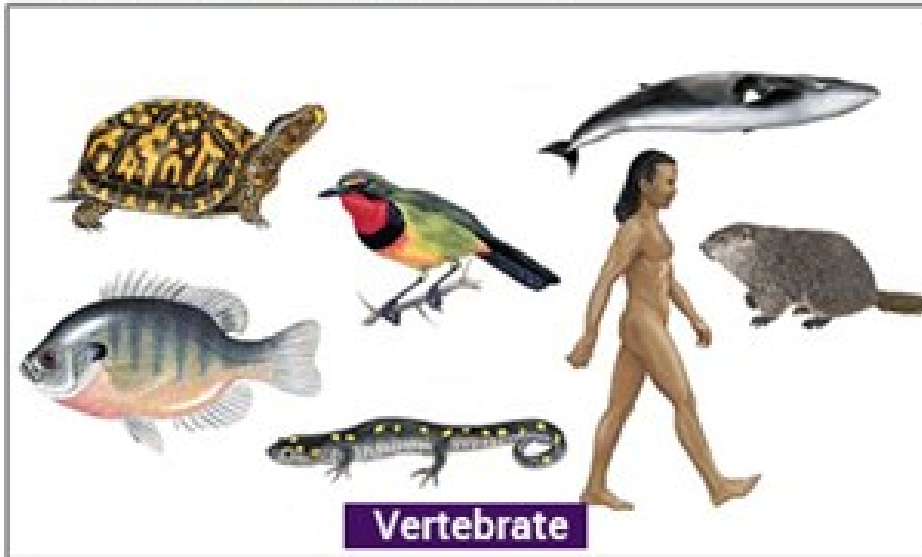


# Srovnávací fyziologie bezobratlých

## 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,

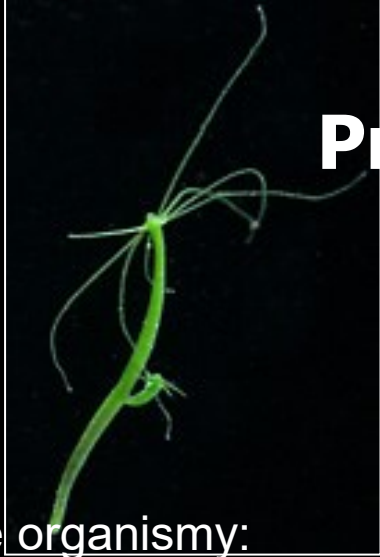
Rychlý generační cyklus,

Praktičtí: odolnost vůči exp. zásahům i etické aspekty

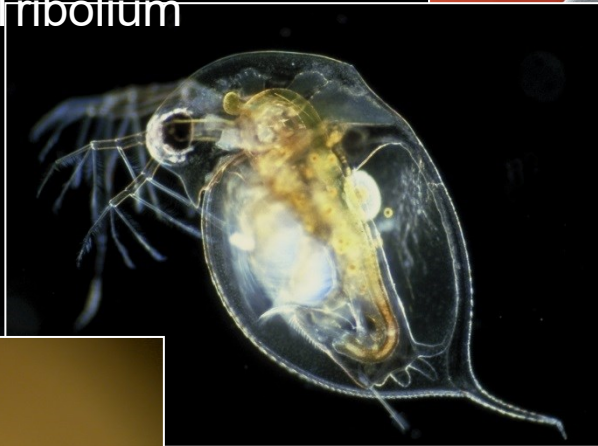
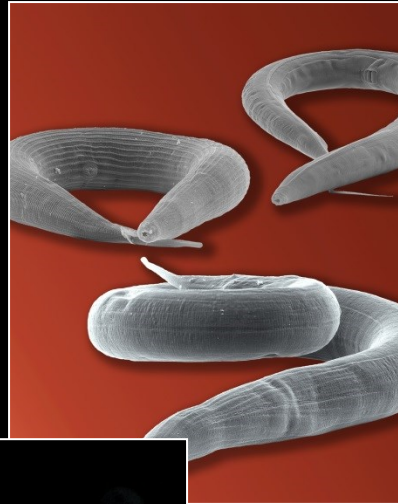
Hospodářský význam



