní druhy jsou téměř v rozmezí sklonu regresní přímky pro všechny druhy dohromady. Dále jsem se snažila ověřit, zda je rychlost metabolismu vztažená na jednotku hmotnosti nižší u méně aktivních druhů (představovaných v pokusu zástupci rodu *Libellula*) než u druhů více aktivních (představovaných v pokusu zástupci rodu *Anax* a *Anaciaeschna*). Má práce tento rozdíl naznačuje.

Z mých pokusů je vidět i variabilita metabolismu pro jedince podobné velikosti v rámci druhu a mezi druhy (viz Obr. 5 a 6). Největší variabilitu v závislosti jak na suché, tak živé váze měly larvy druhu *Aeshna cyanea*. Jejich variabilitu, která u malých larev o velikosti 0,0013–0,0025 g suché váhy dosahovala až desetinásobných rozdílů, může způsobovat stagnace růstu nebo naopak. Pozorovanou variabilitu si vysvětlují několika způsoby. Může to být způsobeno individuálními rozdíly mezi larvami nebo různou fází růstu v rámci instaru. Vývojové fáze, stejně jako velikost, stres nebo teplota, jsou jedním z nejdůležitějších faktorů, které přímo ovlivňovaly můj pokus. Další rozdíly mohou být způsobeny např. poraněním larvy nebo stresem. Dále můžeme uvažovat o chybě v naměřených datech, nebo mým chybným zápisem dat. Další pravděpodobnou možností se zdá být přítomnost řas při měření. Larvy, zejména druhu *Libellula*, mohly být obalené nebo porostlé zelenými řasami. To může znamenat snížení nebo zvýšení spotřeby kyslíku při experimentu. Variabilita mezi druhy mohla být způsobena i tím, že nebyl proveden stejný počet pokusů u každého druhu. V mé práci jsou nízké počty pokusů především u druhů *Libellula depressa* a *Cordulia aenea*. Proto různá míra variability u jednotlivých druhů není zatím dobře prokazatelná.

3.5 Závěr

Teoretická část mé práce shrnuje základní informace o vodním hmyzu a charakterizuje larvy řádu Odonata, které žijí ve vodě. Rešeršní část dále pokračuje základními informacemi o dýchání hmyzu ve vodním prostředí. V této části se zaměřuji zejména na tracheální orgány vodního hmyzu a především na dýchání larev vážek. Teoretická část zahrnuje také shrnutí funkce metabolismu, jeho fungování a základní informace o metabolickém výdeji.

V experimentální části jsem zkoumala poměr suché a živé váhy. Bylo zjištěno, že suchá váha pro druhy *Anax imperator*, *Aeshna cyanea*, *Anaciaeschna isosceles*, *Cordulia aenea*, *Libellula depressa*, *Libellula quadrimaculata* a *Sympetrum vulgatum* představuje zhruba 1/6 živé váhy - poměr mezi živou a suchou váhou se pohyboval v úzkém rozmezí 10–20%. To znamená, že pro stanovení alometrického vztahu mezi velikostí a spotřebou kyslíku je zřejmě možné použít jen suchou nebo jen živou váhu a výsledek bude stále dostatečně přesný. Dále jsem zkoumala spotřebu kyslíku při metabolismu se zaměřením na vliv váhy a druhové příslušnosti dané larvy. Zjistila jsem, že tyto faktory mají přímý vliv na míru metabolismu, přičemž se rychlost metabolismu na jednotku

hmotnosti snižovala s rostoucí vahou a velikostí, což odpovídá předpokladům metabolické teorie ekologie. Má práce naznačuje rozdíly rychlosti metabolismu vztažené na jednotku hmotnosti mezi méně aktivními druhy (*Cordulia*) a druhy více aktivními (*Anax*, *Anaciaeschna*).

Metabolická teorie ekologie předpovídá, jak se metabolický výdej mění s nastavením rychlostí přijímaných zdrojů z prostředí a množství zdrojů potřebných pro přežití, růst a rozmnožování, jak ovlivňuje ekologické procesy na všech organizačních stupních od jedinců po biosféru. Tato teorie přímo ukazuje kolik ekologických dynamik a struktur může být vysvětleno pomocí znalosti velikosti těla a zásobou zdrojů ovlivňující metabolismus. Metabolická teorie ekologie předpovídá sklon regresní přímky metabolismu vztaženého na jednotku hmotnosti $-1/4$. Mé výsledky naznačují sklon regresní přímky pro všechny zkoumané druhy dohromady v rozmezí $-0,49$ až $-0,43$; což je méně než teoretický předpoklad. To může být způsobeno právě již zmíněným nedostatečným počtem pokusů u určitých druhů, nebo různou fází vývoje, kdy některé larvy mohou být ve stagnaci růstu či naopak.

4. Seznam použité literatury

McPeck, M.A. 1998. The consequences of changing the top predator in a food web: a comparative experimental approach. *Ecological Monographs*, 68: 1–23.

Rudolf, V.H.W. 2007. Consequences of stage-structured predators: cannibalism, behavioral effects, and trophic cascades. *Ecology*, 80: 2991–3003.

Nagy, K. A. 2001. Food requirements of wild animals: predictive equations for free-living mammals, reptiles, and birds. *Nutrition Abstracts and Reviews, Series B*, 71: 21–31.

Brown, J. H. 2004. Toward a metabolic theory of ecology. *Ecology*, 85: 1772–1779.

Použité knihy a další neperiodické publikace:

Askew, R.R. 2004. The Dragonflies of Europe (revised edition). Harley Books, Colchester, England.

Hanel, L., Zelený, J. 2000. Vážky (Odonata), výzkum a ochrana, Metodika ČSOP č. 9. ČSOP Vlašim.

Peters, R. H. 1983. The ecological implications of body size. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

Rozkošný, R. 1980. Klíč vodních larev hmyzu. Academia, Praha.

Voet, D., Voetová, J. G. 1995. Biochemie. Victoria Publishing, Praha.

Usinger, R.L. (ed.) 1956. Aquatic Insects of California with keys to North American genera and Californian species. University of California Press, Berkeley a Los Angeles, California, USA.

Murray, R.K. 2002. Harperova biochemie. H H, Praha.

Linek, V., Vacek, V., Sinkule, J., Beneš, P. 1987. Měření koncentrace kyslíku membránou pokrytými kyslíkovými sondami. Československá akademie věd, Praha.

Kodřík, D. 2011. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, přírodovědecká fakulta, katedra fyziologie hmyzu (online) 2011 (cit. 2011-07-31) Dostupné z WWW: www.rum.prf.jcu.cz/public/fyziologiehmyzu