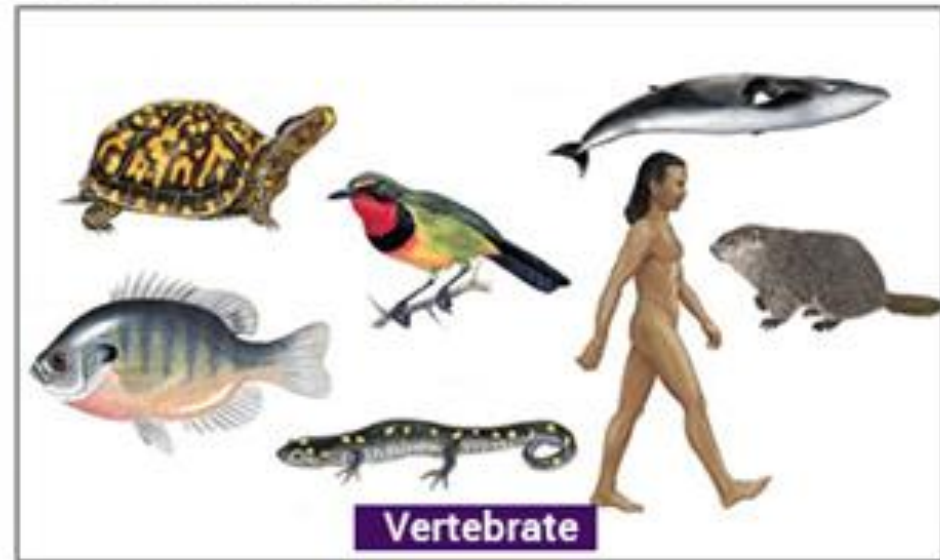


Srovnávací fyziologie bezobratlých

Invertebrate vs. Vertebrate



Proč bezobratlých?

Ne úplně vyhraněná skupina z pohledu fyziologie.
Spíše ti, co zbydou, když odstraníme obratlovce. Smysl je jiný...



Proč bezobratlých?

Jednoduchý stavební plán,

Sekvenovaný genom,

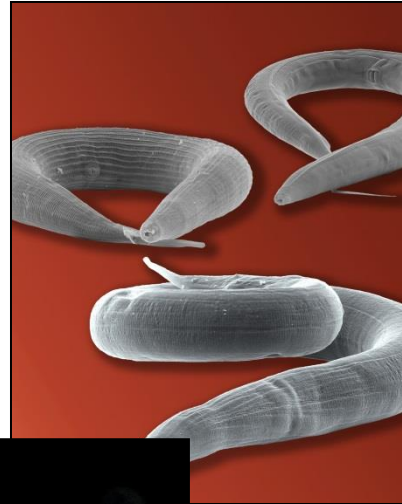
Rychlý generační cyklus,

Praktičtí: odolnost vůči exp. zásahům i etické aspekty

Hospodářský význam



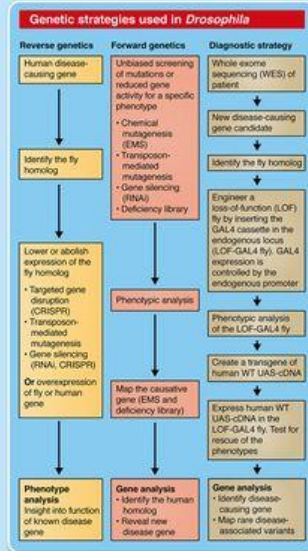
roč bezobratlých?



Modelové organismy
Hydra, C. elegans, Daphnia,
D. melanogaster, Tribolium
Aplysia, Loligo

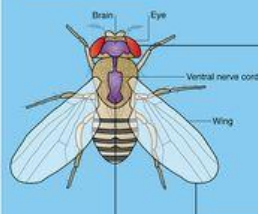


Drosophila a ukázka výzkumu lidských nemocí

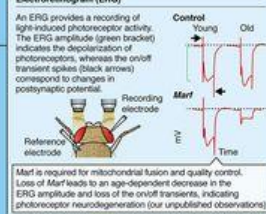


Nervous system assays

The nervous system in adult flies



Electroretinogram (ERG)



The nervous system in *Drosophila* larvae



Neuromuscular junction electrophysiology

The larval neuromuscular junction (NMJ) is a model synapse to study neurotransmission. An electrophysiological NMJ recording is performed by stimulating the motor neuron axons and recording the depolarization change in the larval body wall muscles. Mutants exhibit altered excitatory junction potential amplitude, suggesting a neurotransmission defect.

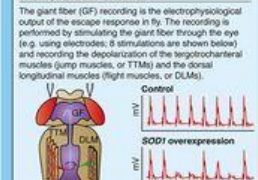
Dissected larval preparation

Suction electrode Stimulation via electrode Measure voltage

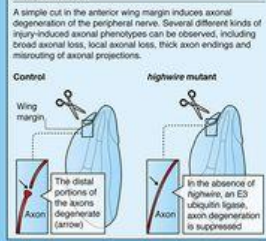
Control Synaptotagmin

Partial loss of Synaptotagmin, a synaptic vesicle Ca²⁺ sensor, causes reduced ERG amplitude. This is detected as a smaller excitatory junction potential amplitude.

Giant fiber system recordings

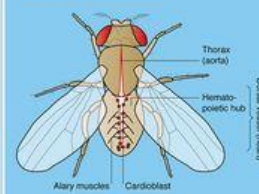


Wing injury assay



Cardiovascular assays

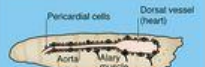
The circulatory system in adult flies



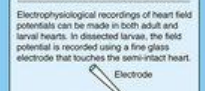
Heartbeat measurement



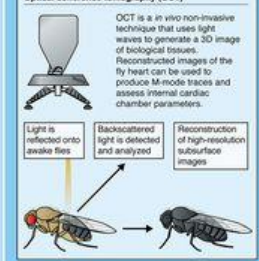
The circulatory system in *Drosophila* larvae



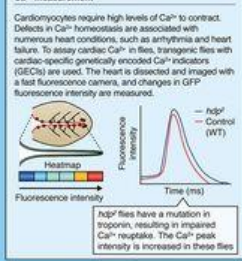
Field potential recordings in the heart



Optical coherence tomography (OCT)

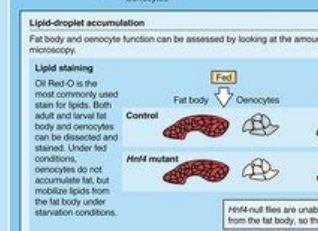


Ca²⁺ measurement

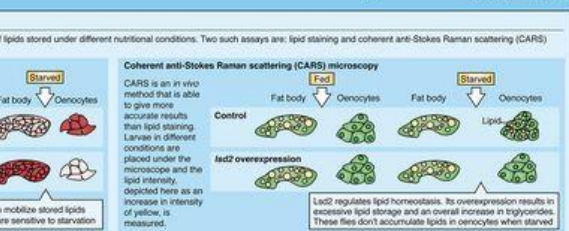
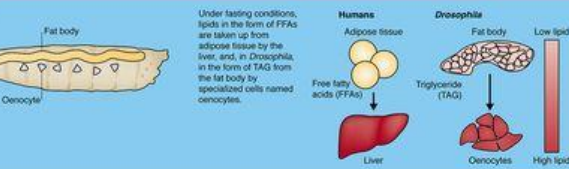


Oenocyte and fat body assays

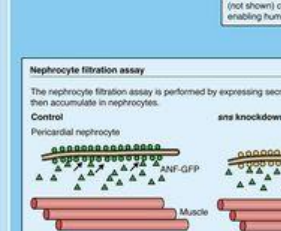
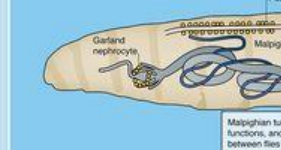
In flies, the fat body and oenocytes form the functional homologs of the liver.



Nephrocytes and Malpighian tubule assays



Mammalian glomerular podocytes



K organizaci přednášky:

Zaměření témat

Z čeho studovat

Příprava, nároky, ukončení.

Závěrečná rozprava - kolokvium (státnicová příprava)

0 – 90 bodů)



Prezentace článku:

Max. 10 minut

- Jaký problém autoři řeší.
- Jakou mají hypotézu.
- Jaké použili metody (jen obecně) a k čemu přišli.
- Jaký má práce význam
- Shrnutí pro media – 2 věty
- Proč je zrovna v tomto časopise (IF?)
- Co Vás zaujalo jako inspirace (Metodicky, struktura, graficky, atd.)

Hodnocení prezentace článku:

- Přednes
 - Srozumitelnost
 - Pochopení tématu
 - Reakce na dotazy
-
- Vystižení podstaty článku
 - Obtížnost článku
 - Ohodnocení 0 - 10 bodů

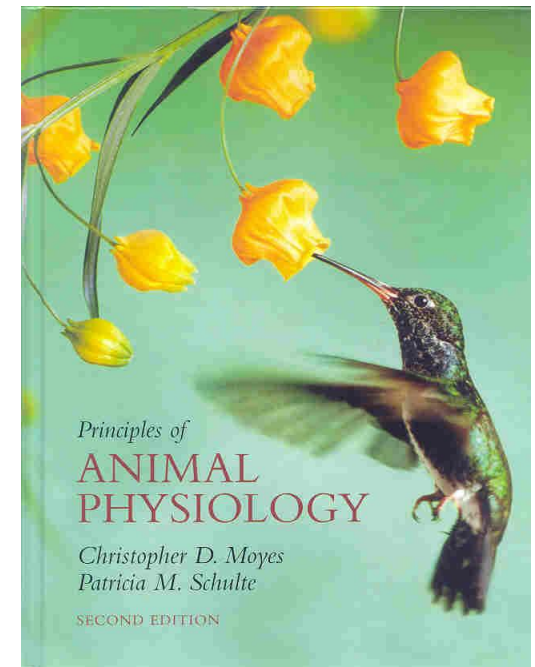
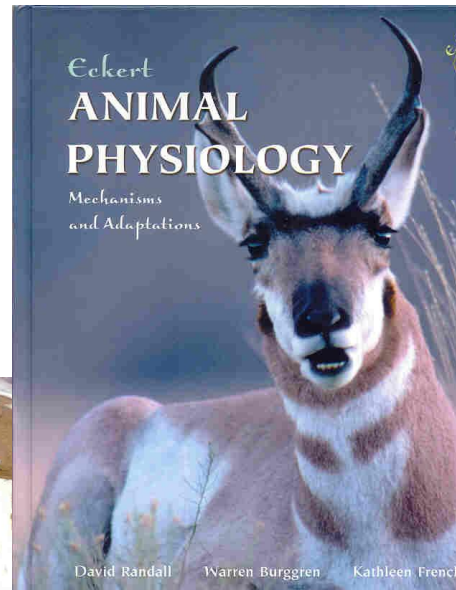
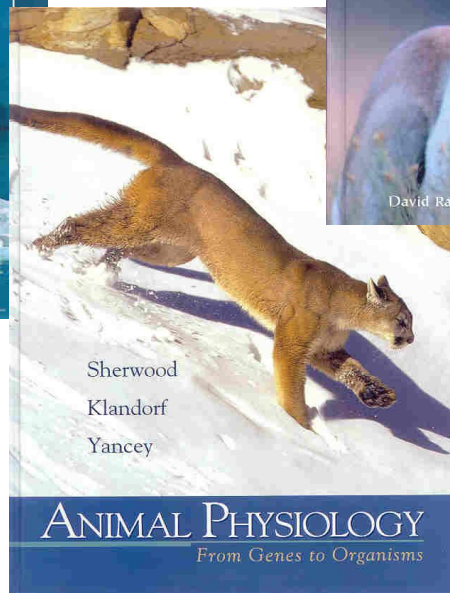
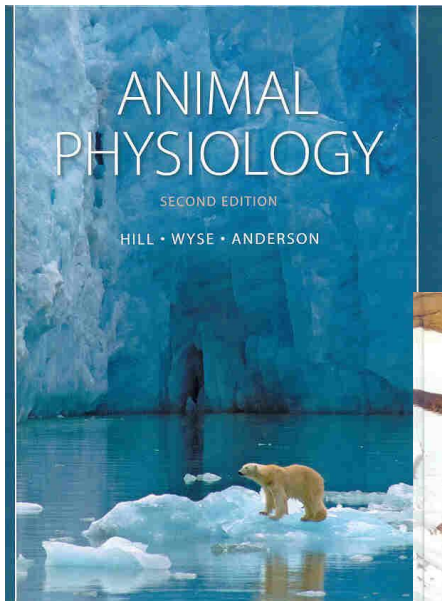
Zaměření témat

(důraz na modelové organismy a hmyz zvláště)

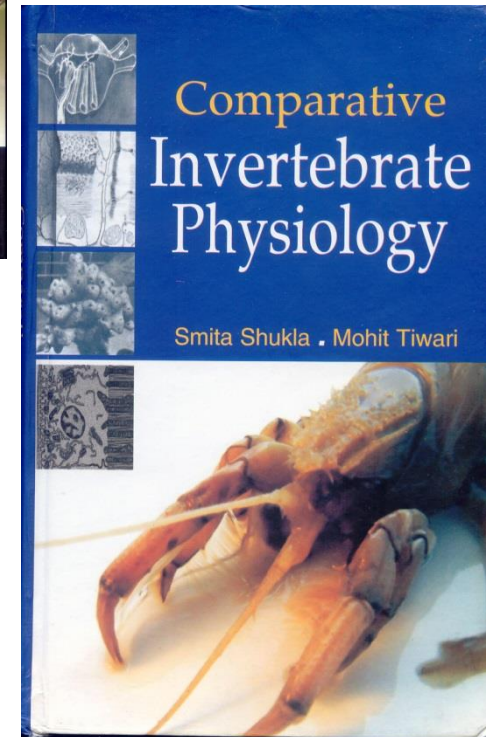
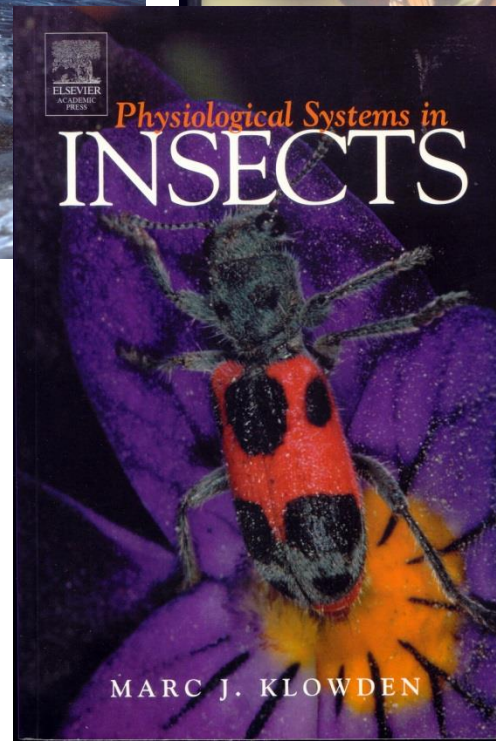
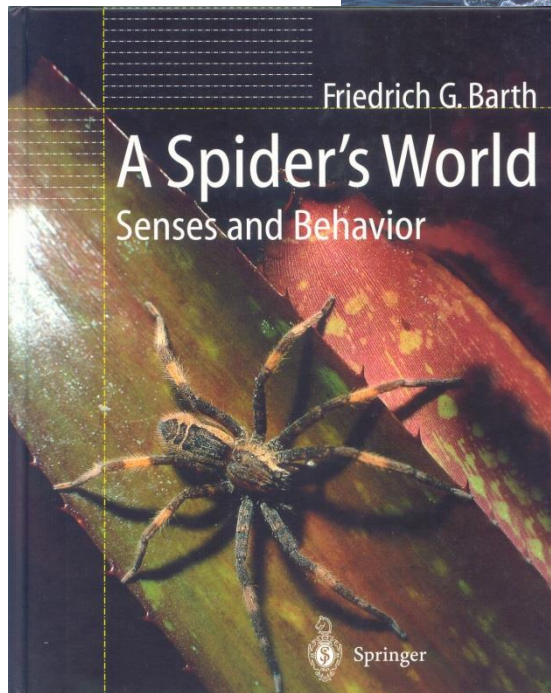
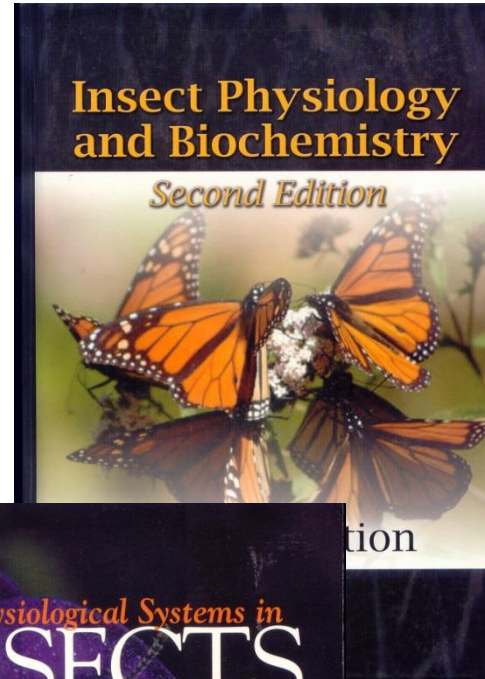
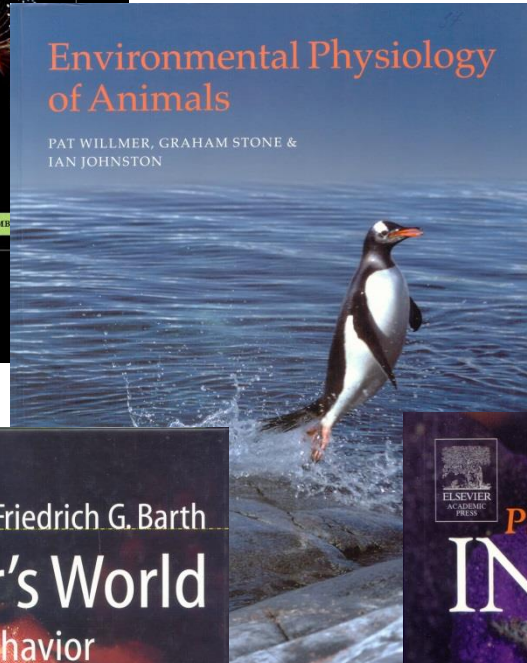
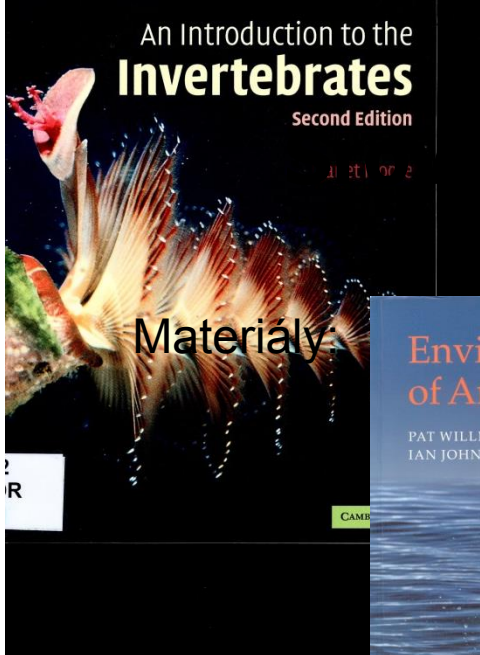
- Velikost těla, skelet,
- Tělní pokryv, růst, metamorfóza
- Hormony
- Požadavky na potravu, trávení, resorbce
- Metabolismus
- Dýchání
- Oběhový systém
- Exkrece
- Svalový systém, pohyb
- Cirkadiální rytmy
- Nervová soustava
- Smysly
- Chování

Srovnávací fyziologie

Materiály:



Učebnicí fyziologie bezobratlých



Srovnávací fyziologie bezobratlých

Materiály: přednášky, Kodrík-Fyziologie hmyzu
Články

Příklady z mnoha internetových zdrojů:

<http://marinebio.org/Oceans/marine-invertebrates.asp>

<https://projects.ncsu.edu/cals/course/ent425/library/tutorials/index>

<http://nelson.beckman.uiuc.edu/courses/neuroethol/>

System bezobratlých, M. Horsák, 30.1. 2009

<http://www.sci.muni.cz/botzool/study/systbez.pdf>

Nesmírně početní
a heterogenní

Mimořádné
postavení
hmyzu

1M druhů – jen ½!

Význam vědecký, praktický,
hospodářský (škůdci, potrava)
Medicínský (vektory)
Chov, genom, jednoduchost,
etika,

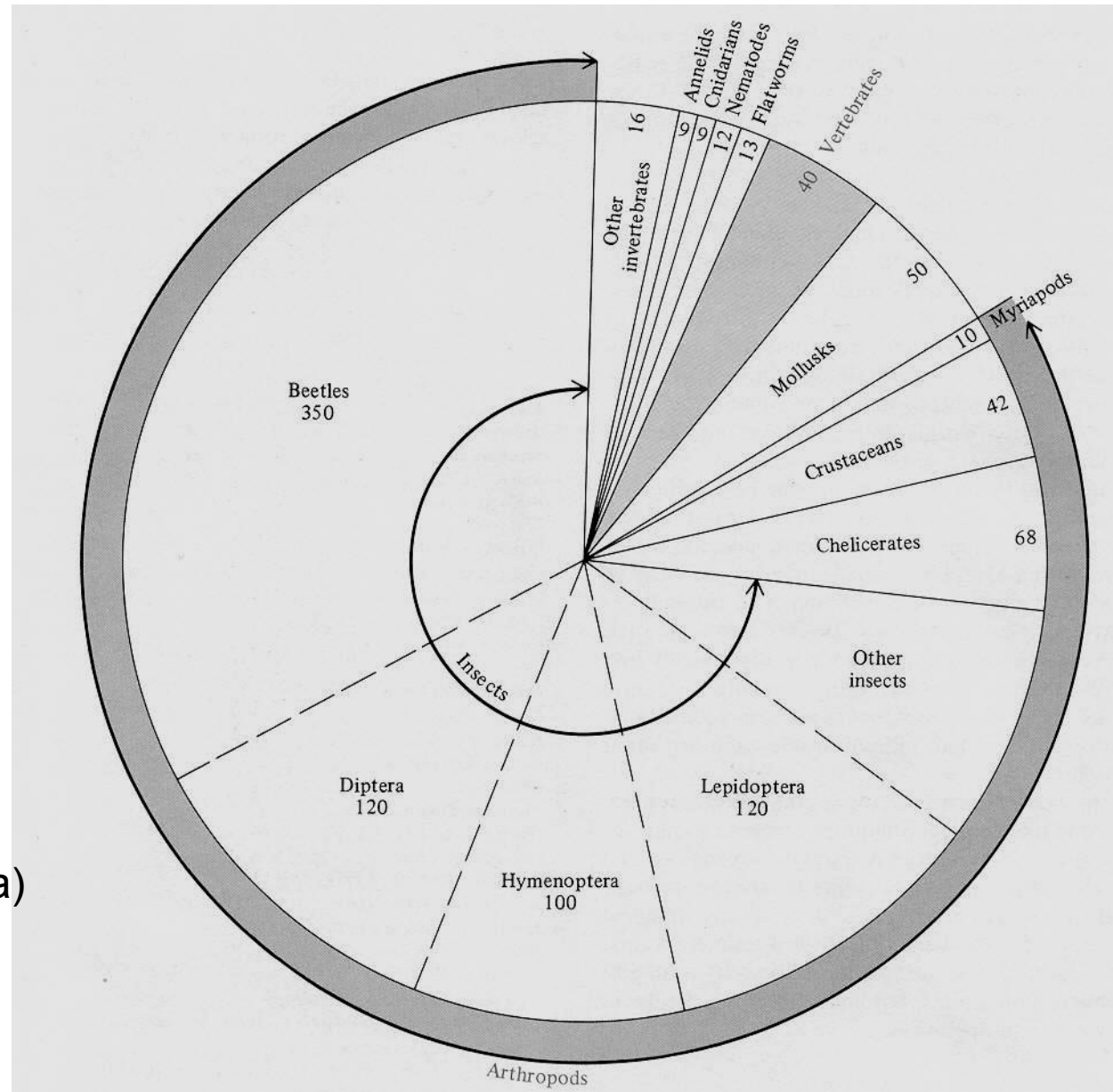


FIGURE 1-2 Number of species of animal groups showing the great predominance of the invertebrates (96.3% of the total) and, especially, of the arthropods (86% of the total). The numbers represent thousands of species.