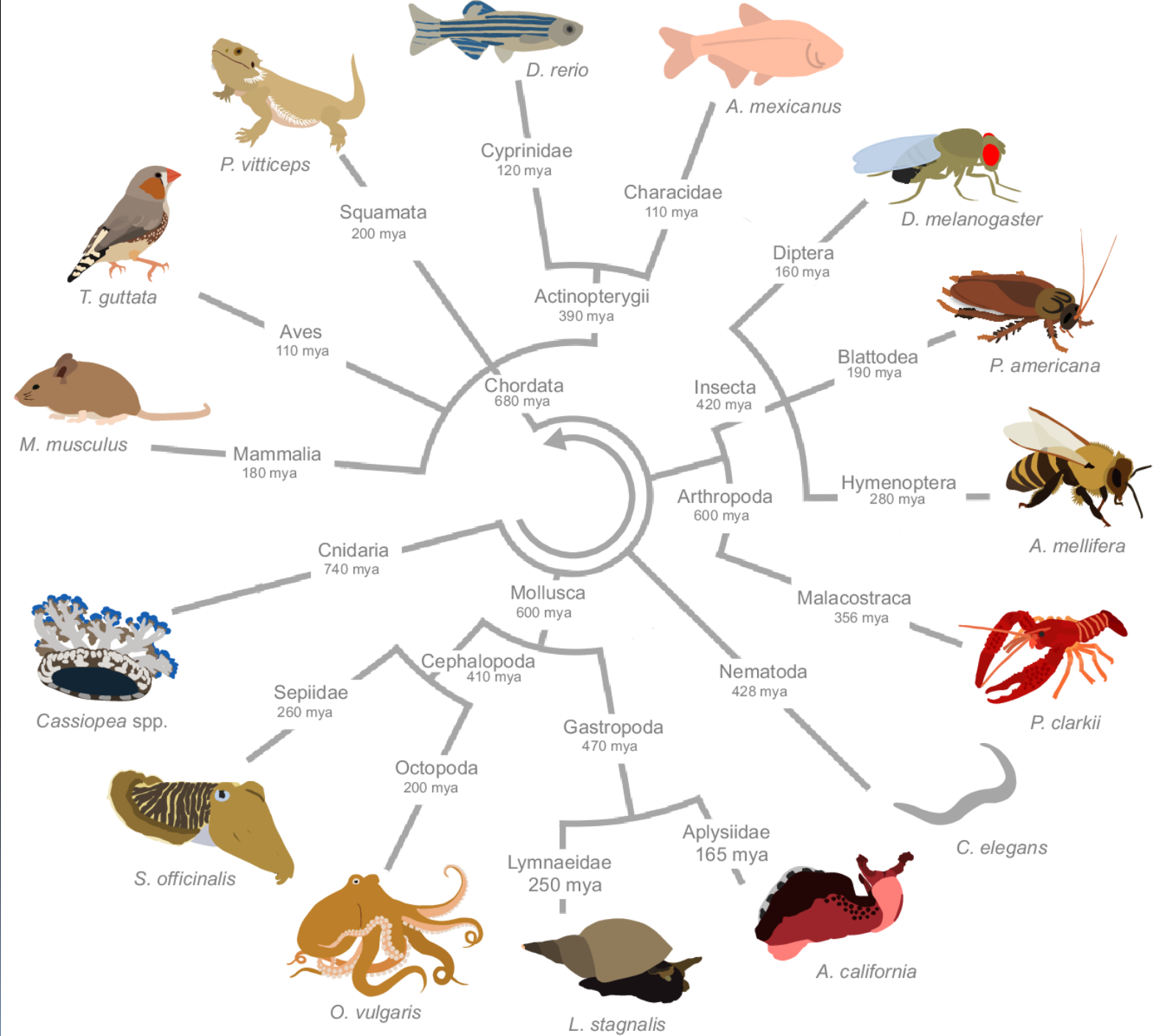
# Proč bezobratlých?