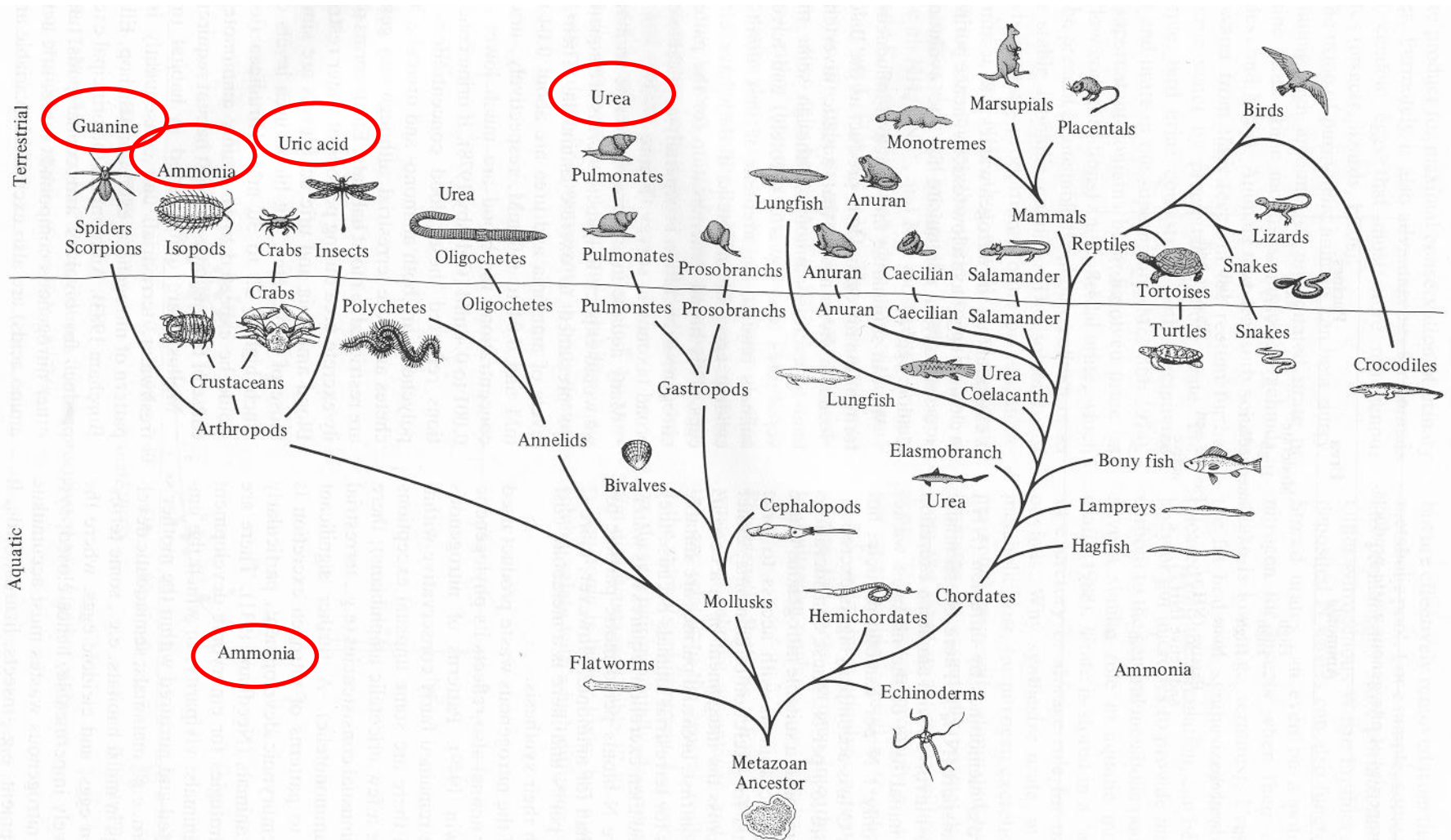
Hmyz vždy fyziology zajímal

O mimořádně dobré přizpůsobivosti hmyzu svědčí to, že na Zemi téměř neexistují místa, kam by aspoň někteří zástupci hmyzu neprošli. Stavba těla spolu s odpovídajícími fyziologickými vlastnostmi se osvědčily jako fylogeneticky velmi úspěšné.

Schopnosti hmyzího organismu, včetně jeho různých životních stádií, překonávat obrovské rozdíly v životních podmínkách jsou obdivuhodné.

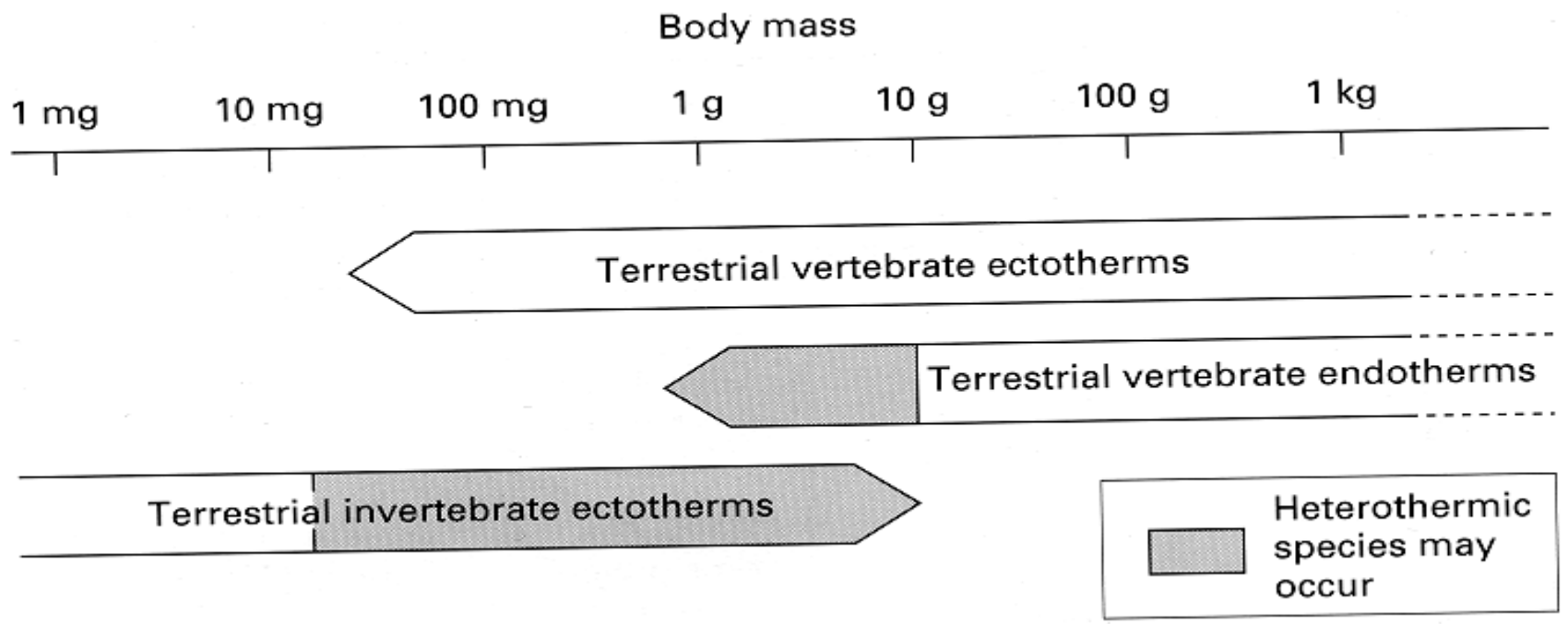
Různé důmyslné fyziologické a etologické adaptace jako jsou smyslové schopnosti nebo vytváření sociálních společenstev stále přitahují pozornost biologů.

Taxonomické zařazení nemusí určovat funkce.
 Např. o způsobu vylučování amonných metabolitů rozhoduje dostupnost vody



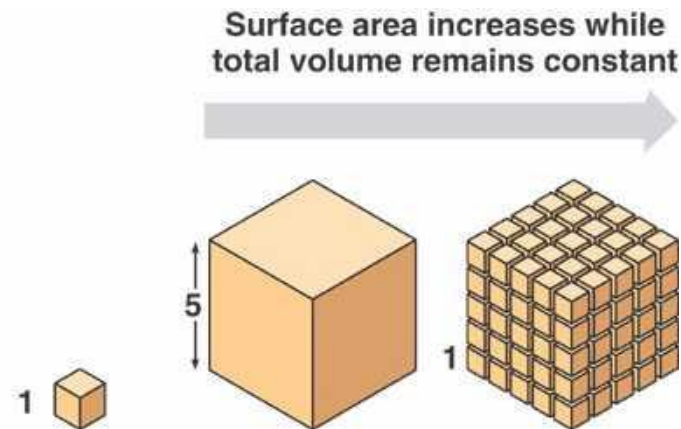
Pro fyziologickou taxonomii má větší význam, jestli živočich žije na souši anebo ve vodě, jestli voda je sladká nebo slaná nebo jestli je jeho tělo velké nebo malé nebo jestli jde o ekto- nebo endotermního tvora.

Jednotící faktor bezobratlých: Velikost těla
Bez obratlů – na souši musí být malí,
pokud velcí, tak ve vodě
V zásadě jsou **malí**.



To, že jsou malí, má důsledky pro funkce a způsob života

Zejména díky vztahu povrch versus objem



Total surface area (height × width × number of sides × number of boxes)	6	150	750
Total volume (height × width × length × number of boxes)	1	125	125
Surface-to-volume ratio (surface area / volume)	6	1.2	6

Velikost limituje:

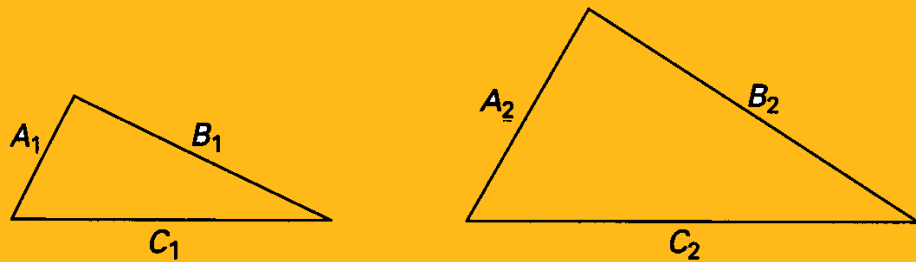
svalový výkon – u menších svaly výkonnější
pohyb těla – u větších menší náklady na
překonávání odporu vody a vzduchu
opora těla – u větších roste potřeba opory
udržování homeostázy – u větších klesají
náklady na udržování
transport difúzí – omezena na malé
vzdálenosti – nutnost cirkulace u
větších
ekologické niky - malí mohou obsadit
více prostředí

TABLE 4.1 The time required for diffusion through water to halve a concentration difference

Values are calculated for small solutes such as O_2 or Na^+ . For each tabulated distance between solutions, the time listed is the time required for diffusion to transport half the solute molecules that must move to reach concentration equilibrium. It is assumed that no electrical effects exist, and thus only diffusion based on concentration effects is occurring.

A biological dimension that exemplifies the distance specified	Distance between solutions	Time required to halve a concentration difference by diffusion
Thickness of a cell membrane	10 nanometers	100 nanoseconds
Radius of a small mammalian cell	10 micrometers	100 milliseconds
Half-thickness of a frog sartorius muscle	1 millimeter	17 minutes
Half-thickness of a human eye lens	2 millimeters	1.1 hours
Thickness of the human heart muscle	2 centimeters	4.6 days
Length of a long human nerve cell	1 meter	32 years

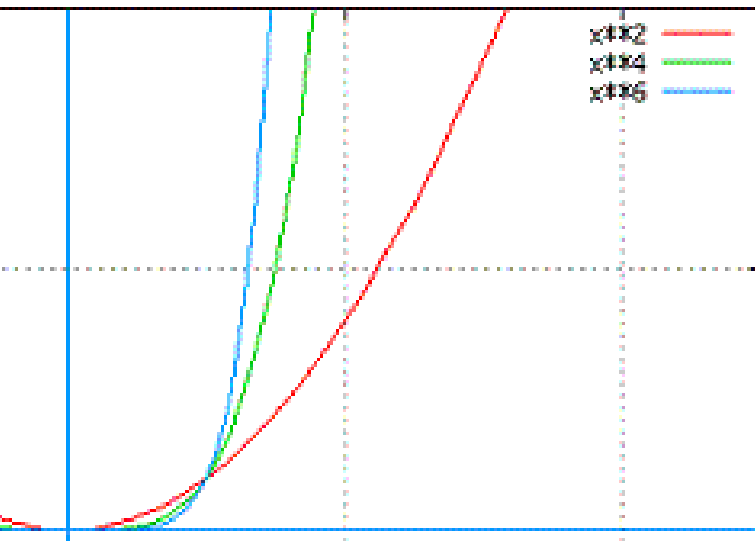
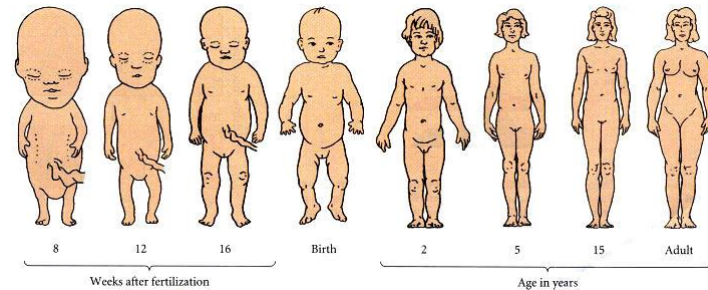
Tělesné proporce a nelineární – allometrické vztahy.
Velký živočich nemůže být zvětšeninou malého.



$$\frac{A_1}{A_2} = \frac{B_1}{B_2} = \frac{C_1}{C_2} = k$$

izometrické trojúhelníky,

Ale fyzikální (a biologické)
vztahy jsou allometrické.



Energetické náklady na jednotku hmotnosti na lokomoci klesají s hmotností bez ohledu na taxon nebo počet nohou.

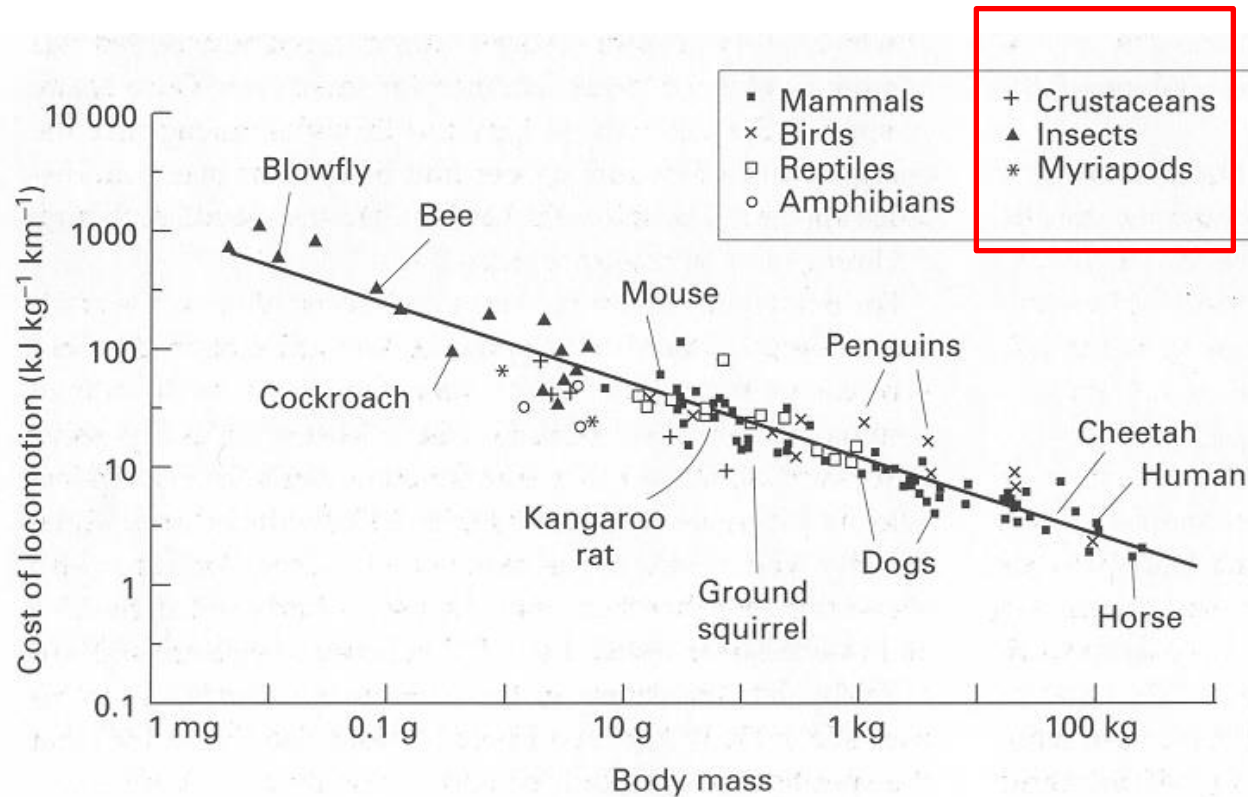
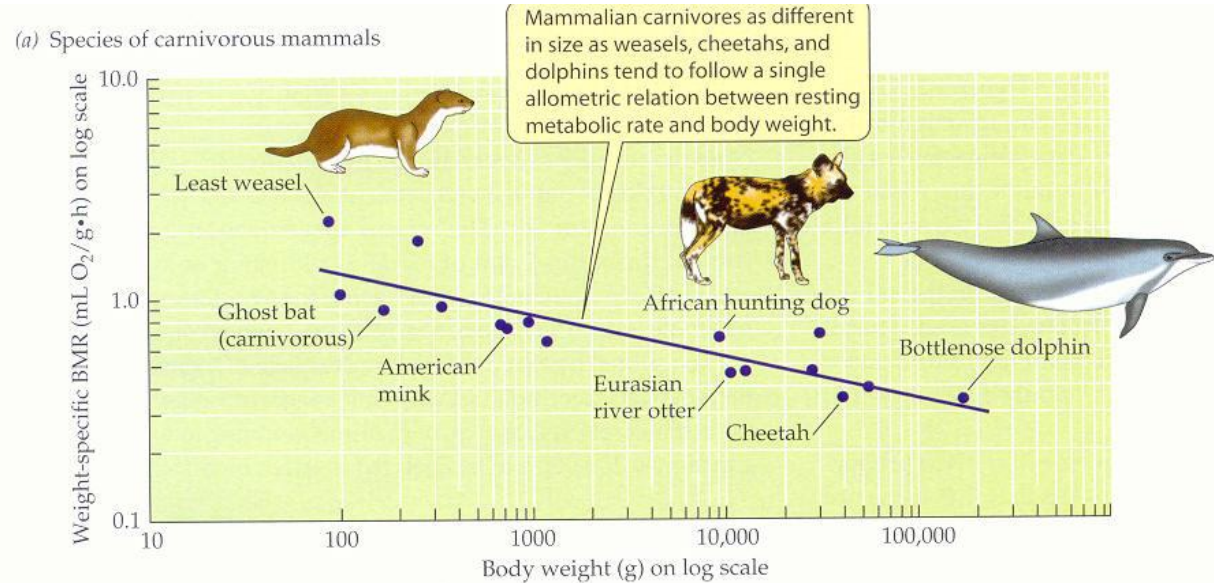


Fig. 3.10 The specific cost of transport in running mode for animals of various kinds, on a double logarithmic plot. To move a unit mass of their tissue a given distance is more expensive for small animals regardless of their taxon or the number of legs they may have. Differences in slope between taxa are slight.

Na 1 gram metabolismus s velikostí klesá. Podobně i dechová a tepová frekvence, hustota mitochondrií atd.



(b) Individuals of a species of crab

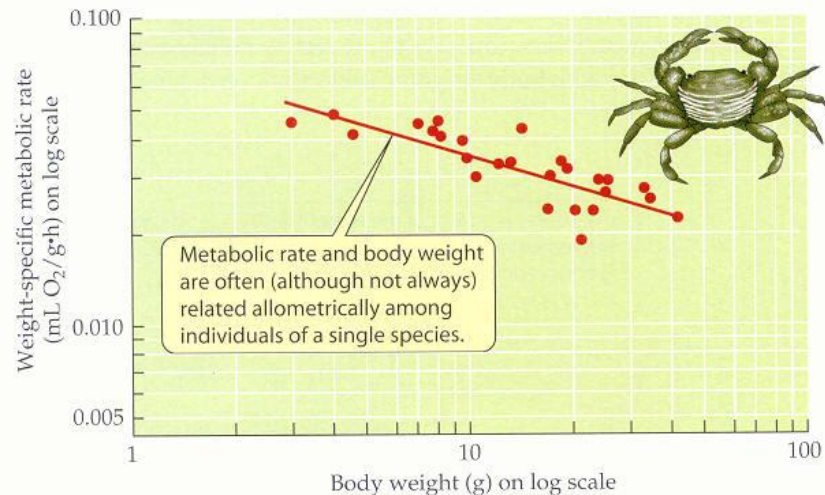
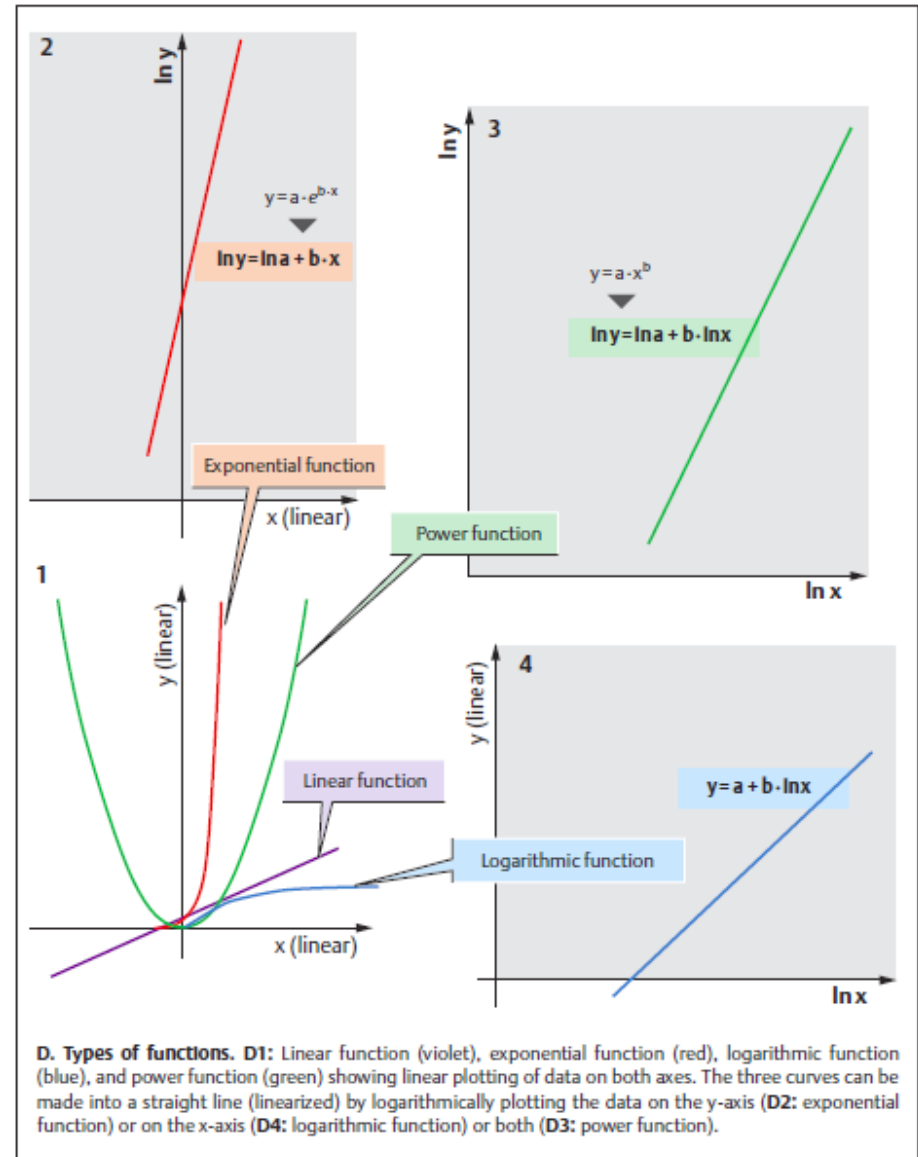


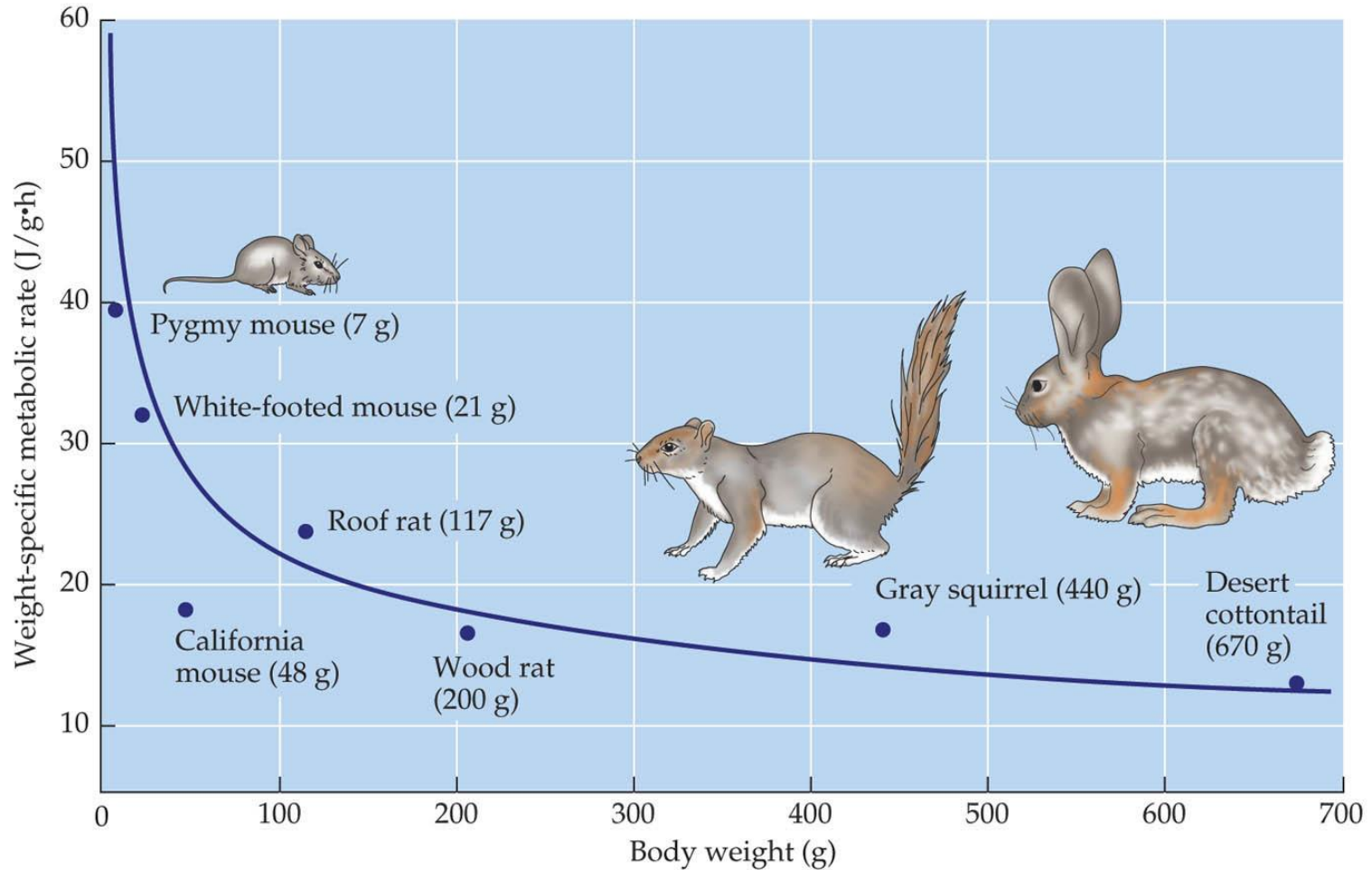
Figure 5.10 Metabolic rate and body weight are linearly on log-log coordinates. (a) A log-log plot of weight-specific metabolic rate as a function of body weight for mammals that eat primarily vertebrate flesh, plotted on log-log coordinates. Each point represents an individual species, and the blue line is a regression line fitted to them. (b) A log-log plot of weight-specific metabolic rate as a function of body weight in a crab (*Pachygrapsus crassipes*) at a body weight of 10 g. Each point represents a particular individual, and the red line is a regression line fitted to the points. See Appendix 1 for more details on log-log layouts. (a after McNab 1986; b after

Technické upozornění:

Pozor, stejná data vypadají jinak, podle toho, jaké osy použijete – lineární nebo logaritmické

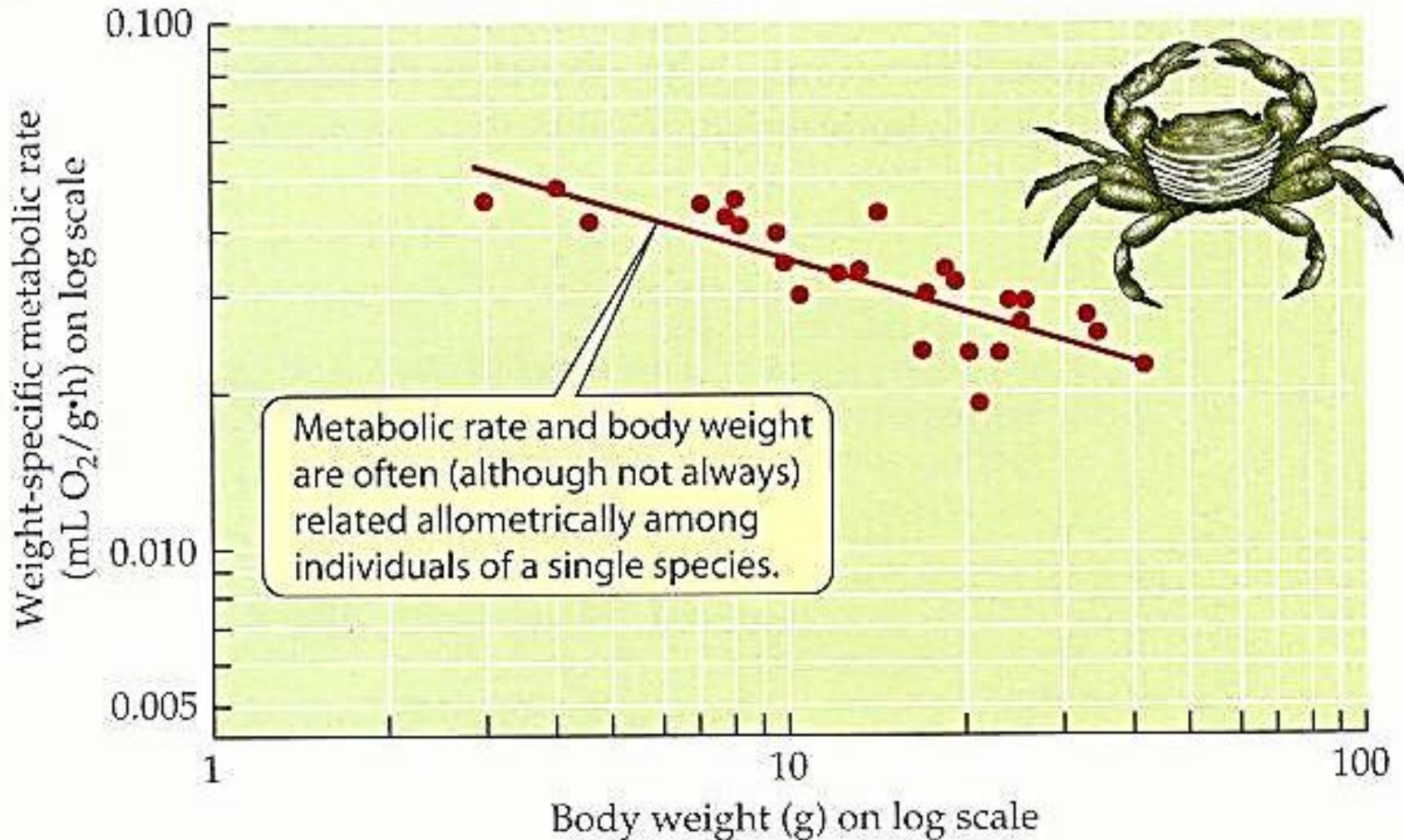


Na 1 gram metabolismus s velikostí klesá.
Větší jsou úspornější. (graf má lineární osy)



Na 1 gram metabolismus s velikostí klesá.
Větší jsou úspornější. (graf má log log osy)


(b) Individuals of a species of crab



Proč ale?

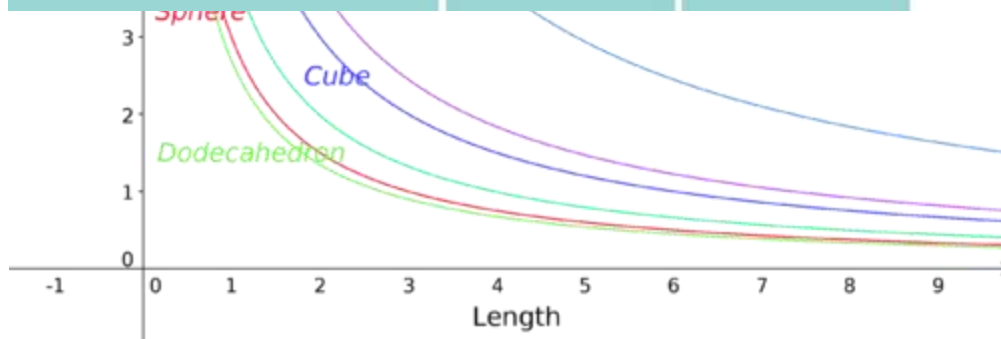
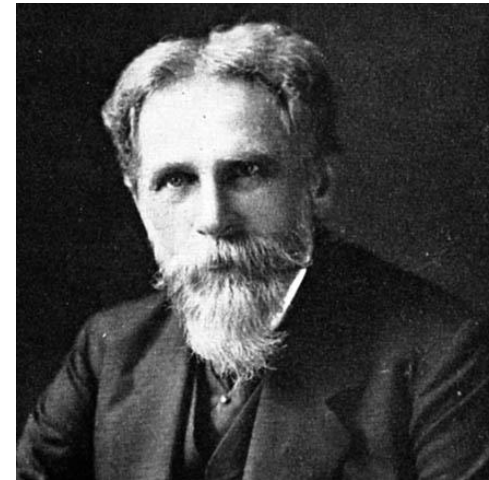
Rubnerův povrchový zákon: povrch roste jen s $2/3$ (0,67) mocninou hmotnosti (objemu).

T.j. S/V s velikostí zvířete klesá.



Total surface area (height \times width \times number of sides \times number of boxes)	6	150
Total volume (height \times width \times length \times number of boxes)	1	125
Surface-to-volume ratio (surface area / volume)	6	1.2

Max Rubner
1854-1932

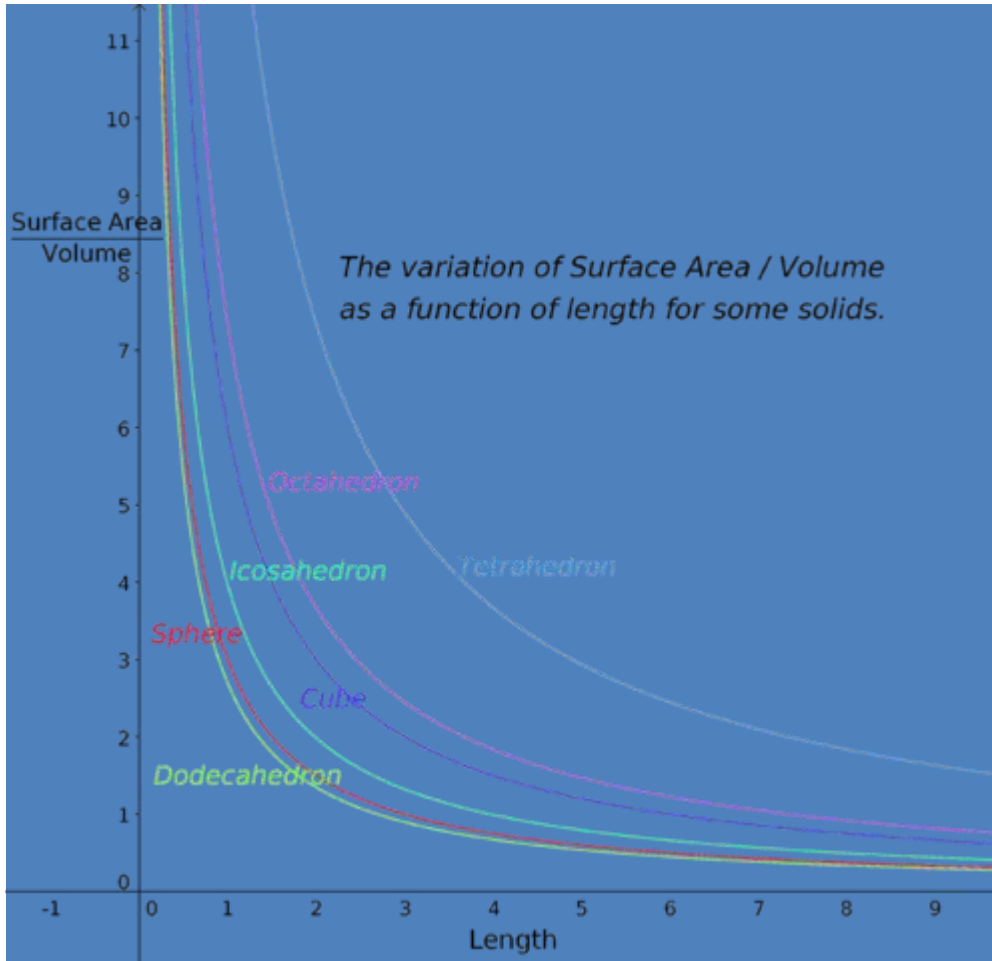


Rubner vztáhl i na metabolismus a interpretoval na homeotermech jako důsledek ztrát tepla povrchem. Malí ztrácejí více tepla a musejí více „topit“.

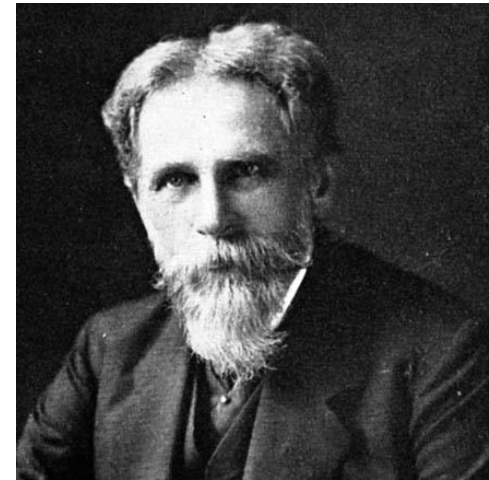
Proč ale?

Rubnerův povrchový zákon: povrch roste jen s $2/3$ (0,67) mocninou hmotnosti (objemu).

T.j. S/V s velikostí zvířete klesá.



Max Rubner
1854-1932



Rubner vztáhl i na metabolismus a interpretoval na homeotermech jako důsledek ztrát tepla povrchem. Malí ztrácejí více tepla a musejí více „topit“.

Spotřeba kyslíku a tedy i metabolismus (POZOR, ne na 1 g) roste s hmotností těla. Zajímavé ale je, že roste stejně u různých skupin – teplokrevných, ale i studenkrevných. Takže navzdory Rubnerovu předpokladu, regulace ztrát tepla povrchem těla **nemůže** být jedinou příčinou.

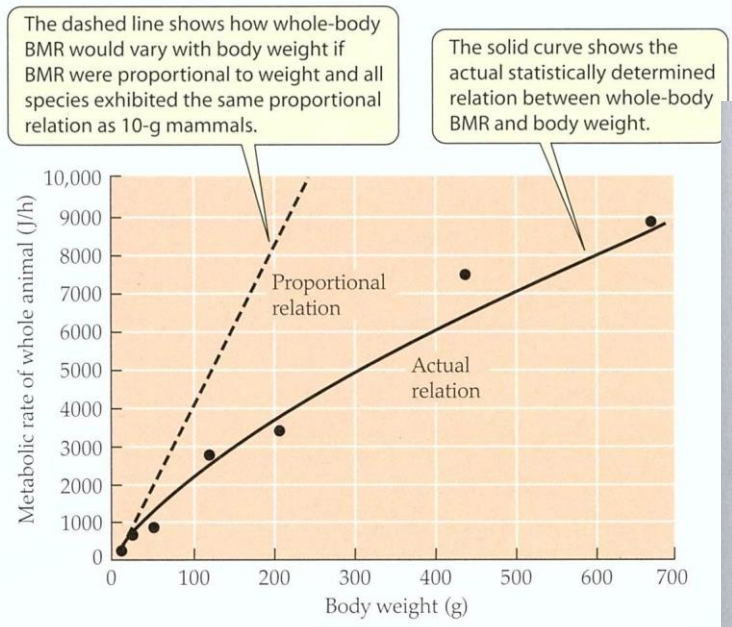


Figure 6.7 BMR as a function of body weight in various species of placental mammals. The solid curve—showing the actual relation—is statistically fitted to data for all sizes of mammals, although this plot includes body weights up to only 700 g. The points are data for seven North American species (see Figure 6.8 for identifications), illustrating that although the statistical line runs through the data, individual species do not necessarily fall right on the line. (After Hayssen and Lacy 1985.)

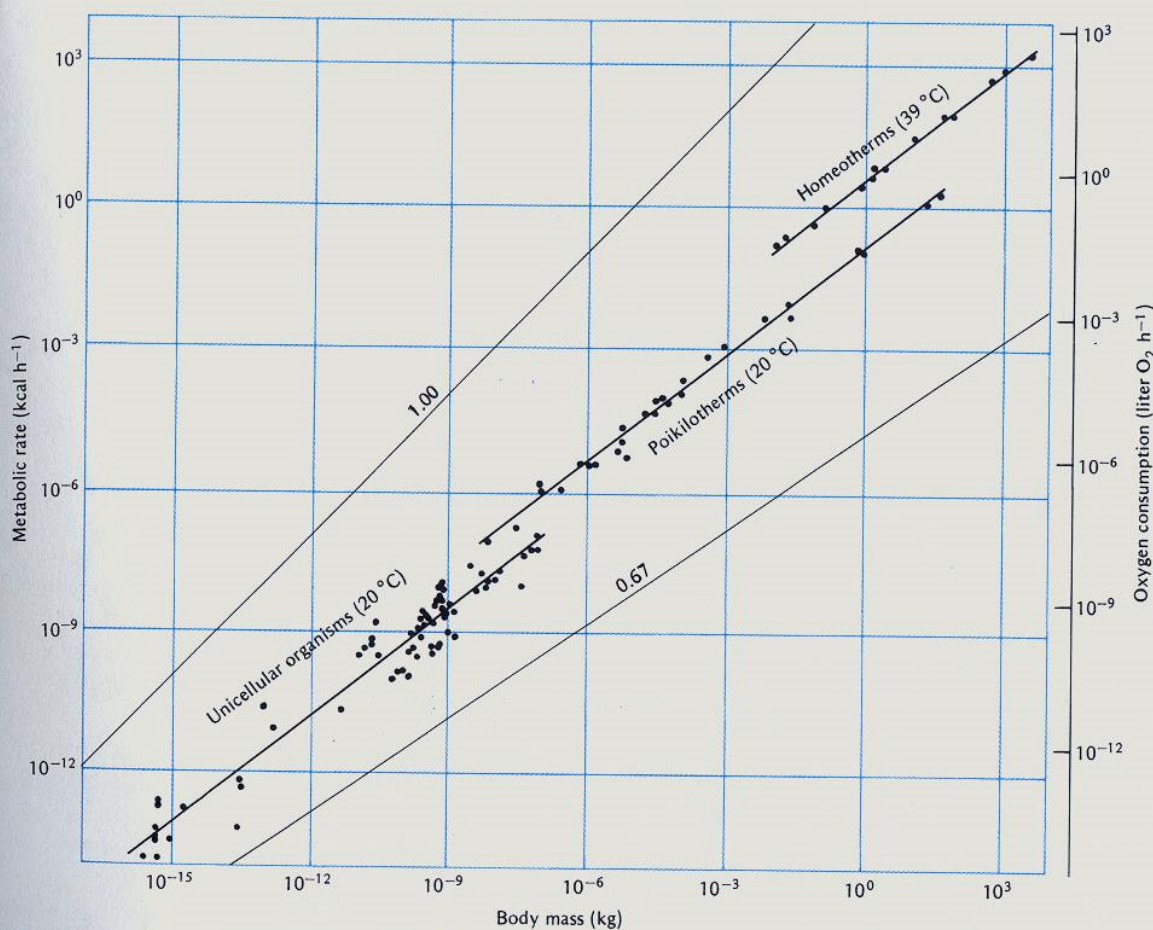


Figure 5.11 The rates of oxygen consumption for a wide variety of organisms when plotted against body mass (log coordinates) tend to fall along regression lines with a slope of 0.75. Note that each division on the coordinates signifies a 1000-fold change. [Hemmingsen 1960]

Další námitka: Kdyby metabolismus rostl přesně s povrchem těla, byl by sklon 0,67. Data ale Rubnerův zákon nepotvrzují. Regresní přímka má ve skutečnosti směrnici cca 0,75. (Hmyz, plícnatí plži spíše 1.) Rubnerův „zákon“ postavený na povrchu těla má tedy ve skutečnosti omezenou platnost. Stojíme před obecným biologickým pravidlem, které není snadné vysvětlit.