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

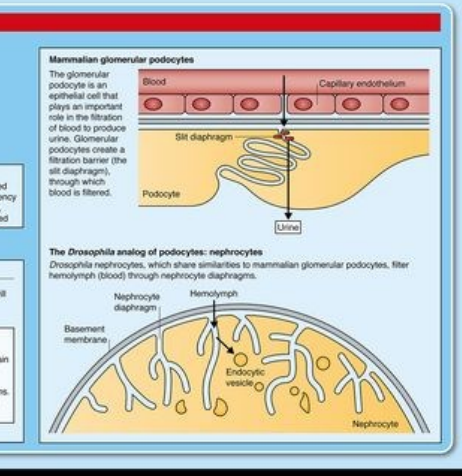
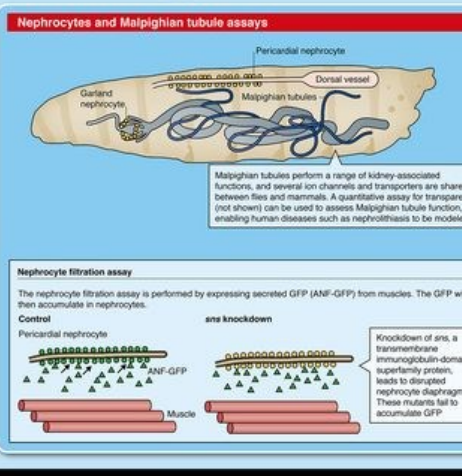
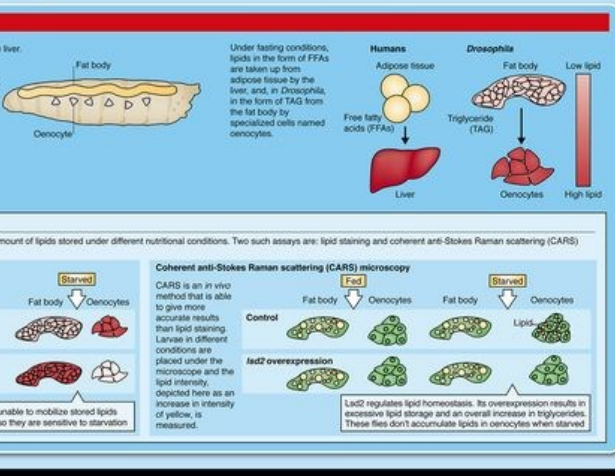
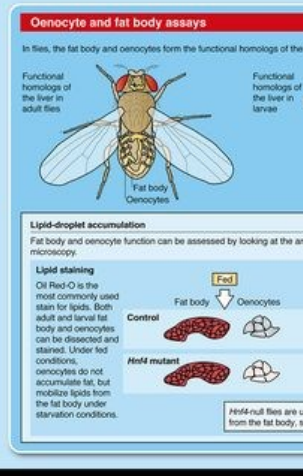
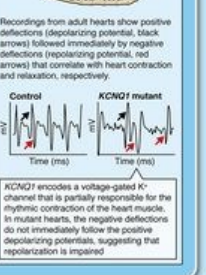
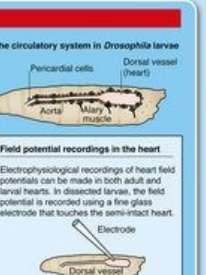
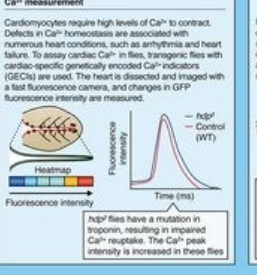
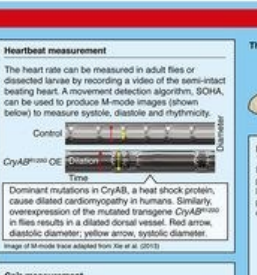
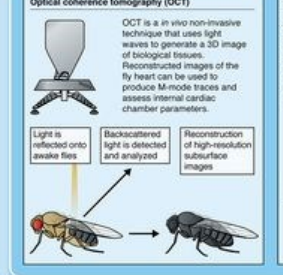
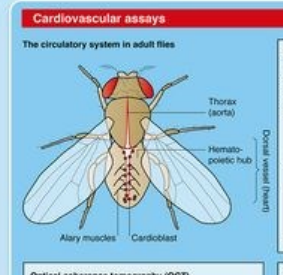
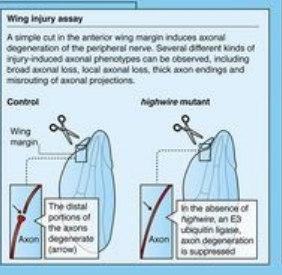
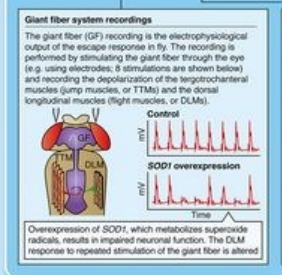
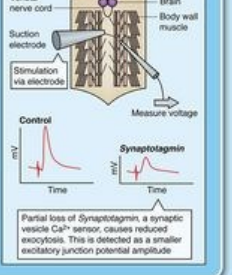
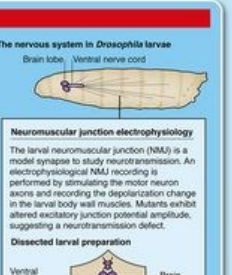
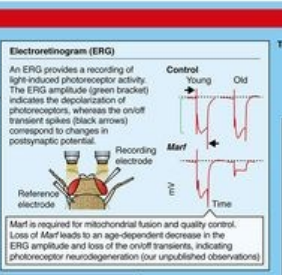
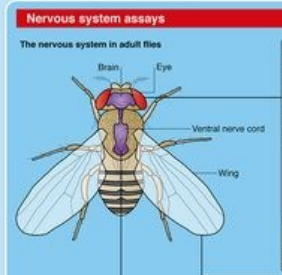
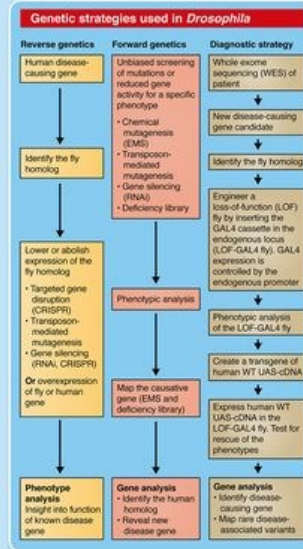