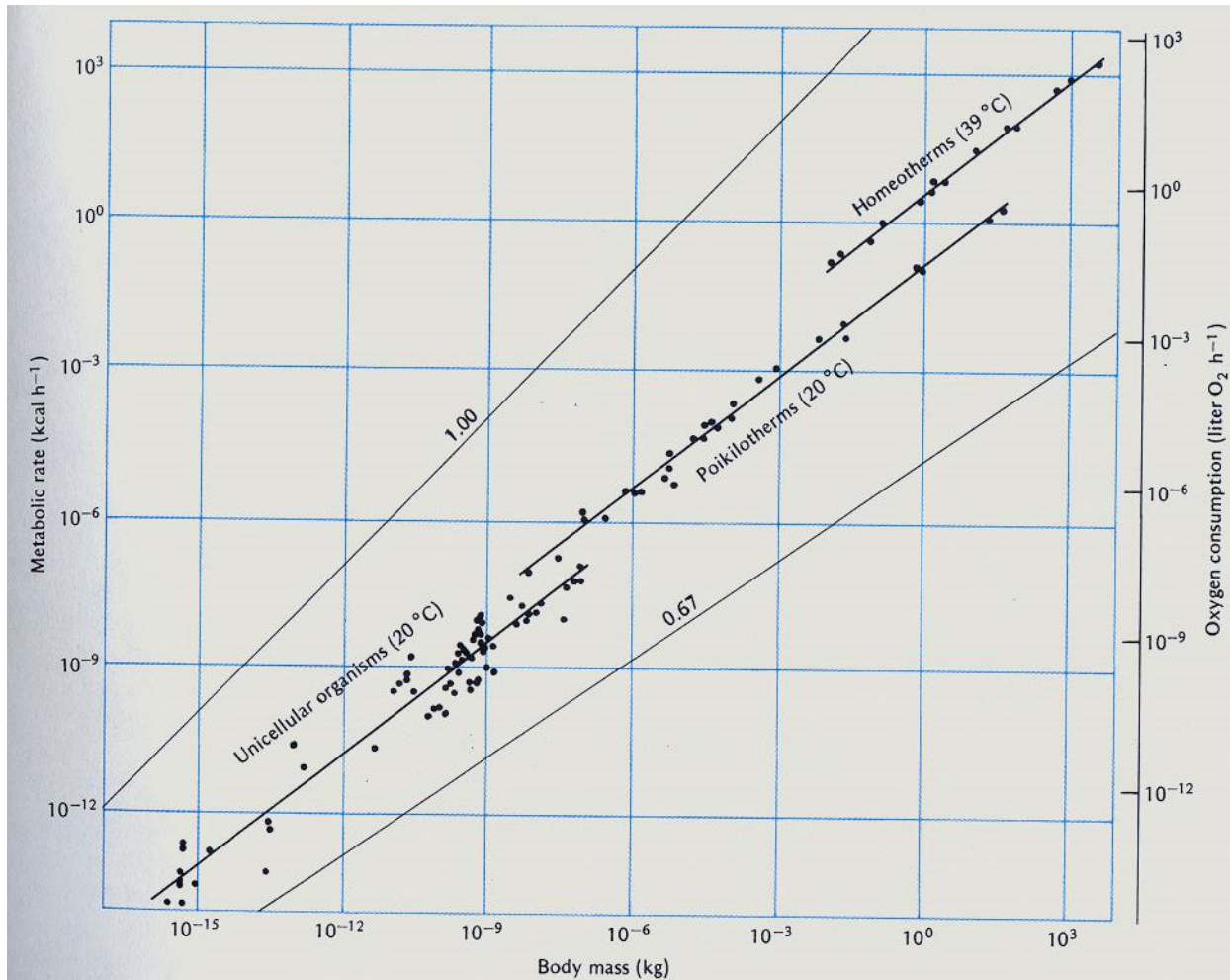
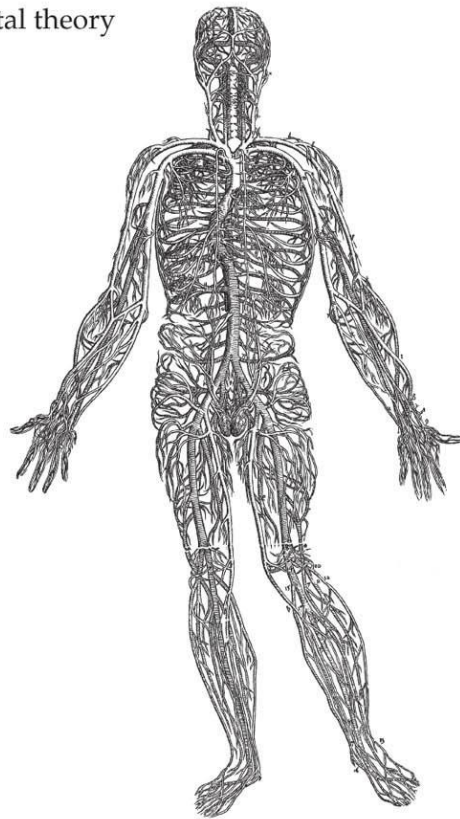


Figure 5.11 The rates of oxygen consumption for a wide variety of organisms when plotted against body mass (log coordinates) tend to fall along regression lines with a slope

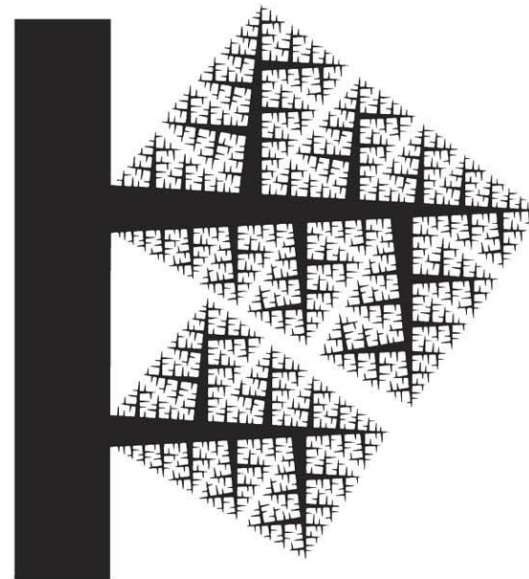
of 0.75. Note that each division on the coordinates signifies a 1000-fold change. [Hemmingsen 1960]

Alternativa k Rubnerovi. Je to zřejmě nejen povrch těla, ale tělních transportních rozhraní obecně, co limituje transportní děje. Fraktálová povaha transportních systémů, která je určována geometrií povrchů různých úrovní (tedy i vnitřních). Zvětšíte-li strukturu, uvidíte znovu tu stejnou. Lze vyjádřit matematickou rovnicí dobře popisující reálné struktury. 0,75 vychází jako exponent mezi m a BMR. Zatím je nedostatek empirických dat pro potvrzení této hypotézy.

(a) Fractal theory



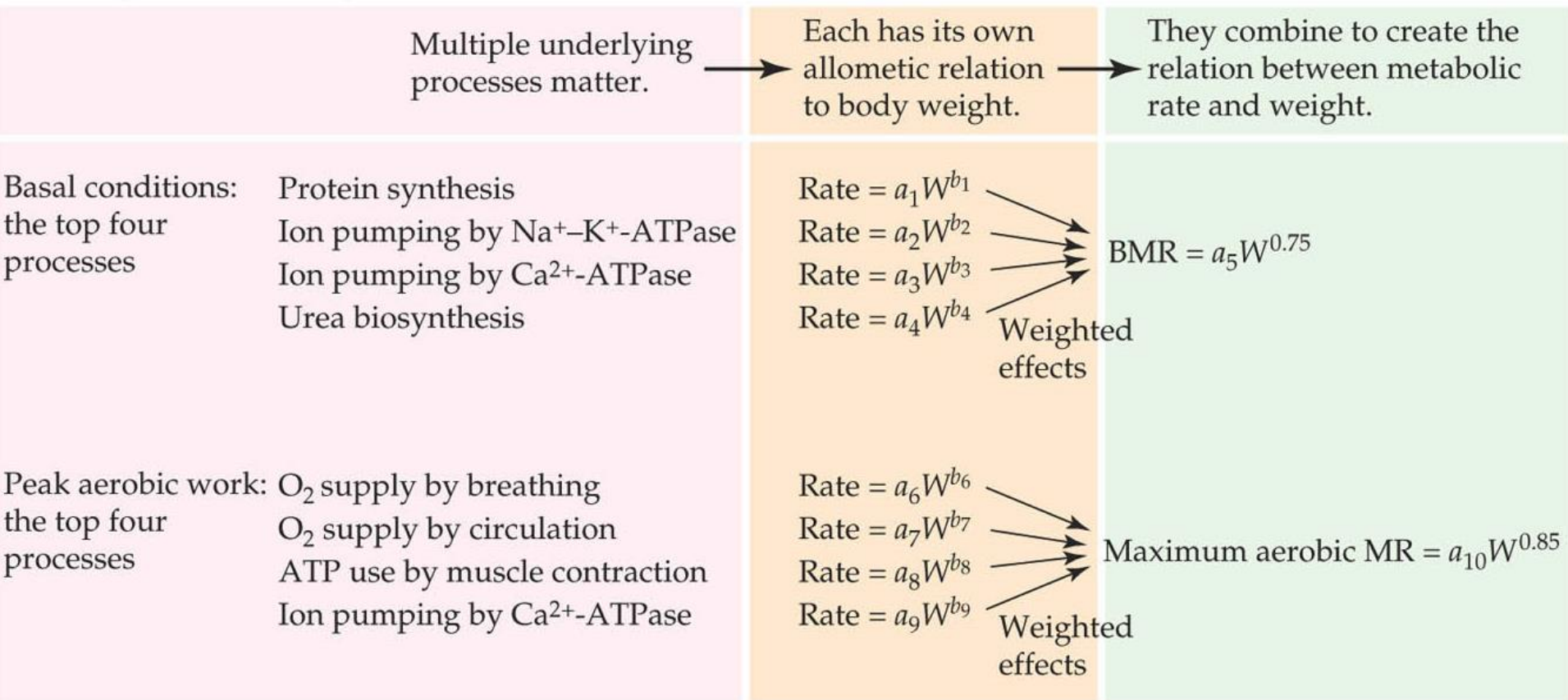
The circulatory system as drawn by Vesalius in 1543



A fractal model of a branching system such as the circulatory system

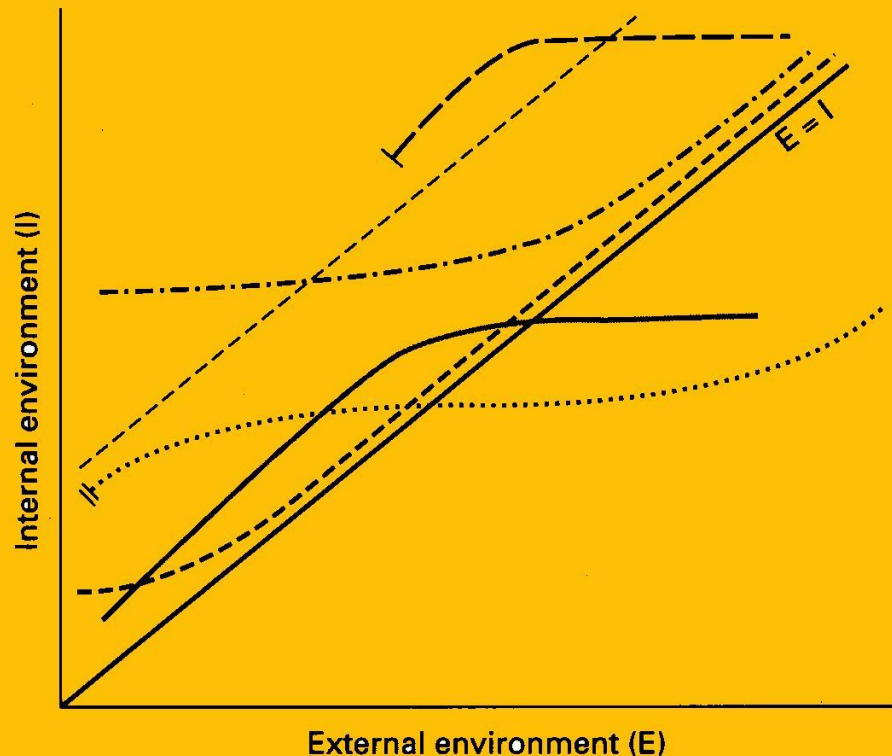
Další alternativa: Teorie více složených příčin (Multiple causes theory) říká, že vztahy vyšších procesů závisí na vztazích mezi procesy nižšími (hierarchické uspořádání). Takže sklon (exponent) může nabývat různých hodnot.

b) Multiple-causes theory



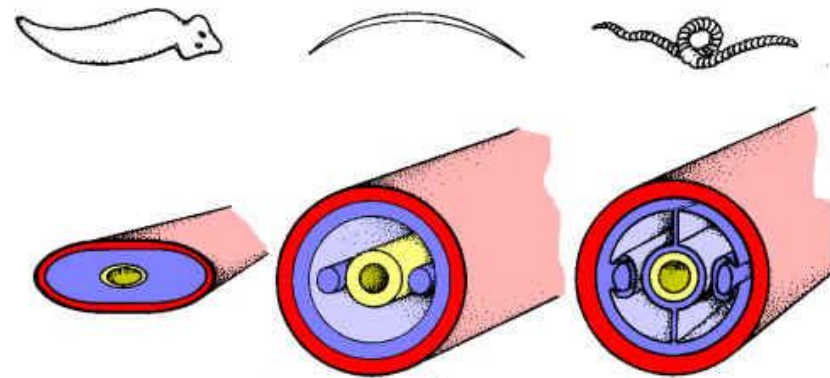
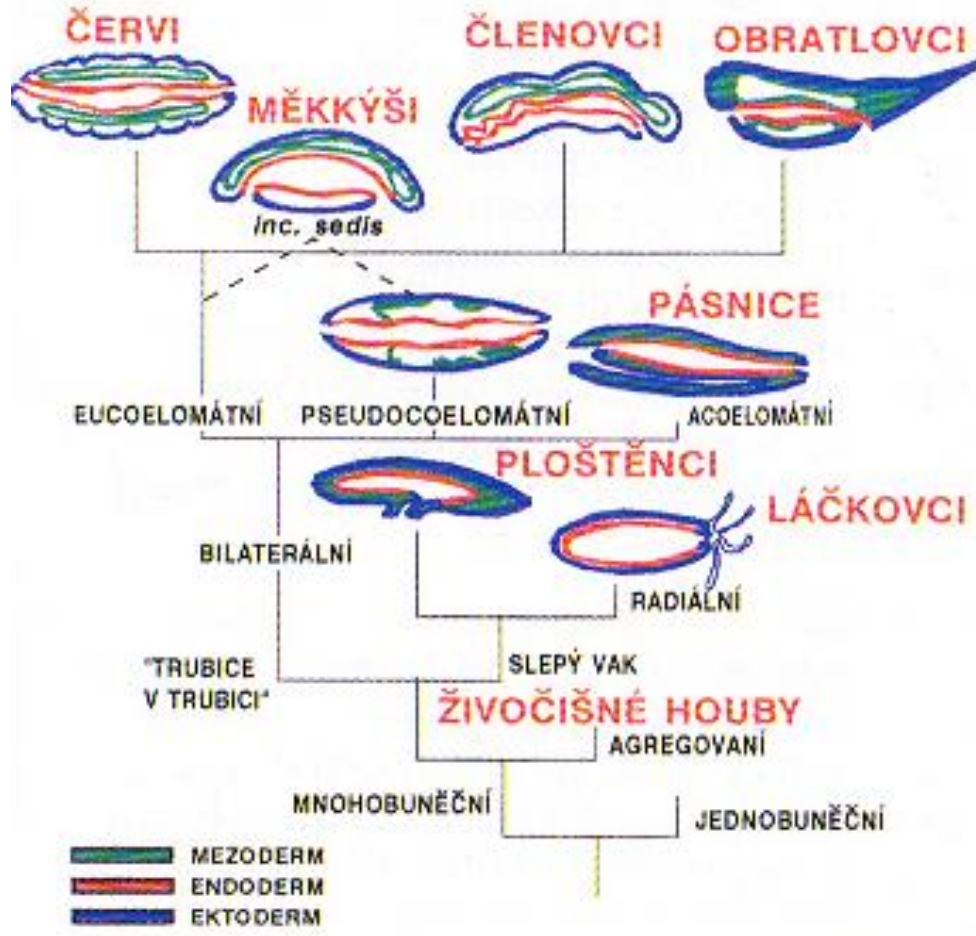
Závěr: To, že větší jsou úspornější a menší rychleji metabolizují platí. Nevíme ale přesně proč, protože pro všechny živočichy platí stejný, obecný vztah mezi velikostí a metabolismem. Navíc mírně odlišný od pouhého vztahu k povrchu těla.

Bezobratlí mají problém s udržení vnitřních hodnot při kolísajících podmínkách okolí.
Konformita (akceptování) versus regulace



- 'Conformer', but some regulation at extreme low E
- 'Regulator', but less efficient at extremes
- . - . - . Typical 'partial' regulator, conforming in relatively normal conditions but regulating as conditions get more difficult
- Essentially a conformer (parallel to $E = I$ line), but internal environment has constant excess of measured variable
- Regulator but unable to survive too much change (starts to conform and then dies)
- Mixed conformer/regulator: regulates (approximately) above some species-specific level

Základní tělní plány



Livingstone © BIODIDAC

9/4/94

Progresivní znaky:

- Mnohobuněčnost
- Pravé tkáně
- Bilaterální symetrie
- Třetí tělní vrstva - mezoderm
- Dva tělní otvory
- Coelomová (druhotná) dutina
- Segmentace

Fylogeneticky existují typy tělní stavby, které „vsadily“ na určitou velikost těla:

- Živočichové bez cirkulace jsou nejmenší. Ti s otevřenou cévní soustavou jsou větší a s uzavřenou cévní soustavou největší.
- Při daných tělesných proporcích může být živočich větší, žije-li ve vodě, než je-li vázán na souš.
- Živočichové s hydrostatickým skeletem nebo exoskeletem jsou relativně malí, zatímco ti s endoskeletem jsou v zásadě velcí.

Bezobratlí mohou využívat hydrostatické nebo exoskelety.

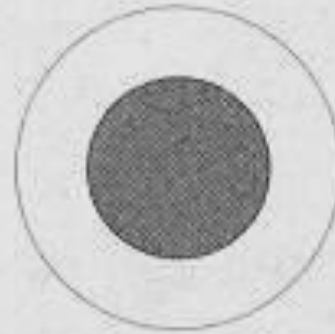
- Hydrostatický skelet:
 - tekutina – měkká stěna (ploštěnci, hlístice, kroužkovci, larvy hmyzu)
 - tekutina – tuhá stěna (noha pavouka)
 - Svalový vak – noha, chapadla měkkýšů
- Exoskelet – měkkýši, členovci
- Endoskelet – ostnokožci, houby

Většina bezobratlých využívá exoskelet.

Výhody exoskeletu –
3x pevnější při stejné
ploše - šetří hmotnost

Analogie trámů a nosníků vs
lešení u staveb.

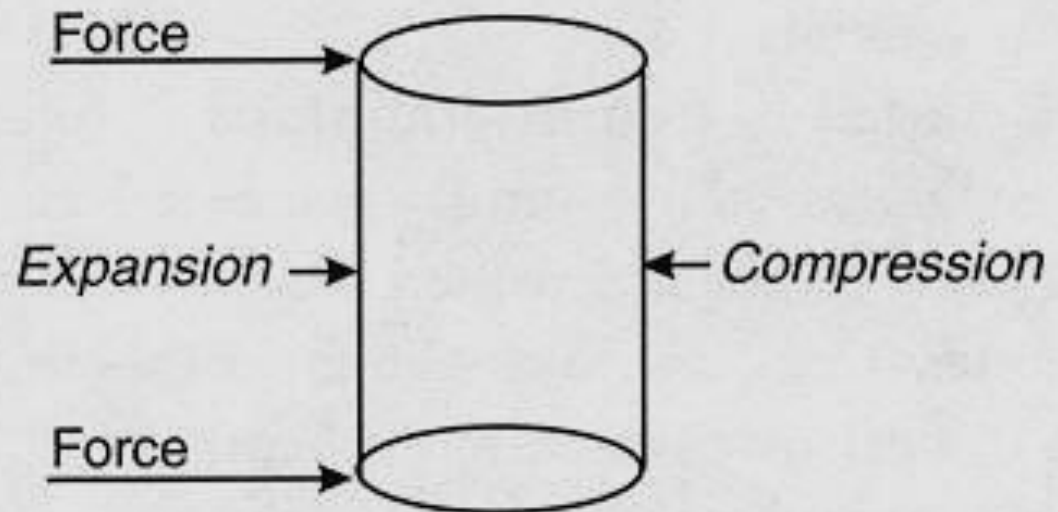
Svaly jsou uvnitř – limit
omezeného prostoru.



Endoskeletal
appendage



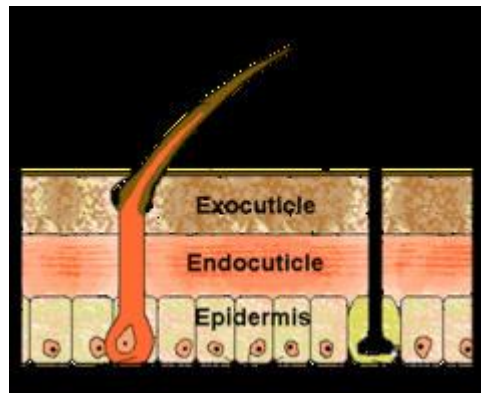
Exoskeletal
appendage



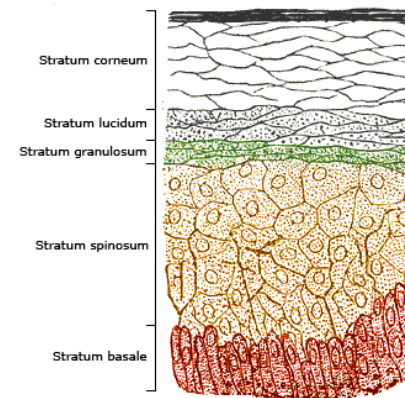
Integument

U bezobratlých živočichů se setkáváme obvykle s pokožkou (epidermis), která je tvořena **jednovrstevným** epitelem, chráněným proti vnějšku kutikulou. Ta je často sklerotizovaná a může být inkrustována minerálními látkami (CaCO_3 apod.), například u koryšů.

U Ostnokožců je pokožka zpevněna vápenitými destičkami nebo jehlicemi a ostny. Pokožka často obsahuje hlenové žlázy (kroužkovci, měkkýši) nebo voskové žlázy (hmyz). Jejich sekrety zvyšují ochranu těla, nebo usnadňují pohyb.



hmyz



savec

Integument

Exoskelet nejvíce přispěl k úspěchu členovců. Ačkoliv kompletně pokrývá hmyzí tělo jako pokožka obratlovce, exoskelet hraje mnohem důležitější roli než pokožka.

Kromě určení tvaru těla, jeho nejzásadnější funkce je sloužit jako rozhraní mezi hmyzem a jeho prostředím a poskytuje bariéru proti tokům vody, iontů, chemikálií, parazitům z okolí včetně insekticidů. Tato bariéra je zvláště důležitá pro malá zvířata jako je hmyz, kteří mají relativně velký povrch těla, který vystavují svému okolí.

Povaha exoskeletu je proto zásadní pro vývoj látek, které mají být použity pro boj s hmyzem – musejí penetrovat kutikulou.

Pro hmyz je integument klíčová struktura:

- Ochrana těla proti vnějším vlivům (mechanickým, fyzikálním, chemickým, biologickým)
- Vylučovací funkce a povrchové zbarvení - ukládání odpadních produktů metabolismu, ukládání pigmentů
- Dočasné úložiště živin
- Nositel drobných orgánů - žlázy jedové, hlenové, zápašné, smyslové orgány, pomocná zařízení pohybu a obrany
- Oporná a pohybová funkce - kombinace oporné a pohybové soustavy zajišťuje efektivní pohyb s minimem svaloviny (srv. hydroskelet)
- Ochrana těla před nadměrnými ztrátami vody - což hraje roli u suchozemského hmyzu (hlavně u druhů žijících v extrémně suchém prostředí), ale i u vodního hmyzu - sladko- i slanovodního - který bojuje se ztrátami solí (sladkovodní) i se ztrátami vody (slanovodní).

Pevná schránka s klouby

Pevnost, kterou poskytuje exoskelet, dovoluje upevnění a součinnost se svaly, které mohou mnohem přesněji a jemněji provádět lokomoční pohyby, než které dokáže hydrostatický skelet kroužkovců. Ačkoliv obklopení pevným tvrdým brněním by mohlo limitovat pohyb a kontakt s okolím a podnětů z něj, integument je elastický v některých místech a umožňuje létání i chůzi. Mnoho smyslových receptorů, které jsou shromážděny ve strategických oblastech, poskytují okénka do vnějšího světa, která umožňují zvířeti reagovat na okolí.

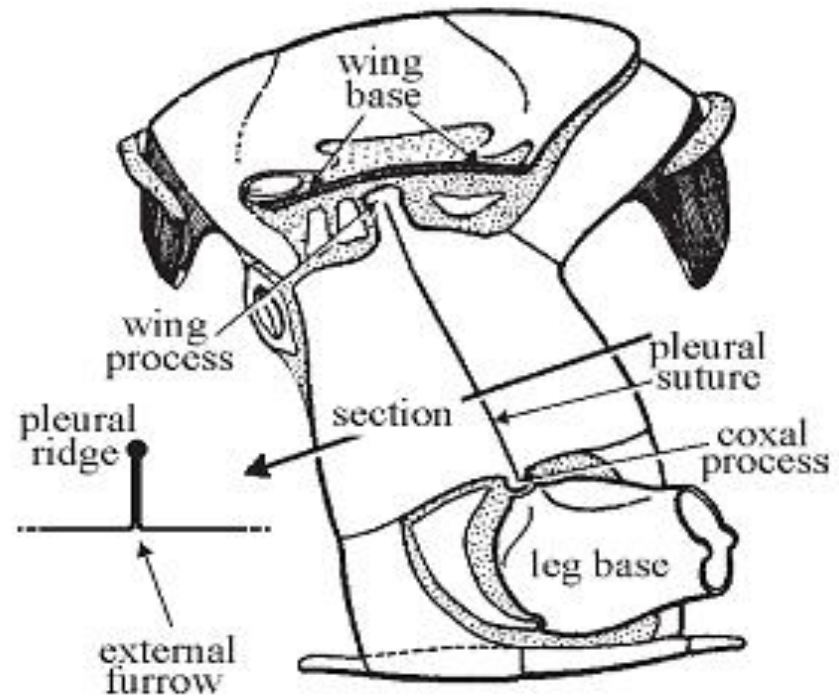


Fig. 6. Thoracic pleural suture and internal stiffening ridge. The wing process is made almost entirely of resilin.

Měkká kutikula umožňuje svlékání – problém při růstu

Ačkoliv exoskelet poskytuje mnoho výhod, představuje velký problém pro růst. Aby hmyz s pevným exoskeletem mohl zvětšit tělo a vyrůst, větší exoskelet musí být syntetizován a ten starý odhozen.

Během periody svlékání je hmyz bezmocný proti predátorům, protože únik a obrana jsou obtížné. Svlékání potřebuje čas, energii a metabolické zdroje. Také citlivost na ztráty vody, protože nemůže ani pít ani reagovat.