# Evoluce spánku jako příklad, o jaké taxony se fyziologové zajímají.



Keene, A. C., & Duboue, E. R. (2018). The origins and evolution of sleep. *Journal of Experimental Biology*, 221(11), jeb159533.

# Drosophila a ukázka výzkumu lidských nemocí



Abbreviations: ANF, anal nervous factor; Cry4<sup>Δ</sup>, crysalin4; GFP, green fluorescent protein; Hsp, heat-shock; HNF4, hepatocyte nuclear factor; KCNQ1, voltage-gated potassium channel 1; Lsd2, lipid storage droplet-2; Marf, mitochondrial assembly regulatory factor; M-mode, motion-mode; OE, overexpression; Srs, sticks and stones; SOD1, superoxide dismutase 1; WT, wild type.

See main text for associated references. \*Equal contribution

## Pracoviště v ČR:

### Fyziologie:

C. elegans - UMG AVČR, UK Vestec

D. melanogaster – Biol.Centrum ČB, CEITEC,

A. mellifera - VÚRV, ČZU, Fac Agrobiol Food & Nat Resources, Přír. fak. Katedra biochemie UPOL, MUNI, UK

### Ekologie, Etologie:

Mravenci – MUNI (S. Pekár), UK (J.Frouz), Biol.Centrum ČB

Termiti - ČZU, Fac Trop Agrisci

Parazitologie, Entomologie, Aplikovaná ekologie...

## K organizaci přednášky:

Zaměření témat

Z čeho studovat

Příprava, nároky, ukončení.