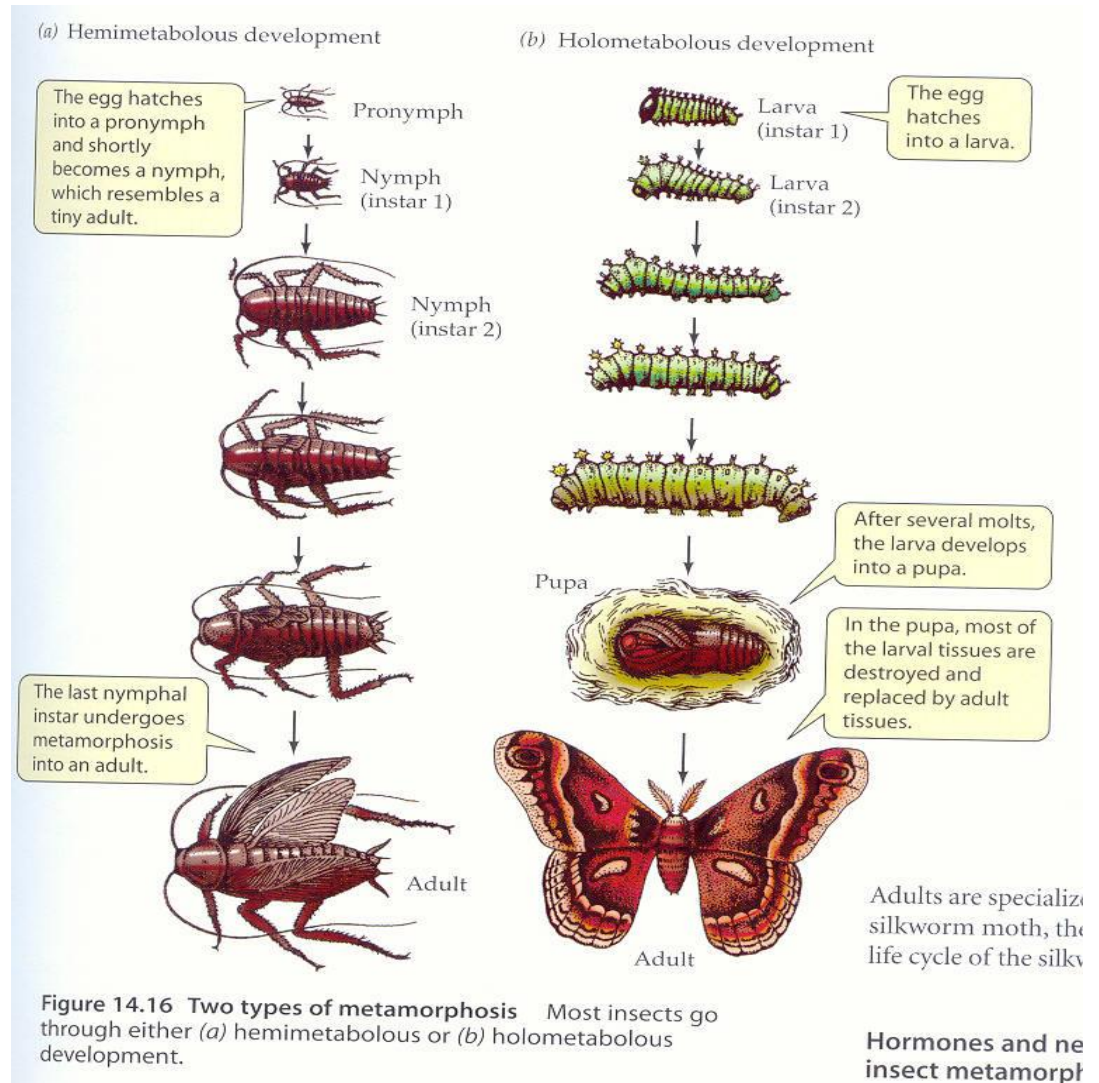
Aby zredukoval toto choulostivé období během svlékacího cyklu, pokročilejší skupiny hmyzu mají redukovaný počet svlékání.



Hemimetabolie a holometabolie

U hmyzu s **hemimetabolním** vývojem jak larvy tak dospělci obsazují podobné niky. Nedospělá stádia postrádají křídla a pohlavní orgány – hlavní rozdíl proti dospělcům.

Holometabolní proměna znamená radikální změnu nejen tvaru těla ale i ekologické niky. To omezuje kompetici o zdroje. O výhodnosti svědčí to, že je u 88% všech hmyzích druhů. Říká se jim také endopterygota pro skrytý vývoj křídel v rámci přestavby v kuklovém stádiu.



Periody vývoje hmyzu terminologie.

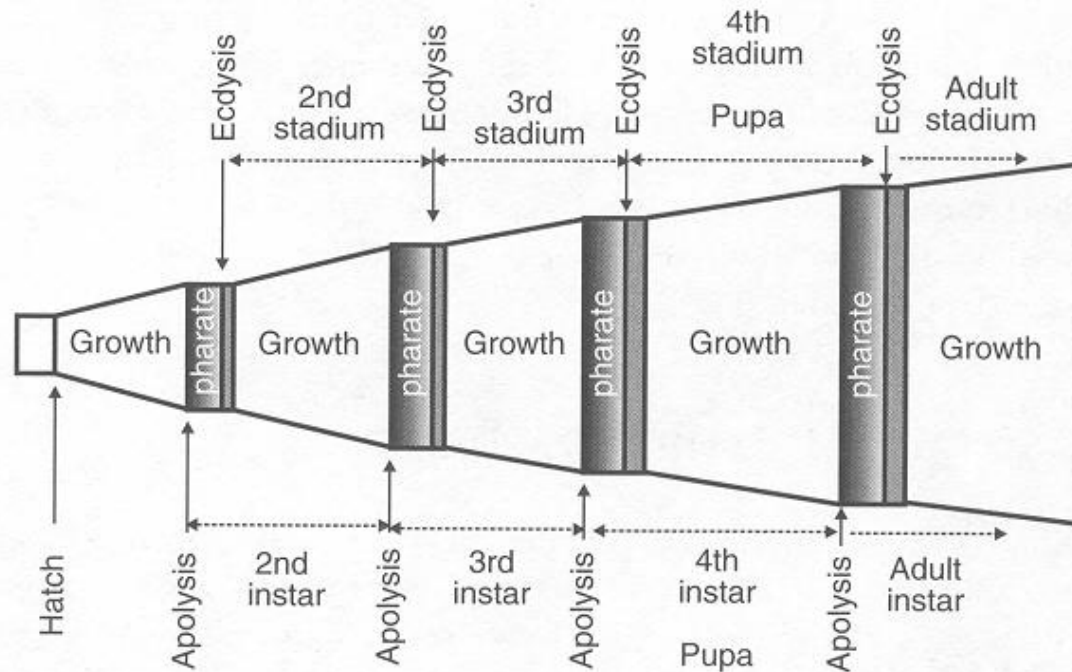
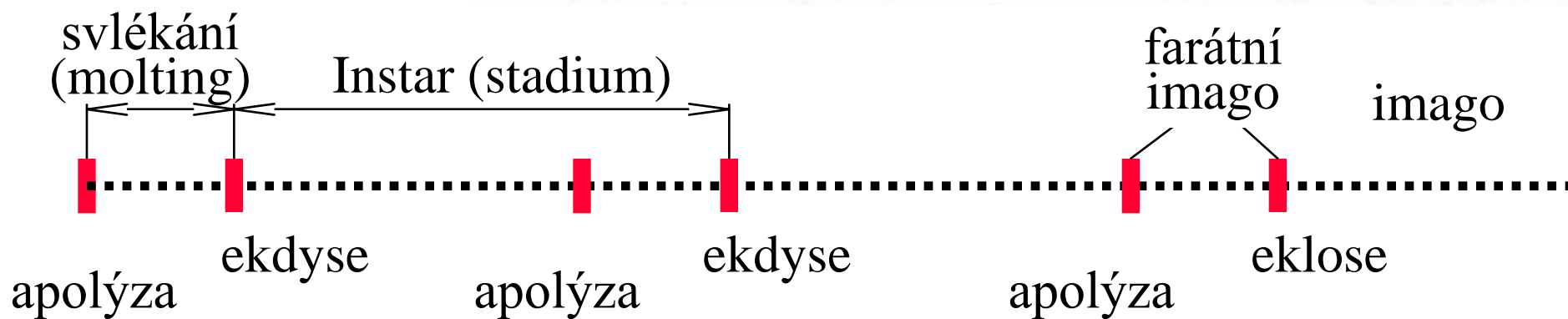


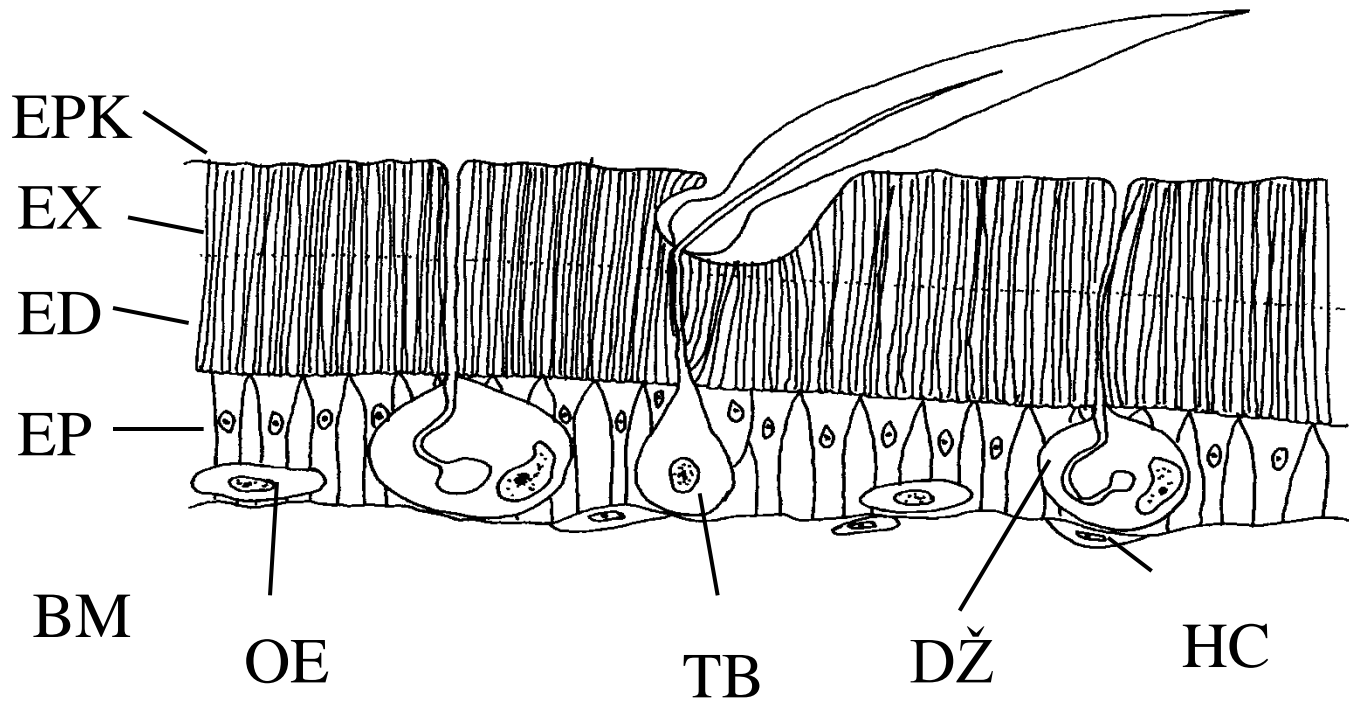
FIGURE 2.4 The molting period is punctuated by two events, apolysis and ecdysis, that define insect development. Apolysis, the separation of the epidermal cells from the cuticle, marks the beginning of the molt and the next instar. The insect is in a pharate stage until ecdysis occurs, the casting off of the old cuticle. Ecdysis marks the beginning of the next stadium. At the apolysis following the second instar, the insect enters the third instar, but is still in the second stadium until after ecdysis.



Pro hmyz, který ve svém vývoji vsadil na malou velikost těla, je zásadním problémem udržení vody v těle. Malá velikost je z mnoha důvodů výhodná - přináší relativně větší výkon svalů, schopnost pronikat do nejrůznějších prostředí (vodní hladina, prostor mezi stěny listu atd.).

Protože ovšem tentýž vztah mezi povrchem a objemem platí i pro odpařování vody, tentokrát ovšem nevýhodně pro malé živočichy, musel hmyz najít způsoby pro maximální šetření vodou.

Vrstvy kutikuly



Epikutikula
Exokutikula
Endokutikula
Epidermis
Bazální membrána
Oenocyty
Trichogenní buňky
Dermální žlázy
Hoemocyty

Dermální žlázy často sestávají ze sekretorické buňky, b. tvořící kanálek, podpůrných bb. Sekretují cement, který pokrývá epikutikulu na povrchu integumentu. Také mohou produkovat těkavé obranné sekrety a feromony uvolňované do prostředí.

Oenocyty jsou hmyzí buňky odpovědné za zpracování a detoxifikaci lipidických látek. Jsou ektodermálního původu a jsou tedy v těsném kontaktu s epidermis, bazální membránou a tukovým tělesem – podle druhu a stádia vývoje. Jsou to velké, polyploidní buňky, zvětšují velikost zejména při svlékání, což ukazuje na jejich úlohu při syntéze lipidů epikutikuly. Jiné sekretují ekdysteroidní hormony. Soudě podle profilu genové exprese a funkcí, jsou považovány za analogické lidským hepatocytům.

Trichogenní bb – tvoří chlupy, často ve funkci receptorů – řekneme si později

Hemocyty – fce zejména imunitní – řekneme si později

Vrstvy kutikuly

Sacharidová a bílkovinná složka

cement
vosk
Vnější epikutikula - kutikulin
Vnitřní epikutikula

exokutikula

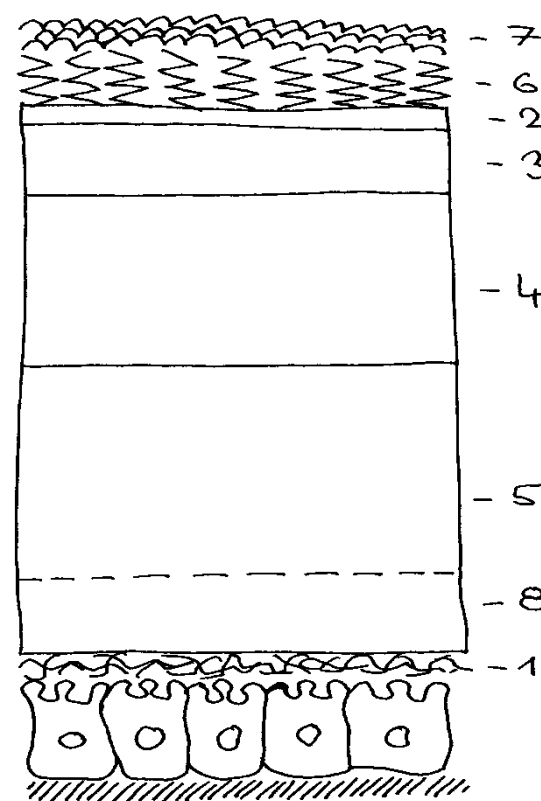
endokutikula preekdys

endokutikula postekdys

ekdysiální membrána

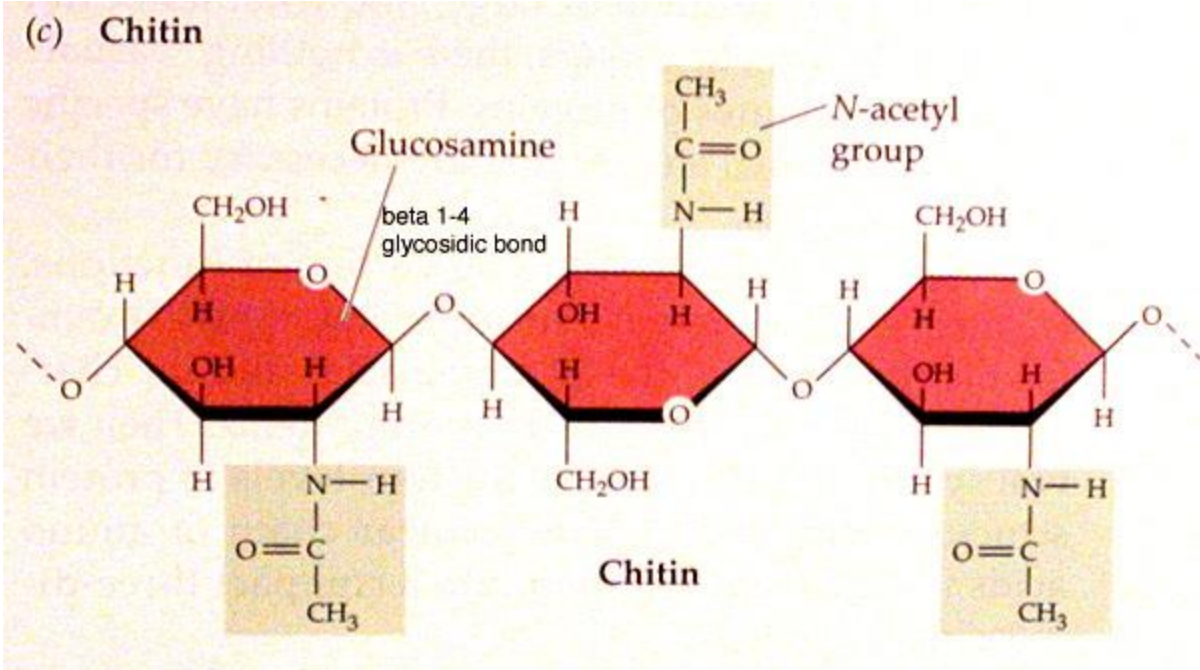
epidermis

Bazální membrána



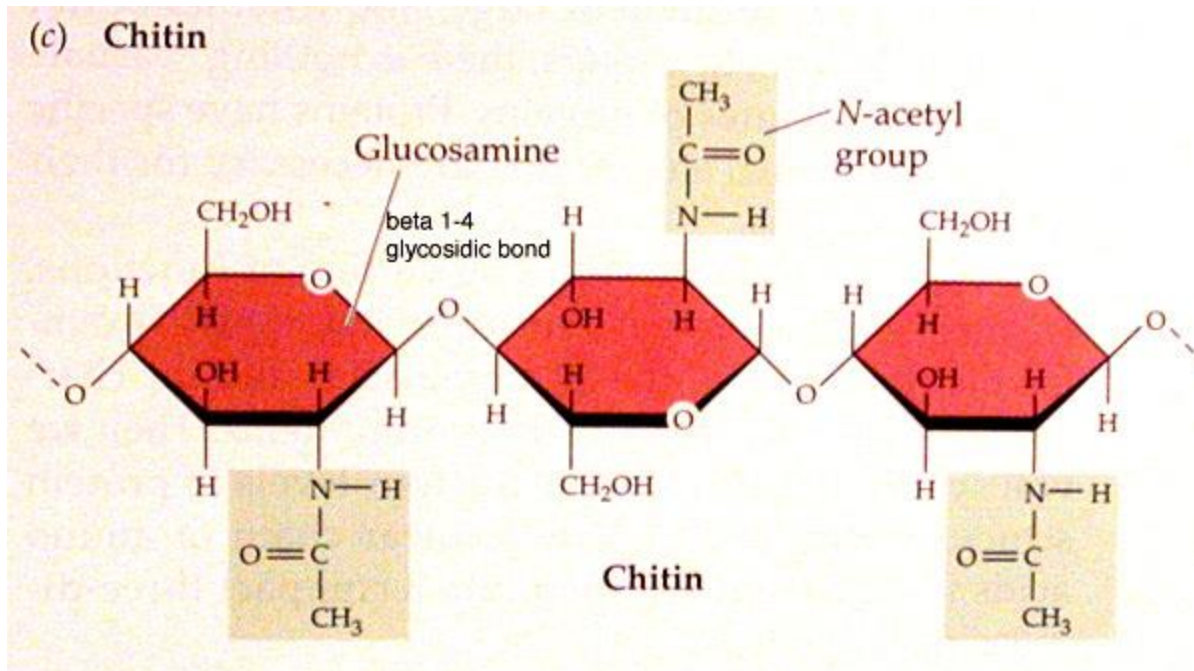
První bezobratlí živočichové, kteří se dostali z vodního prostředí na souš, se před vyschnutím bránili trvale vlhkou vrstvou slizu. Chemicky je sliz glykoprotein, sloučenina bílkoviny a cukru.

Jedním z prvních vynálezů pozemských prahmyzů byla přeměna cukerné složky slizu na tuhý vláknitý polymer chitin. Podobně jako se rostlinná celulóza skládá z dlouhých řetězců jednoduchého cukru glukózy, hmyzí chitin je řetězcem jiného jednoduchého cukru - acetylglukosaminu. Chitin se svými vlastnosti podobá celulóze - je to tuhý, vláknitý a ohebný materiál.



Takový by však sotva vykonal hmyzu platné služby jako materiál vhodný na povrch těla. Jeho vlastnosti by se totiž podobaly savému papíru. Bylo třeba jej něčím ztužit.

A k tomu posloužila druhá složka slizu - bílkovina. Onu zázračnou látku, která kryje veškerý povrch těla hmyzu tvoří chitin teprve v kombinaci s ní. Jde tedy o jakýsi druh zpevněného slizu. Bílkovinná složka má název **sklerotin**.