Závěrečná rozprava - zkouška (obdoba státnic) na známce se podílí 80%



© Alexandr Pospěch

[www.photographypospetch.com](http://www.photographypospetch.com)



## **Shrnutí hlavních informací z minulé přednášky :**

- Cca 5 minut
- Náhodně vybraný student.
- Bez prezentace
- Odpoví na otázky
- Může jen pomoci

# Prezentace článku:

Cca 15 minut

- Jaký problém autoři řeší.
- Jakou mají hypotézu.
- Jaké použili metody (obecně a příklad) 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.), vlastní ohodnocení

## Hodnocení prezentace článku:

- Jak se podařilo zaujmout a jasně vysvětlit
  - Pochopení a předání hlavního sdělení a smyslu článku
  - Dodržení doporučené struktury
  - Schopnost mít a projevit relevantní vlastní názor, hodnocení, všimnutí si
  - Reakce na dotazy
- 
- Vystižení podstaty článku
  - Obtížnost článku
  - Ohodnocení váha 20%

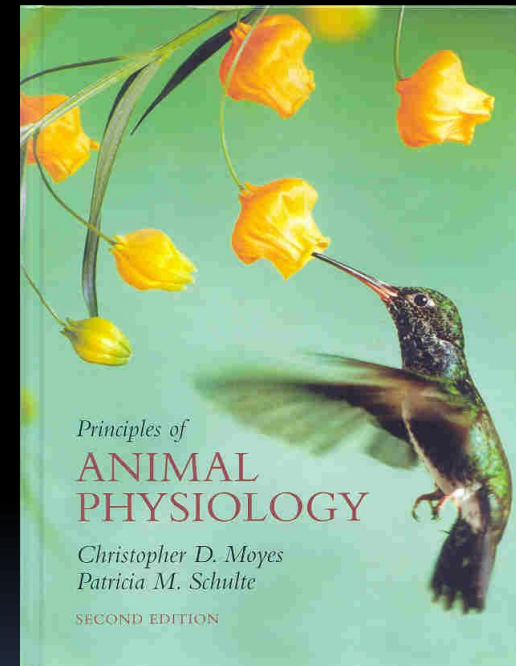
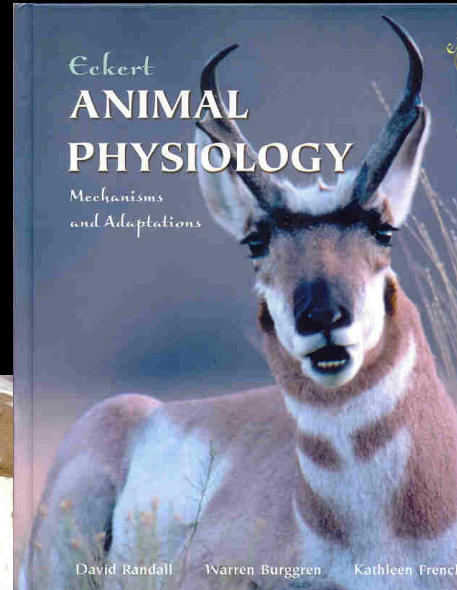
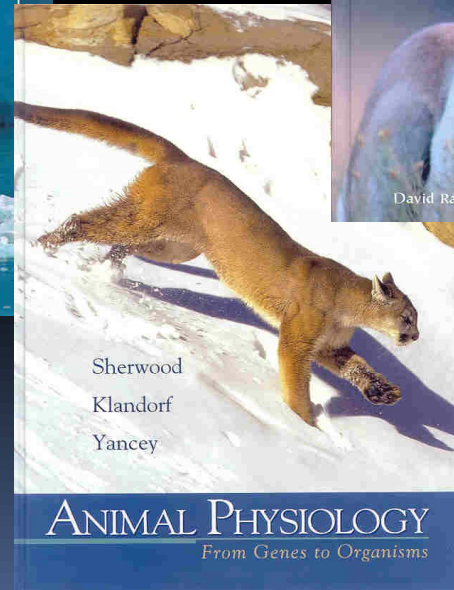
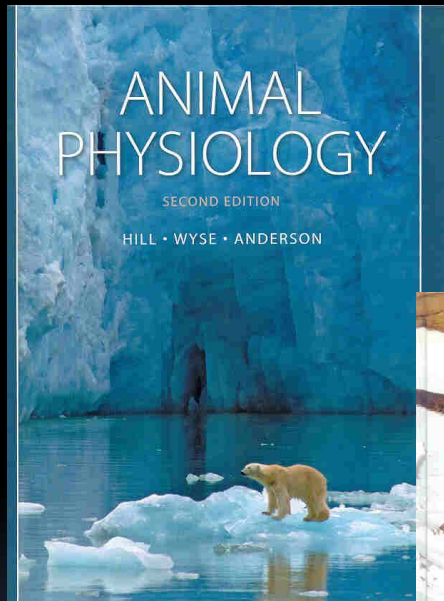
# Zaměření témat