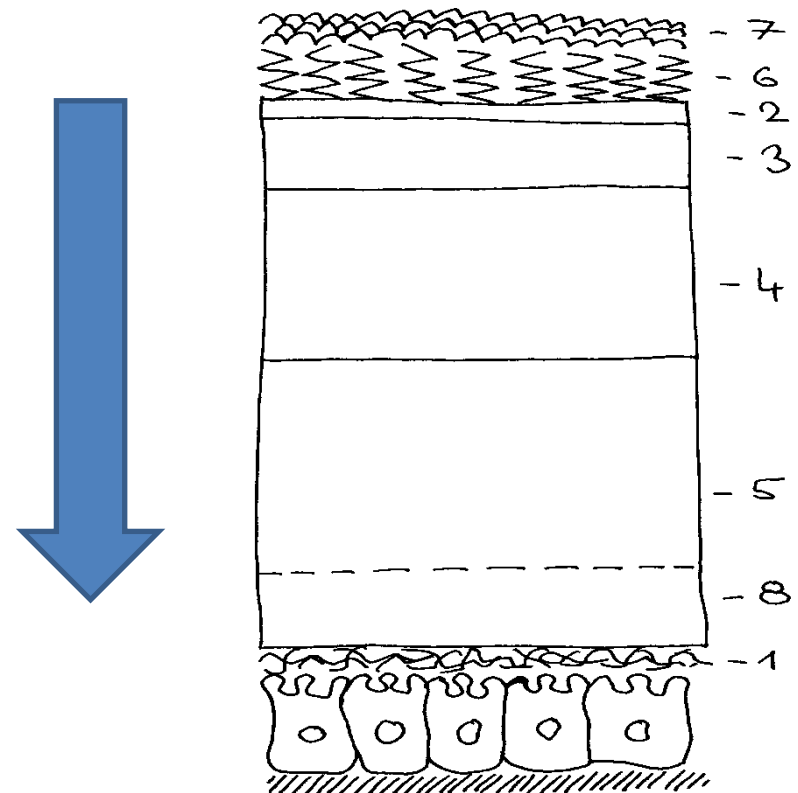


Cement – tvrdost, odolnost, sklerotizovaná směs bílkovin a lipidů

Vosk – nepropustný pro vodu

Kutikulin – sklerotizované lipoproteiny a mastné kyseliny

Exo (tvrdá) a endokutikula (měkká) – narůstající obsah chitinu



Tvorba a odvrhování kutikuly

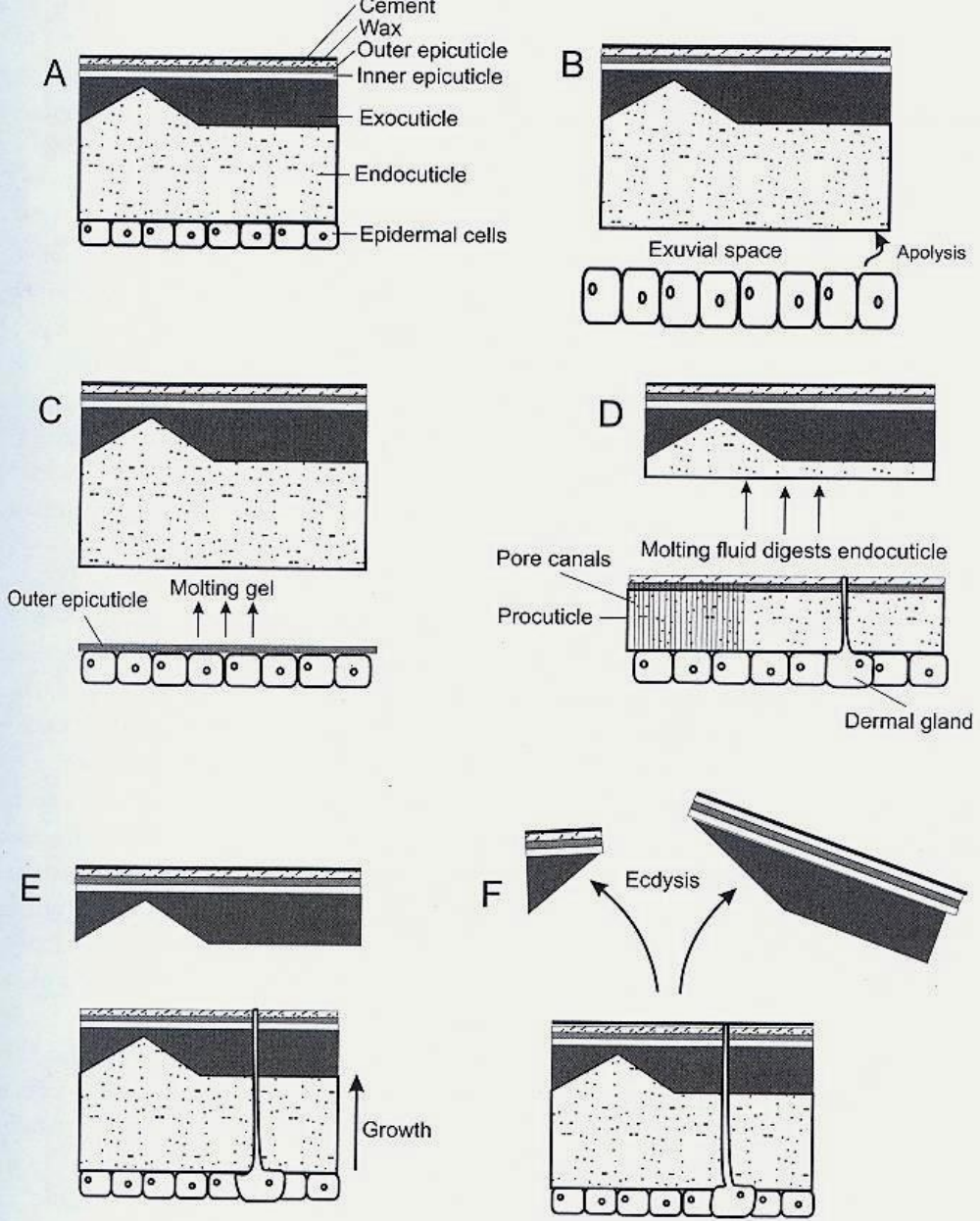
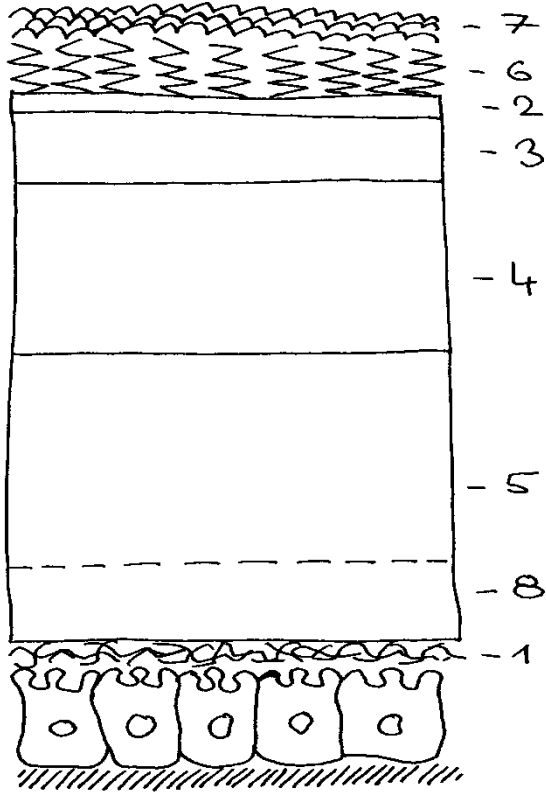


FIGURE 2.18 Steps in the molting process. (A) The integument before the molt. (B) Apolysis, separating the cuticle from the epidermis and creating an exuvial space. (C) Secretion of the molting inactive molting gel into the exuvial space. (D) The digestion of the old endocuticle and the secretion of new procuticle. (E) Continued growth of the procuticle and epicuticle. (F) Ecdysis, the shedding of the old cuticle.

Při odlučování staré kutikuly od epidermálních buněk, při **apolýze**, na počátku vytváření nové kutikuly, se vyplňuje prostor mezi novou a starou kutikulou řídkou vrstvou plasmy, později pak tzv. svlékací nebo ekdysiální tekutinou.

Tato tekutina, která se nachází též v tracheálním systému, je produktem epidermálních buněk. Hlavním úkolem této tekutiny je odbourání a rozpuštění vnitřních vrstev staré kutikuly. Obsahuje rozpuštěné bílkoviny, proteázy a chitinázu. Působením této tekutiny se rozpouští pouze endokutikula (chitinové a bílkovinné vrstvičky). Lipoproteiny epikutikuly a sklerotin nejsou dotčeny

Enzymy svlékací tekutiny jsou vylučovány pravděpodobně celým povrchem nové kutikuly. Produkty štěpení jsou pak obvykle resorbovány tělem ještě před odvržením staré kutikuly.

Kutikula byla už k svlékání připravena. Apolýzou byl vytvořen štěrbinovitý prostor, který se zvětšuje působením štěpících enzymů. K prasknutí kutikuly dochází ve švech zhruba v období vytváření voskové vrstvičky. V těchto švech chybí exokutikula a následkem toho nasedá epikutikula přímo na endokutikulu. Prasknutí je umožněno polykáním vzduchu (příp. vody a vodních druhů a stlačováním tělní tekutiny do hlavy a hrudi.

Švy na hlavě a hrudi mají obvykle tvar T. **Prekdysiální** chování – kontrakce svalů tělní stěny od hřbetu na ventrální stranu. **Ekdysiální** ch. peristaltické vlny od zadečku k hlavě.

Jakmile se hmyz vysvleče ze staré kutikuly, polyká znovu vzduch resp. vodu, dokud je kutikula ještě měkká a ohebná. Svalovina tělní stěny se trvale kontrahuje, čímž se udržuje zvýšený tlak hemolymfy po několik hodin, dokud kutikula dostatečně neztvrdne. Nová kutikula ještě nemá ani lipidovou ani cementovou ochranu, takže transpirace vody je značná.

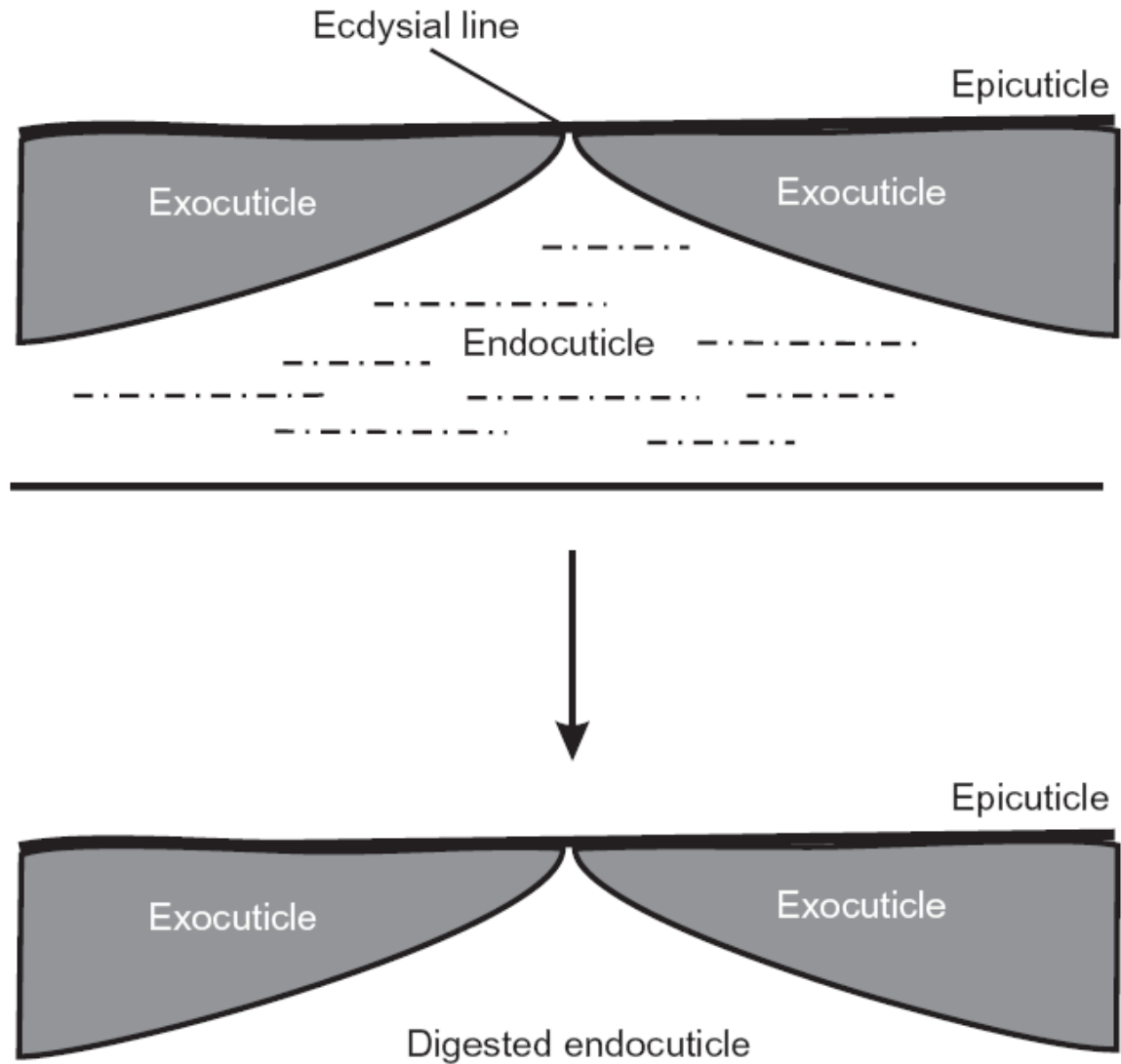


FIGURE 2.10. A cross-section of the integument in an area that is programmed to split during ecdysis. The absence of exocuticle and the digestion of the endocuticle that remains allow the insect to easily break the epicuticle that remains for emergence.

Pórovitými kanálky se vyloučí na povrchu kutikulinové vrstvičky viskózní sekret bohatý na **fenolické látky**, které se využijí k „vytvrzení“.

Na povrch se díky pórovitým kanálkům (1 μ m, obdoba Haversových kanálků v kostech) vyloučí **vrstvička vosku**, která zajišťuje nepropustnost epikutikuly pro vodu.

Nakonec – již při svlékání - zahájí sekreci dermální žlázy, které vyloučí tzv. **cementovou vrstvičku**, která pokryje povrch voskové vrstvy. Cement je sklerotizovanou směsí bílkovin a lipidů (lipoprotein). Hlavním úkolem cementu je pravděpodobně ochrana voskové vrstvičky jejíž tloušťka je u různých druhů značně odlišná.

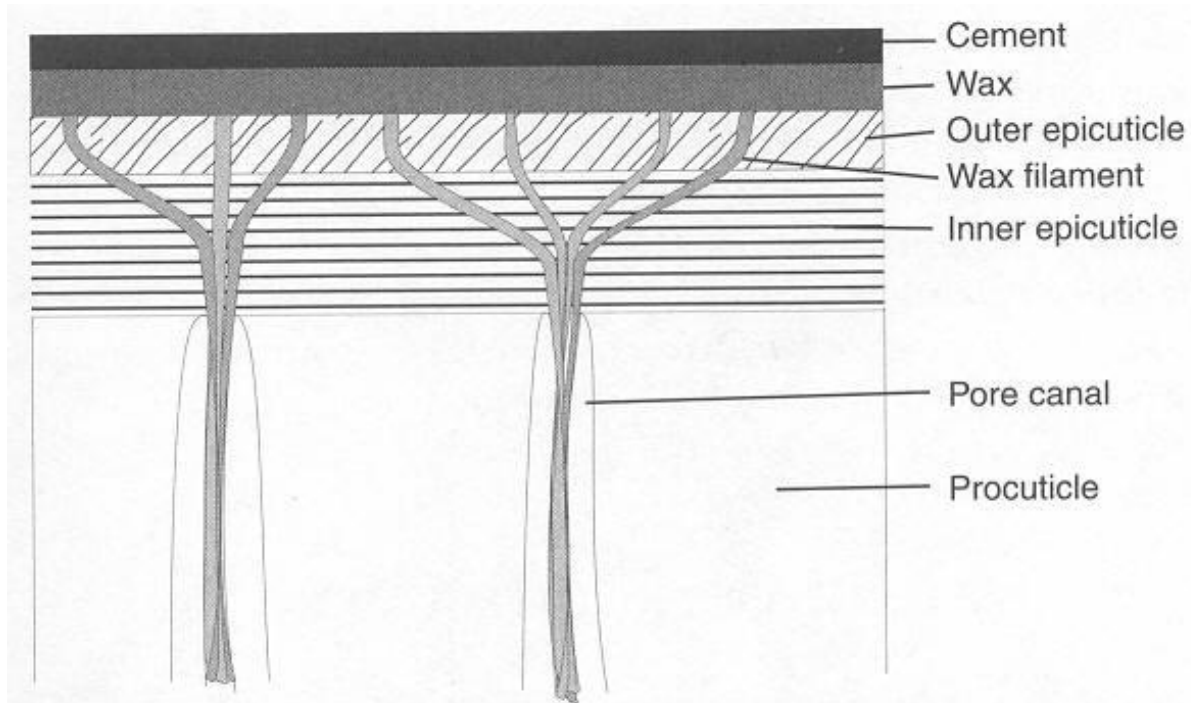


FIGURE 2.6 The layers of the epicuticle, lying above the procuticle.

Pórové kanálky probíhají z epidermis k povrchu skrze kutikulu. Jsou to výběžky cytoplasmy epidermálních buněk, často spirálovitého tvaru - jak pronikají kutikulou. Ačkoliv nejsou pokryty buněčnou membránou epidermálních buněk, obsahují buněčná filamenta. U švába asi 200 pórových kanálků vychází z každé epidermální buňky (1,2 mil / mm²).

Transportují lipidy produkované epidermálními buňkami na povrch nově vznikající kutikuly. Chybí tam, kde kutikula průhledná, jako na povrchu složených očí.

Chitinové vrstvy kutikuly

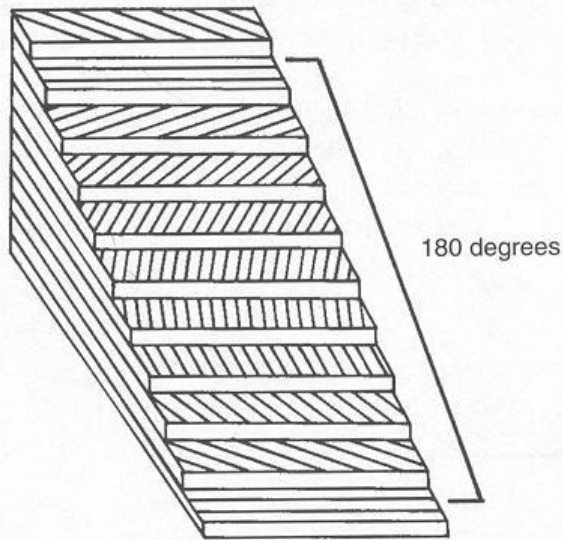


FIGURE 2.14 The helicoidal arrangement of the chitin layers as they are rotated by a constant angle during their synthesis. The bar shows the rotation of layers through 180° . From Neville (1984). Reprinted with permission.



Kompozit, struktura – třetinová tloušťka při mnohosměrné orientaci vláken umožňuje stejnou pevnost proti jednosměrné orientaci, uložení energie, . Kombinace tahu nahore a tlaku dole.

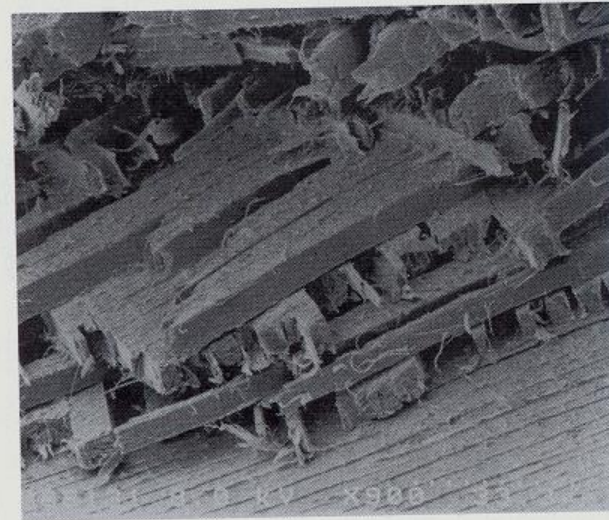
Chitinové vrstvy kutikuly



Připomíná překližku.



A



B

FIGURE 4.13 Freeze-fractured break in the thoracic cuticle of the weevil, *Rhynchophorus cruentatus*, showing plywood-like arrangement of cuticle layers that gives the cuticle added strength (A: 400×, B: 900×). (Photos courtesy of Robin Giblin-Davis, professor, Dept. of Entomology & Nematology, University of Florida, Research and Education Center, Ft. Lauderdale, FL.)

Různý design pro různé aplikace

Vytváření sklerotinu pokožkovými buňkami má mnoho společného s výrobou plastických hmot (kompozitní materiál). Při tvarování kutikuly se smíchá chitin s bílkovinou za vzniku kovaletních vazeb

Dlouhá bílkovinná vlákna potom vzájemně polymerují (benzenovými můstky působením chinonů) a vzniká lehká a pevná hmota. Různý podíl chitinu a sklerotinu určuje míru tvrdosti nebo pružnosti kutikuly v té její vrstvě, kde je to nejúčelnější.

Stupeň zesíťování proteinů, orientace vrstev chitinu, obsah vody, lipidů, inkrustace solemi, přítomnost kovů – to vše určuje vlastnosti kutikuly.

Musí být někde extrémně tvrdá, někde poddajná a elastická,

Inspirace pro technické aplikace,

Sensory – musí existovat
otvory (problematické
místo)

Klouby – velké deformace

Povrch - Odolnost proti
opotřebení

Šlachy a úpony - elasticita a
uložení energie



Vlastnosti podobné uhlíkovým nanovláknům – lehké a pevné (letadla) po lidskou kůži.

Sensory – musí existovat
otvory (problematické
místo)

Klouby – velké deformace
Povrch - Odolnost proti
opotřebení

Šlachy a úpony - elasticita a
uložení energie

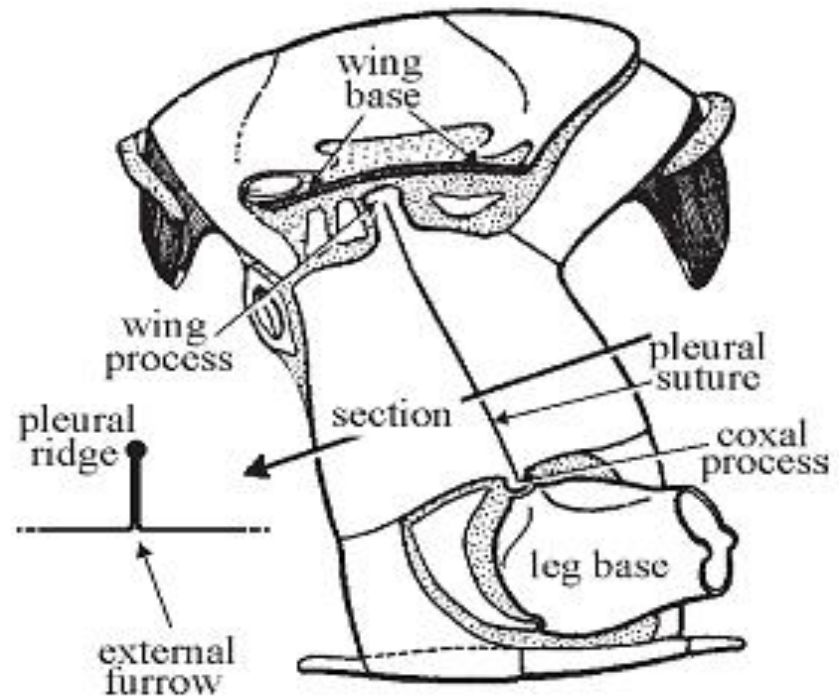


Fig. 6. Thoracic pleural suture and internal stiffening ridge. The wing process is made almost entirely of resilin.

Vlastnosti podobné uhlíkovým nanovláknům – lehké a pevné (letadla) po lidskou kůži.

Záleží na
obsahu vody

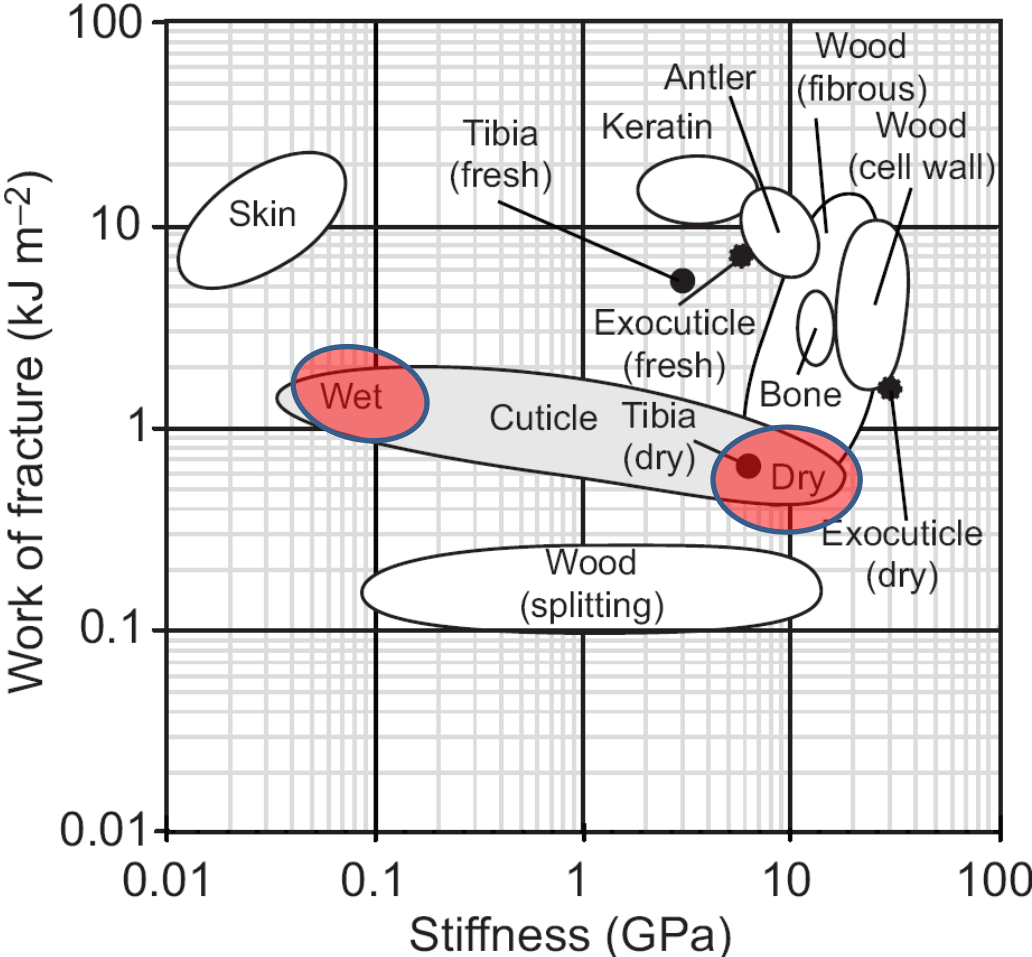
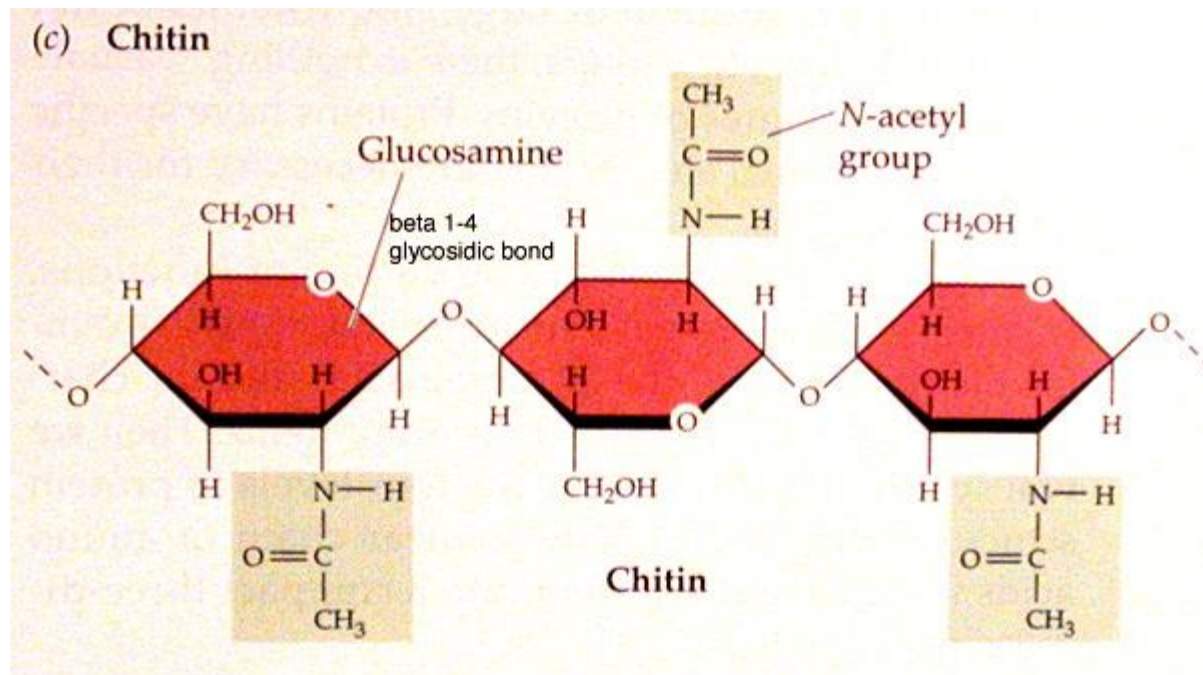


Fig. 5. Work of fracture and stiffness of selected biological materials. Data are based on Wegst and Ashby (Wegst and Ashby, 2004), with our own results for fresh and dry *S. gregaria* locust tibia added for comparison (solid circles). The dark grey 'cuticle' area refers to data from *Rhodnius* beetles (Vincent, 1980).

*Sklerotizace-
Zesíťování pomocí proteinů*

Chitin je nerozpustný, elastický, ale savý,
Podobný celulóze
Jednotkou je N-acetyl-D-glukosamin



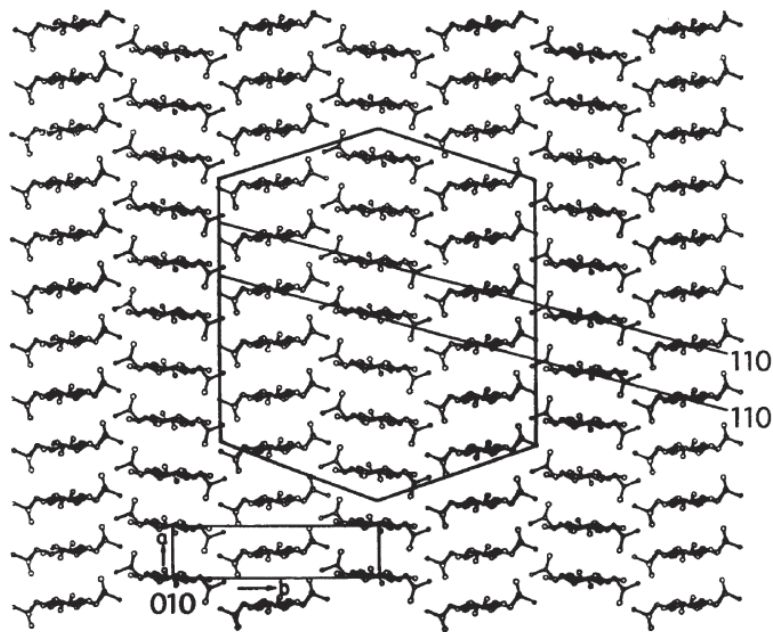
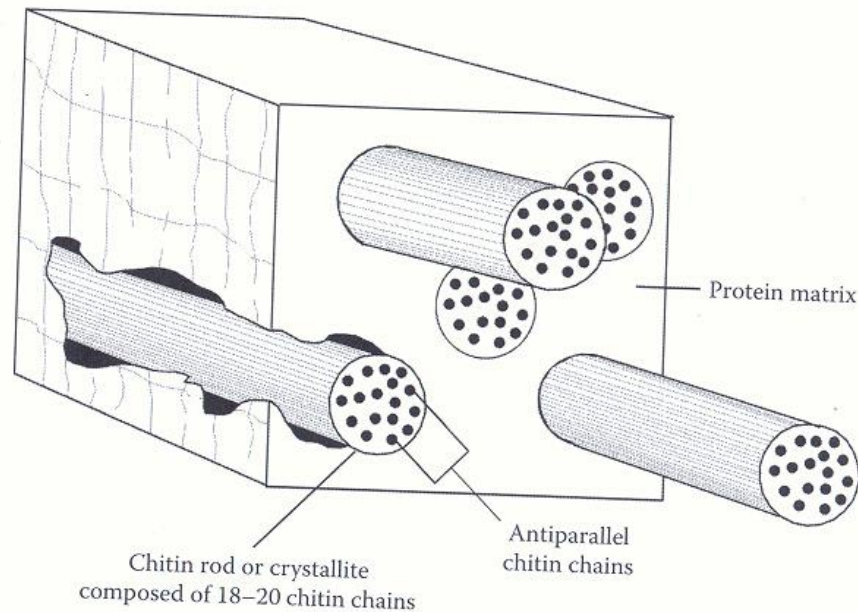


Fig. 1. End view of a chitin crystallite showing the typical section of a chitin nanofibre looking along the chitin chains which are extending out of, and into, the page in order to create the nanofibre.



Monosacharidové jednotky jsou propojeny spoji (1. a 4. uhlík) a tvoří řetězec. Řetězce jsou antiparalelní a vytváří krystalickou strukturu uvnitř které jsou cukerné zbytky provázány H můstky, což poskytuje tuhost a chemickou stabilitu. Nanofibrily jsou 3nm v průměru a 0,3um dlouhé, každá obsahuje 19 řetězců.

Směs chitinu a bílkoviny – zatím měkká a nevytvrzená

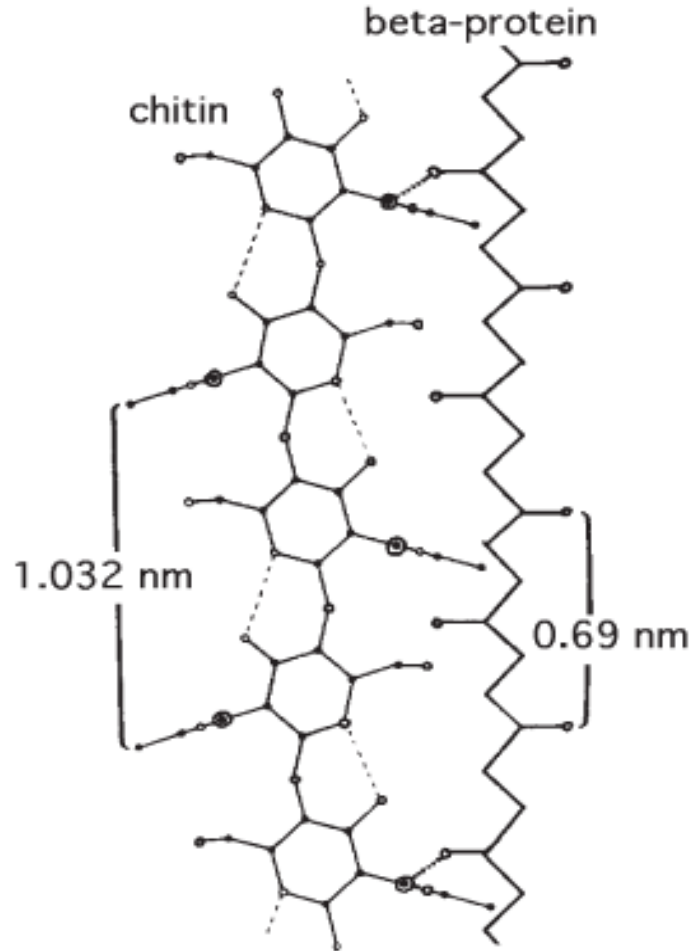
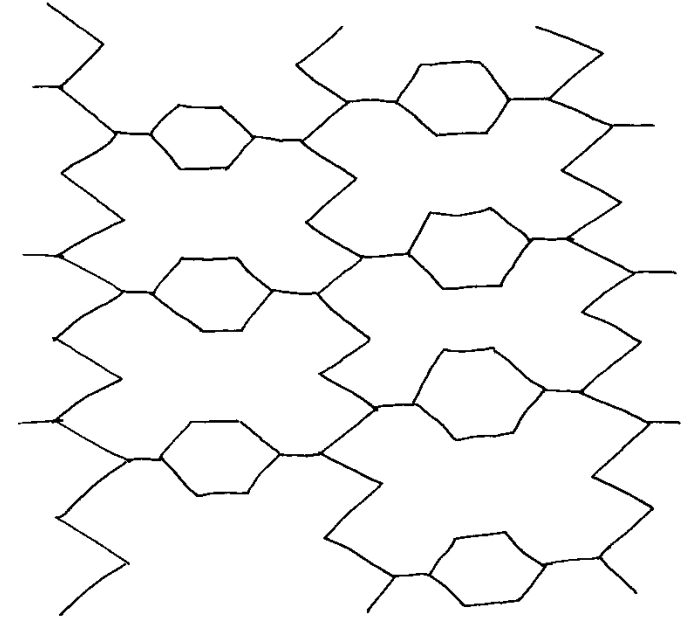
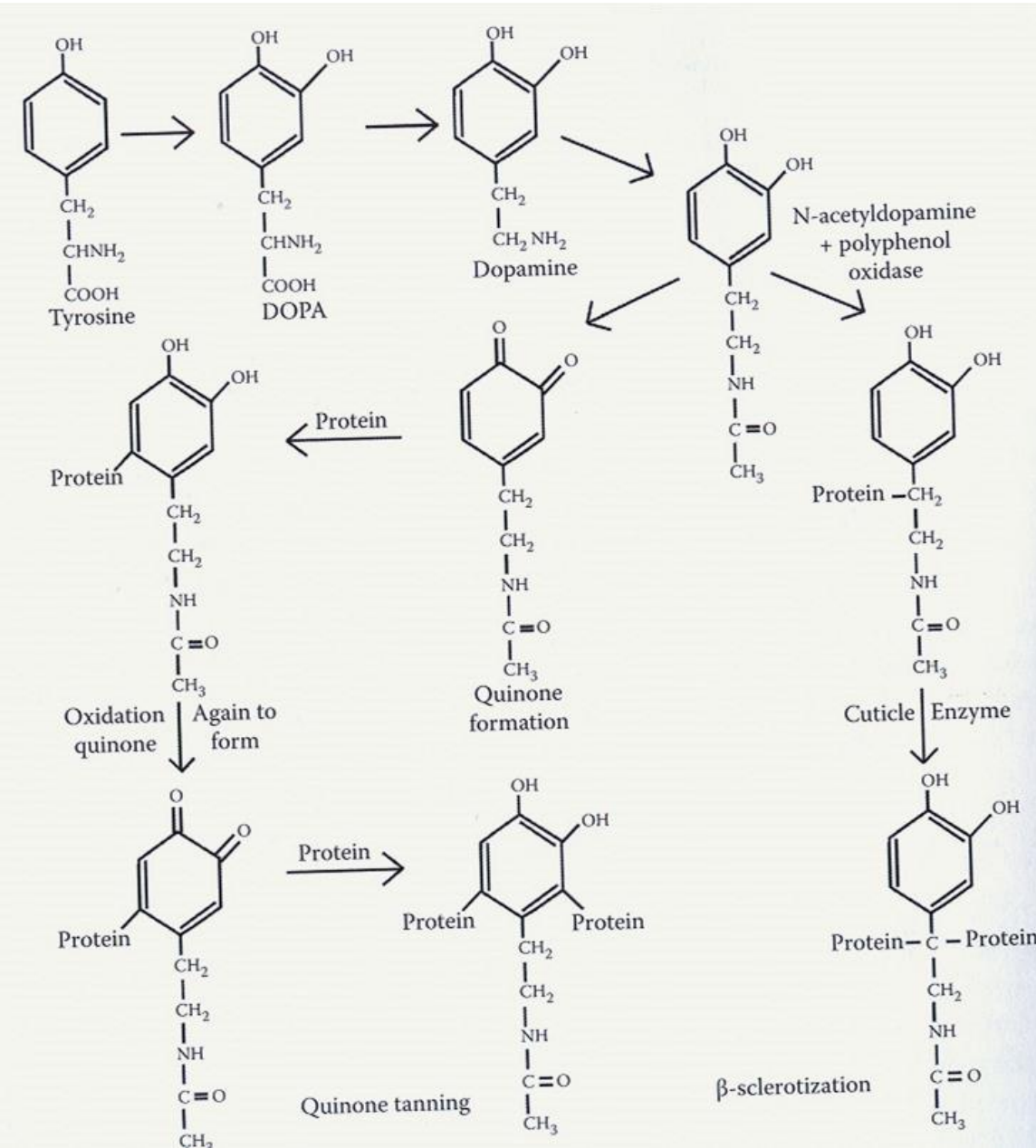


Fig. 2. Suggested bonding between a silk-like protein and chitin.

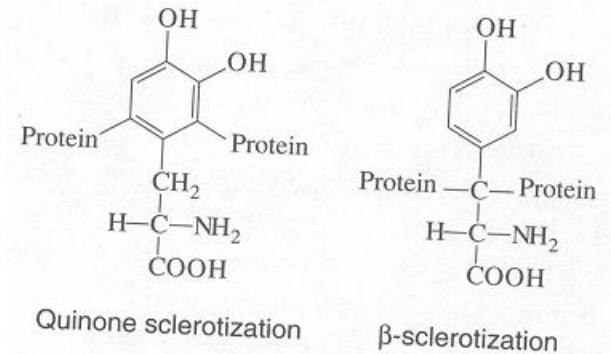
Krystalinní struktura chitinu je důležitá pro kovalentní interakce s proteinovou matrix.
Vzdálenosti zbytků se musí shodovat. $2 \times 1.032 = 3 \times 0.69$

Sklerotizace – vytvrzení bílkoviny

Fenoloxidázová kaskáda
Hormonálně řízená
enzymatická reakce.

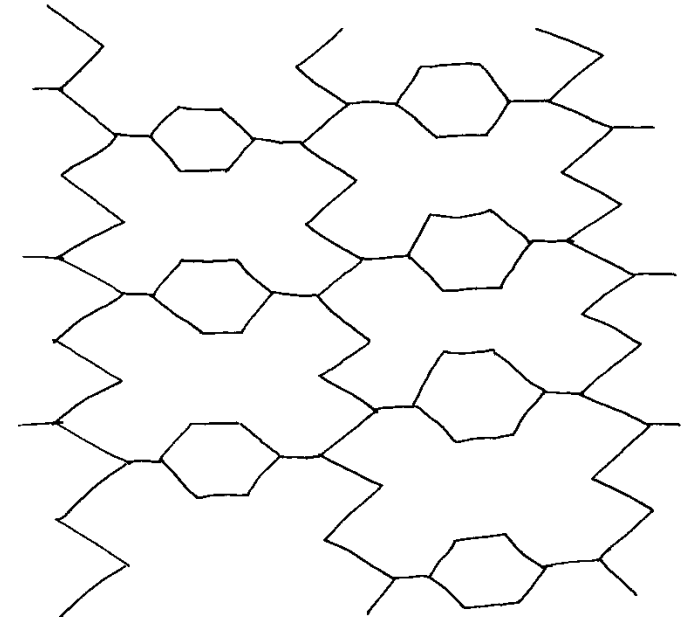
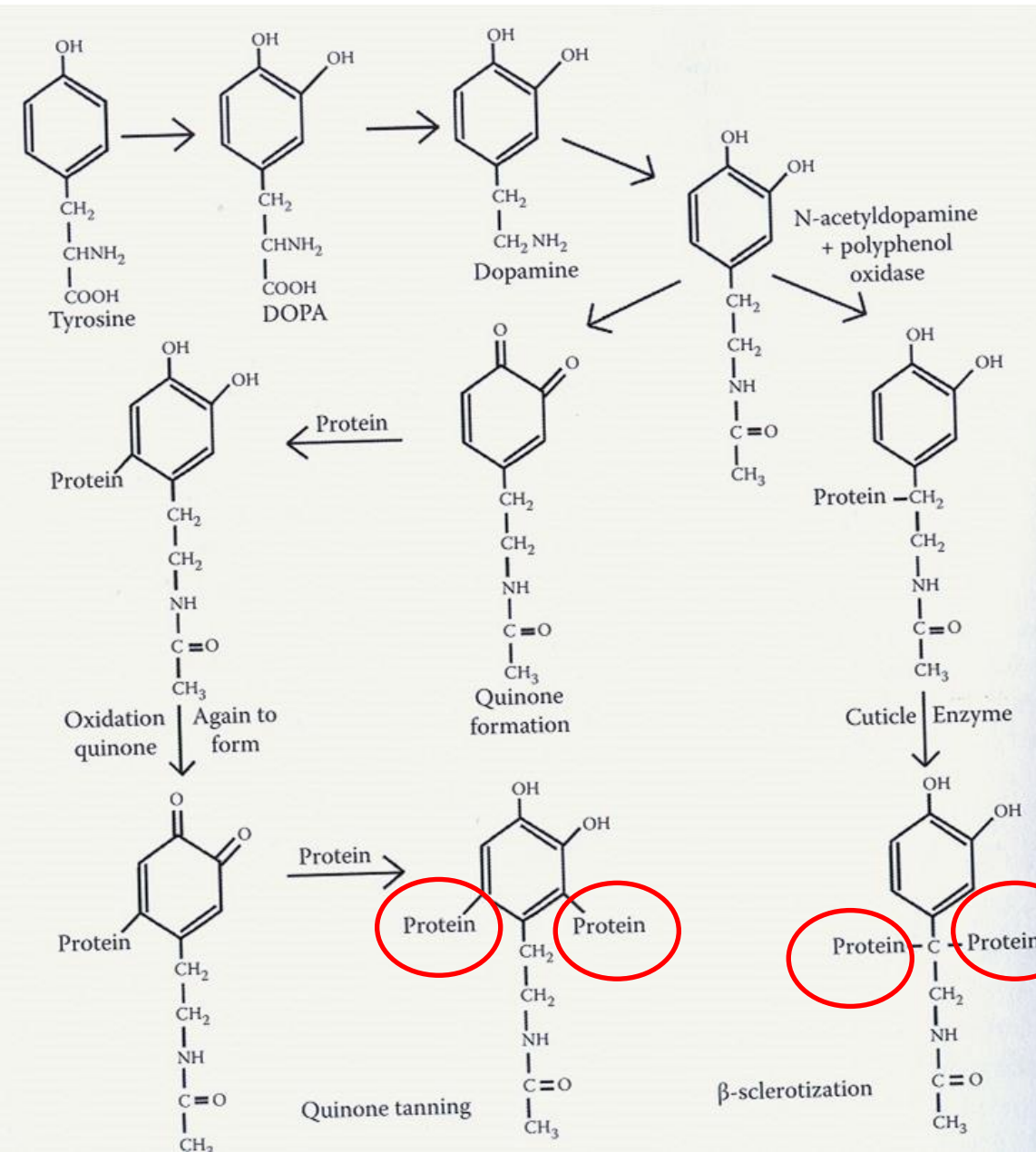


SKLEROTIN

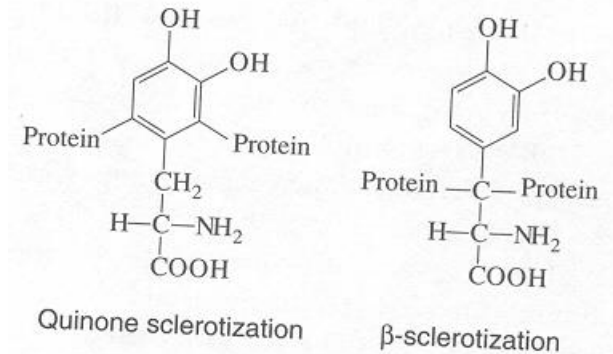


Sklerotizace – vytvrzení bílkoviny

Fenoloxidázová kaskáda
Hormonálně řízená
enzymatická reakce.



SKLEROTIN



Sklerotin se považuje za tvrzenou bílkovinu (tanned protein). Vzniká působením chinonů, které se v kutikule vytvořily oxidací různých difenolů (ty vznikly z tyrozinu – musí být v potravě) za účasti fenoloxidáz v buňkách epidermis a i v kanálcích nad nimi. Chinony reagují s volnými aminoskupinami řetězců a pevně je váží, přičemž dochází k tvrdnutí a barva kutikuly se mění z bílé na jantarovou až tmavě hnědou - **sklerotizace**. Dvě cesty sklerotizace: Beta sklerotizace a Chinonové vytvrzování.

Vytvoření tvrdé, nerozpustné, inertní, hydrofobní hmoty. Tvrdost může být např. v kusadlech ještě zvýšena inkrustacemi minerálních látek. Kyselina mravenčí může ale obnovit elasticitu – trhá H vazby.

Podobně Rhodnius (zákeřnice - krev sající ploštice) dokáže elastifikovat. Takže možná spíše obsah vody určuje tvrdost než fenoly. Anebo jsou to provázané jevy ?

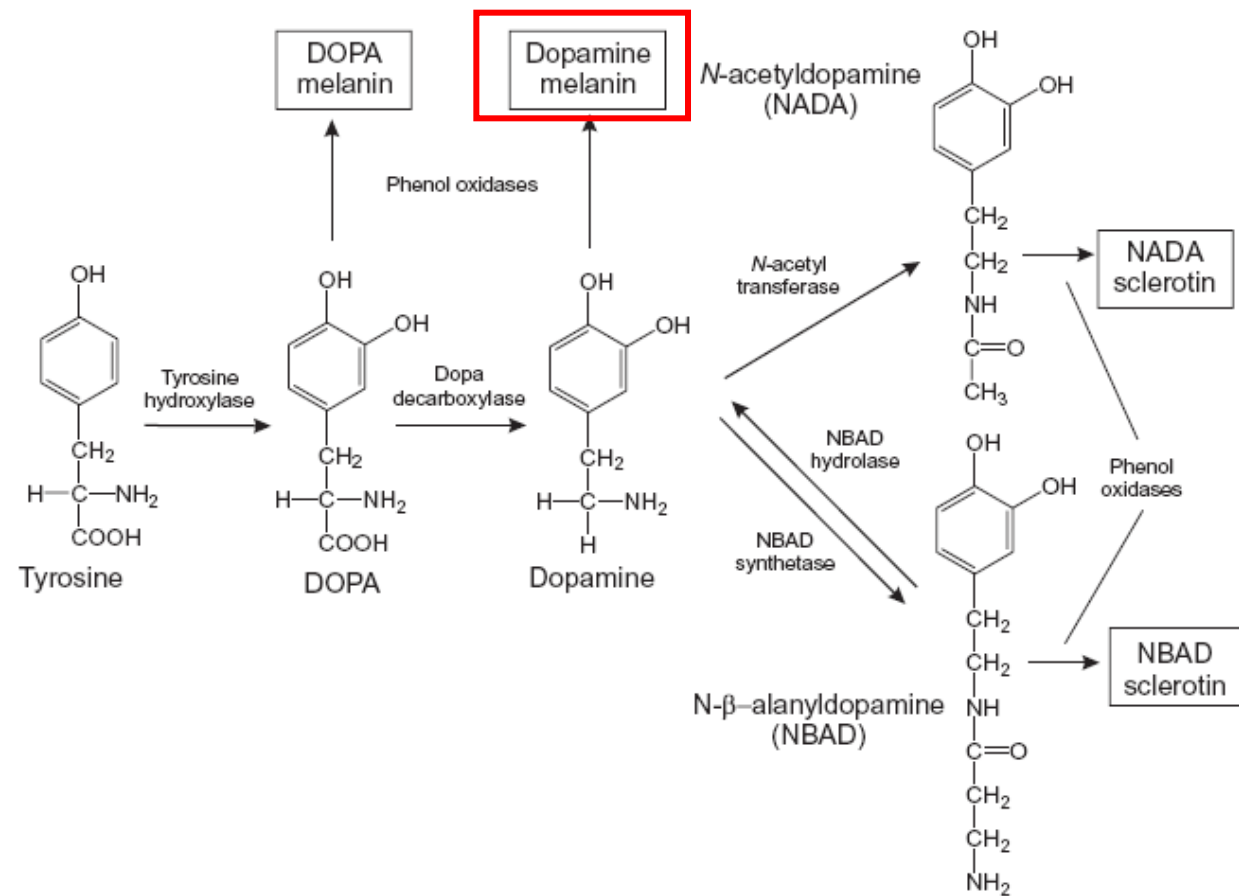


FIGURE 2.19. The steps in the synthesis of cuticular tanning precursors.

K tmavnutí (**melanizaci**) dochází tak, že tyrosin (fenylalanin) přechází působením tyrozinázy (fenoloxidázy) na dihydroxyfenylalanin (DOPA) a dále pak na Dopamin. Řadou následných reakcí, které probíhají zčásti spontánně bez enzymatické katalýzy, vzniká jako konečný produkt tmavohnědý až černý melanin.

Příbuzné děje při vytváření zátky při poranění nebo při likvidaci patogenů (enkapsulace).

*Sklerotizace-
Zesíťování proteinů*

Melanizace- ztmavení

Smíchání komponent
při tvorbě ootéky v
genitální komoře.

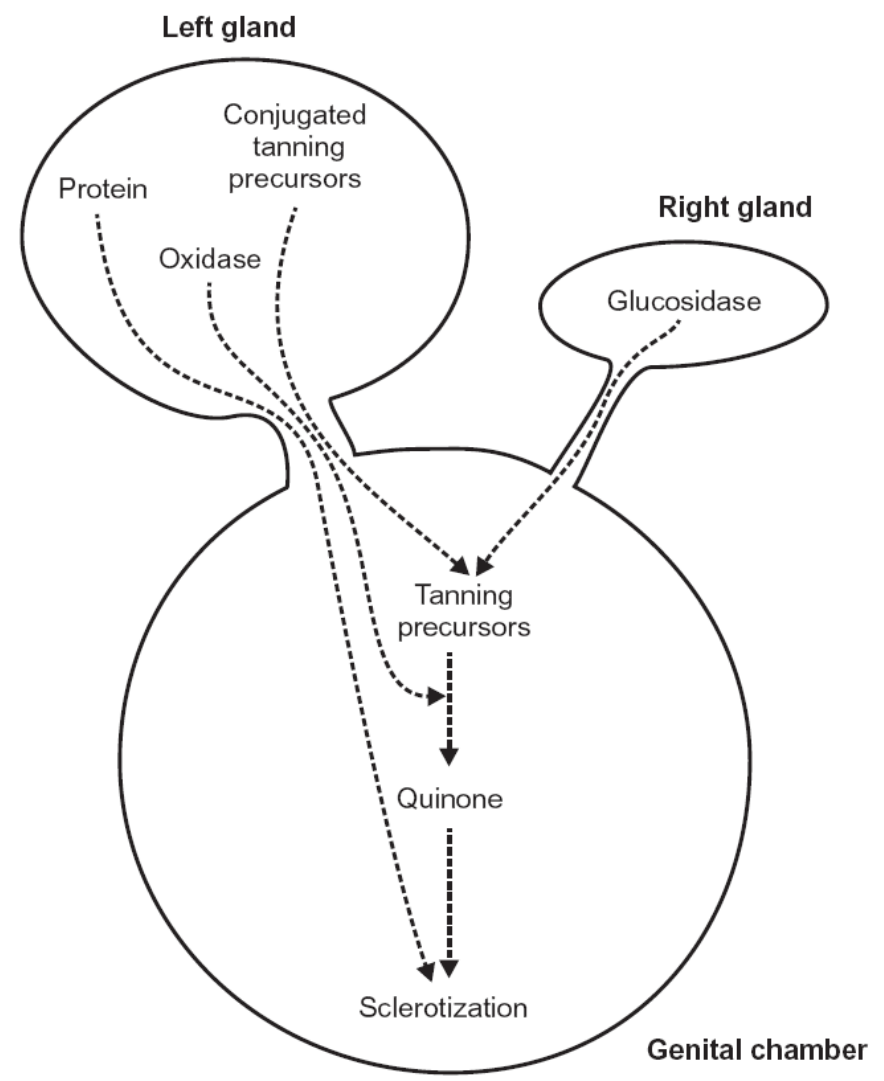


FIGURE 2.14. The mechanism of ootheca production in the cockroach. The left gland secretes oothecal proteins, tanning precursors that are conjugated and inactive, and an oxidase. The right gland secretes a glucosidase. When the contents are mixed in the genital chamber, the glucosidase removes the conjugate and makes the tanning precursors available to the action of the oxidase. The oothecal proteins are sclerotized by the quinones that result.

Vytváření sklerotinu pokožkovými buňkami má mnoho společného s výrobou plastických hmot. Při tvarování kutikuly se smíchá chitin s bílkovinou za vzniku kovaletních vazeb a dlouhá bílkovinná vlákna pak vzájemně polymerují (benzenovými můstky působením chinonů) a vzniká lehká a pevná hmota. Různý podíl chitinu a sklerotinu určuje míru tvrdosti nebo pružnosti kutikuly v té její vrstvě, kde je to nejúčelnější.

Resilin – obdoba obratlovčího elastinu ve šlachách.

„Resilience“ – pružnost, odolnost, houževnatost

Inspirace pro materiálové inženýry (podobně pavučina, hedvábí). Materiál pro výrobu umělých cév?

Blecha vyskočí z místa kolmo do výšky dvaceti centimetrů. Délka těla 150krát.

Nevyužívá ke skoku svaly, ale zvláštní katapult z bílkoviny zvané resilin.

Blecha má resilinovou "pružinu" umístěnou ve spodní části zadní končetiny.

Pomocí svalů ji stlačí a drží ve stavu pohotovosti. Katapult je "natažený"

podobně jako kuše připravená k výstřelu šípu. Když blecha "stiskne spoušť",

energie nastřádaná v resilinové pružině se v mžiku uvolní a katapultuje hmyzí

tělíčko do výše.

Vedle blech jej využívá i létající hmyz k ukotvení křídel k tělu (let, cvrkání).

Snaha připravit resilin uměle v laboratoři už čtyřicet let. Zvládl to teprve

nedávno tým australských genetiků vedených Christopherem Elvinem z vládní

výzkumné a vývojové společnosti CSIRO Livestock Industries. Gen pro resilin

si vypůjčili od mušky octomilky a vnesli jej do běžné střevní bakterie

Escherichia coli.

Bakterie vyráběly bílkovinný řetězec tvořený sedmnáctkrát opakovaným

motivem patnácti aminokyselin. Tyto řetězce mají do parametrů resilinu daleko.

Jedinečnou pevnost a pružnost získaly, až když je vědci propletli zvláštní

chemickou reakcí do složité trojrozměrné sítě.

Nepřítomnost kanálků v kutikule, kde je resilin, brání jeho vytvrzení a ztrátě

pružnosti.

pěnodějkovití



Zrychlení 4,000 m/s²



Credit: Burrows et al, *BMC Biology* 2008

Elasticita a uložení energie.

Resilin jinde než chitin.
Kutikula pevná i pružná.

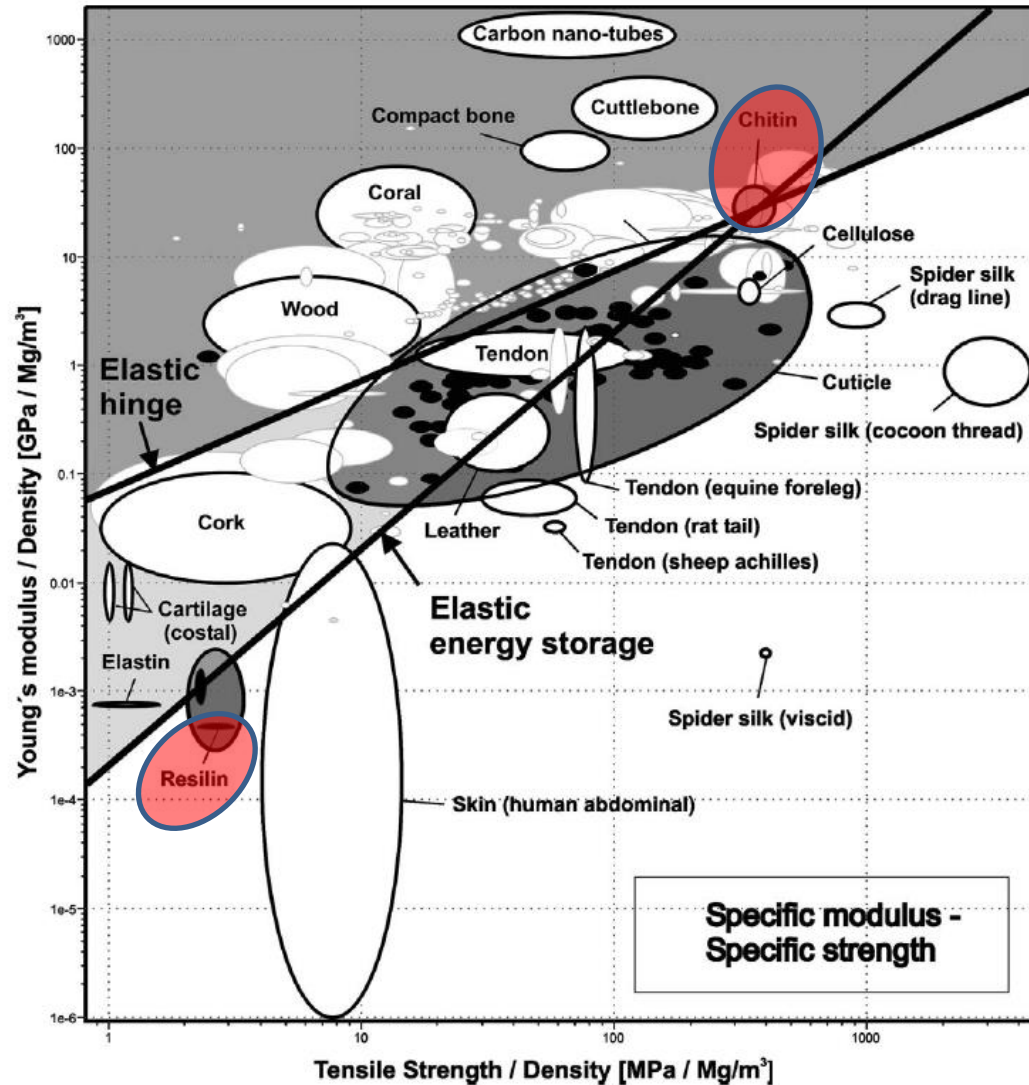
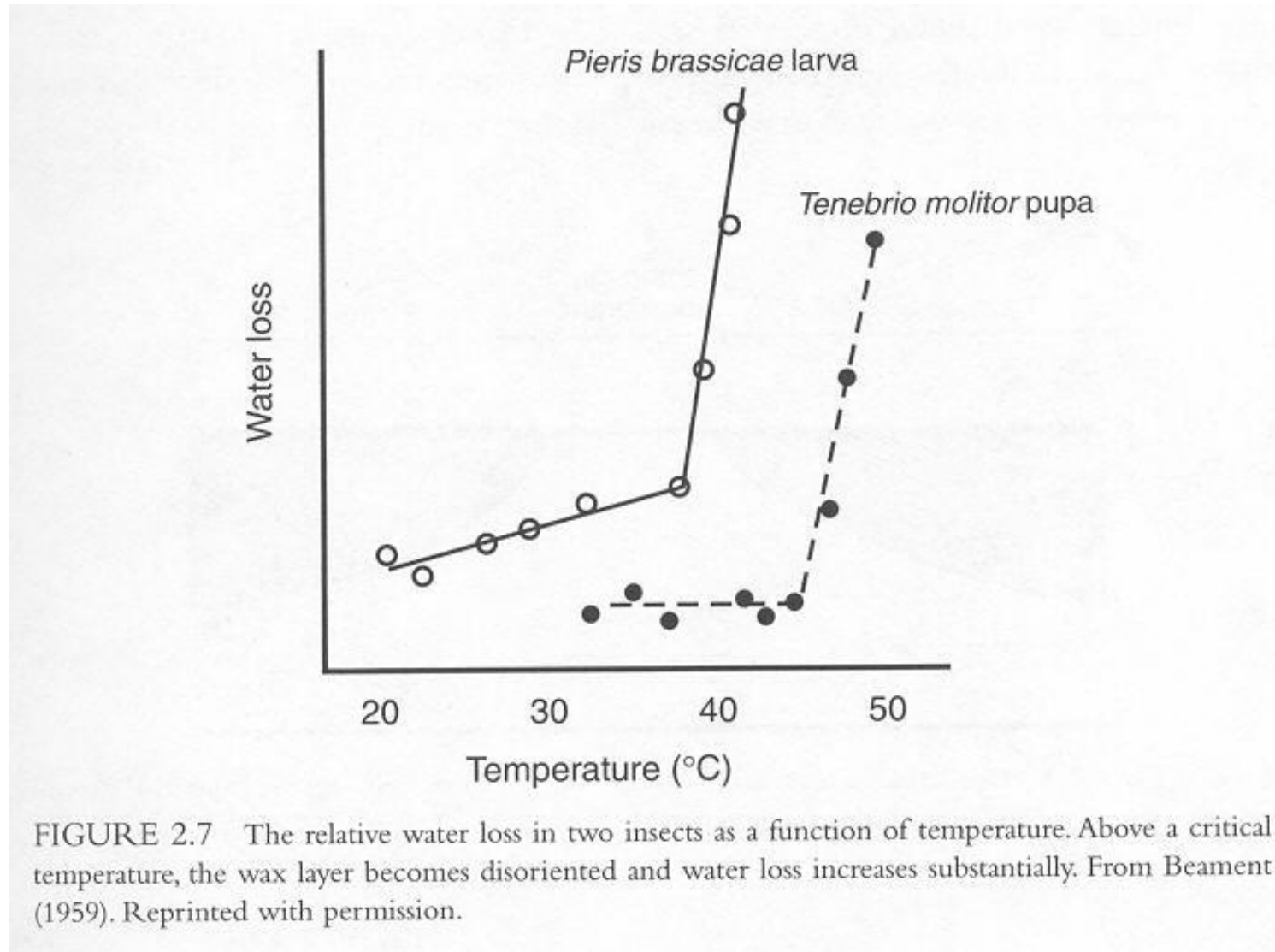


Fig. 8. A material property chart for natural materials, plotting specific Young's modulus against specific strength. Guide-lines identify materials which make good elastic hinges, and which store the most elastic energy per unit weight. (Figure created using the Natural Materials Selector, Wegst, 2004.)

Ochrana kutikulou proti vyschnutí je omezena teplotou



Kritická teplota – neznámá příčina, nejde o obyčejné tání vosků.

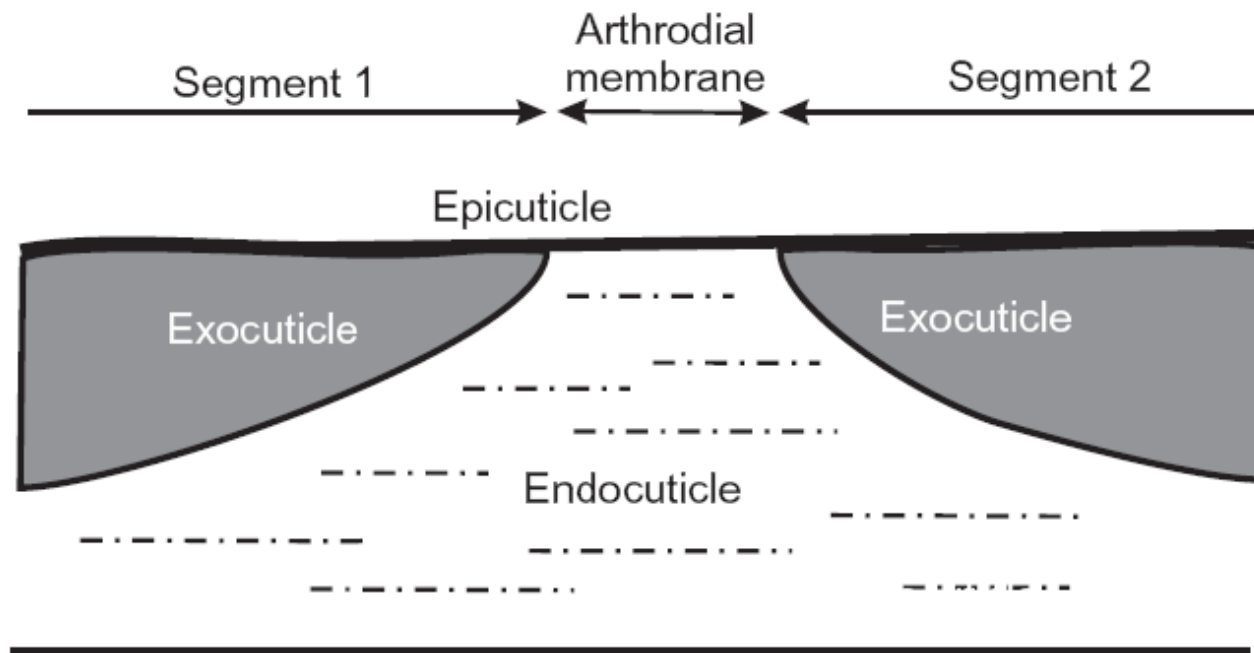


FIGURE 2.9. A cross-section of the integument between two segments, showing the absence of exocuticle that results in the flexible arthrodial membrane.

Pochopení vlastností kutikuly – inspirace pro techniku, boj se škůdci.

Hmyzí kutikula je druhý nejrozšířenější materiál po materiálu buněčných stěn rostlin – dřevu – a nejjednodušší, vysoce odolný kompozit. Přesto jsou mnohé její vlastnosti stále neodhaleny .

Ontogenetický a embryonální vývoj

Při metamorfóze Dipter zůstává mnoho orgánů bez vnitřních změn (malpigické trubice, skupiny svalů), aby mohly sloužit dospělým. Buňky tracheálního systému dediferencují a znovu vstupují do proliferačního cyklu. Jiné orgány jsou podrobeny histolýze a nové orgány se vytvářejí z imaginálních terčků (histogeneze).

Při začátku metamorfózy jisté larvální buňky odumírají a rozpadají se (autolýza).

Hemocyty se někdy aktivně podílí fagocytózou při odstraňování rozpadlé tkáně a připravují ji k dalšímu použití.

Bezkrídle druhy hemimetabolního hmyzu pokračují ve svlékání i v dospěleckém stádiu, ale pterigota jsou neschopna svlékání, když jsou dospělci. Neschopnost dospělých pterygot je možná důsledkem degenerace epidermálních buněk. Po svlékání do dospělce, epidermální buňky, které vytvořily křídla, degenerují a ztráta vody z nich umožňuje membránám křídel rychle kmitat za letu.

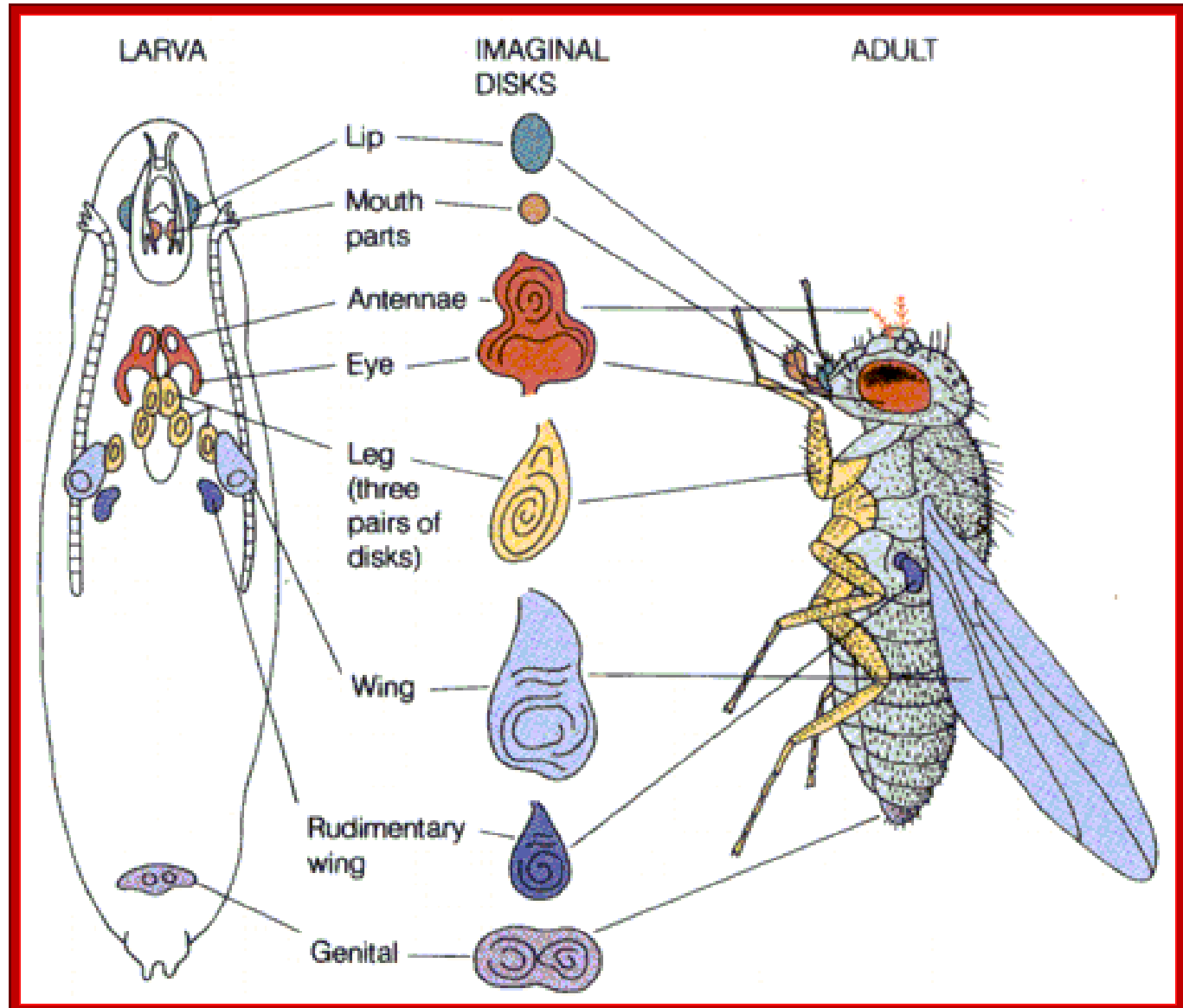
Jak jednou degenerují, buňky nemohou vytvořit novou kutikulu křídel, i kdyby se hmyz svlékal. Smrt buněk, která činí možným let, zároveň znemožňuje svlékání u dospělců.

Pouze jepičí subimágo je schopné svlékání do jiné křídlaté formy, ale je to špatný letec, protože žijící epidermální buňky zůstávají částí křídla.

Dva děje v metamorfóze z larvy do dospělé – nutnost vytvořit nové tělní výběžky.

A) Změna v sekreci epidermis

B) Imaginální disky



WIKI:

The experiment that demonstrates this developmental commitment is to take an imaginal disc from a [third instar](#) larva, about to undergo pupation, and subdivide it and culture it in the body of a younger larva. Discs can be continuously cultured this way for many larval generations. When such a cultured disc is eventually implanted in the body of a larva that is allowed to pupate, the disc will develop into the structure it was originally determined to become. That is, an antenna disc can be cultured this way and will, almost always, become an antenna (out of place, of course) when final development is triggered by pupation.

The study of imaginal discs in the fruit fly [*Drosophila melanogaster*](#) led to the discovery of [homeotic mutations](#) such as [antennapedia](#), where the developmental fate of a disc could sometimes change. It is of great interest that the kinds of developmental switches that occur are very specific, leg to antenna for instance. Study of this phenomenon led to the discovery of the [homeobox](#) genes, and started a revolution in the understanding of development in multi-celled animals.

Mechanisms and genes responsible for leg and wing development are very similar to that of the vertebrate limb.

Everze – vyklenutí, vychlípení epidermálních útvarů tvořících tykadla, nohy křídla atd. Následuje tvorba nového typu kutikuly.