## (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

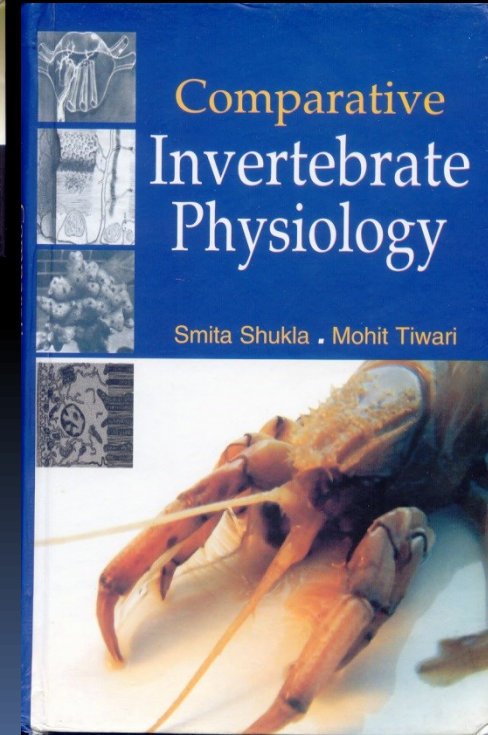
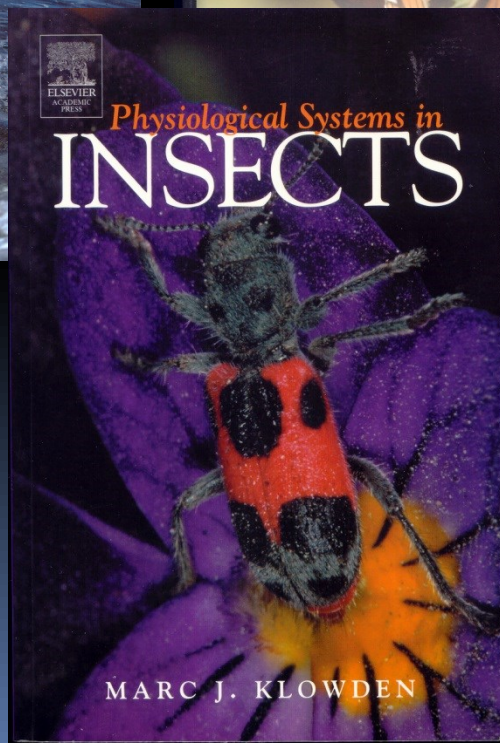
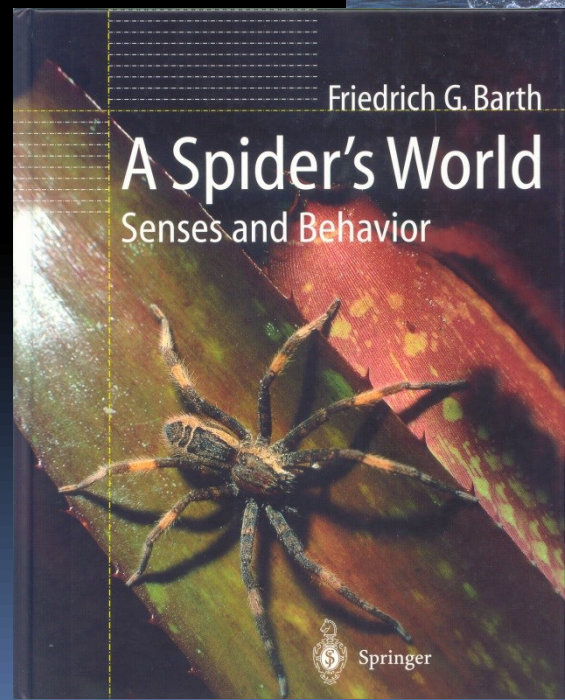
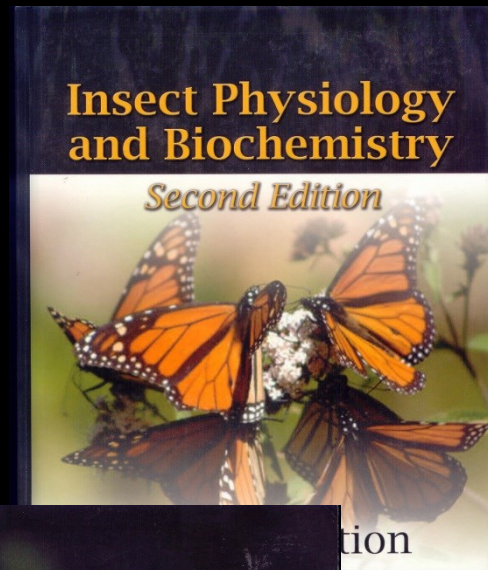
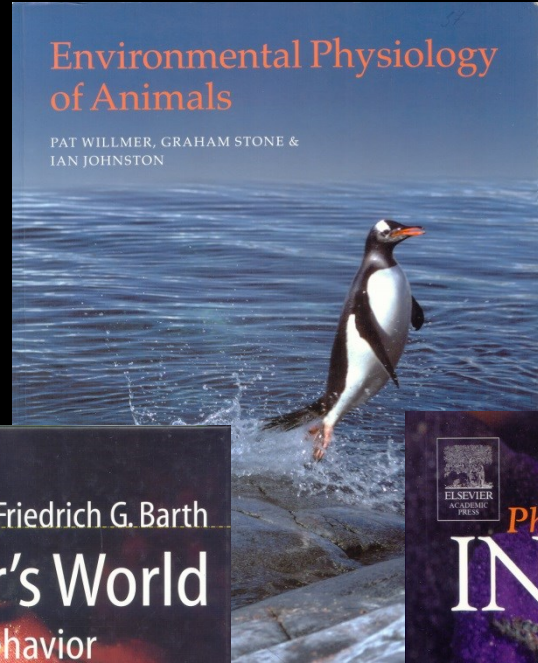
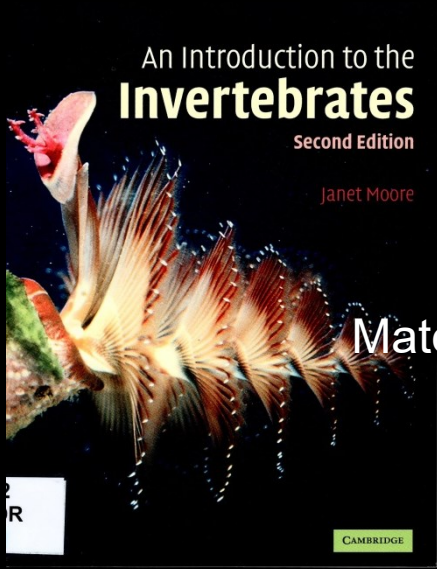
# Srovnávací fyziologie

Materiály:



# Srovnávací fyziologie bezobratlých

Materiály:



# Srovnávací fyziologie bezobratlých

Materiály: přednášky, Kodrík-Fyziologie hmyzu  
Články

Příklady z mnoha internetových zdrojů:

<https://www.researchgate.net/publication/51253776> Invertebrate Resources  
on the Internet

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

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

<https://www.ck12.org/book/ck-12-biology-advanced-concepts/section/15.0/>

Nesmírně početní  
a heterogenní

Mimořádné  
postavení  
hmyzu

1M druhů – jen ½!

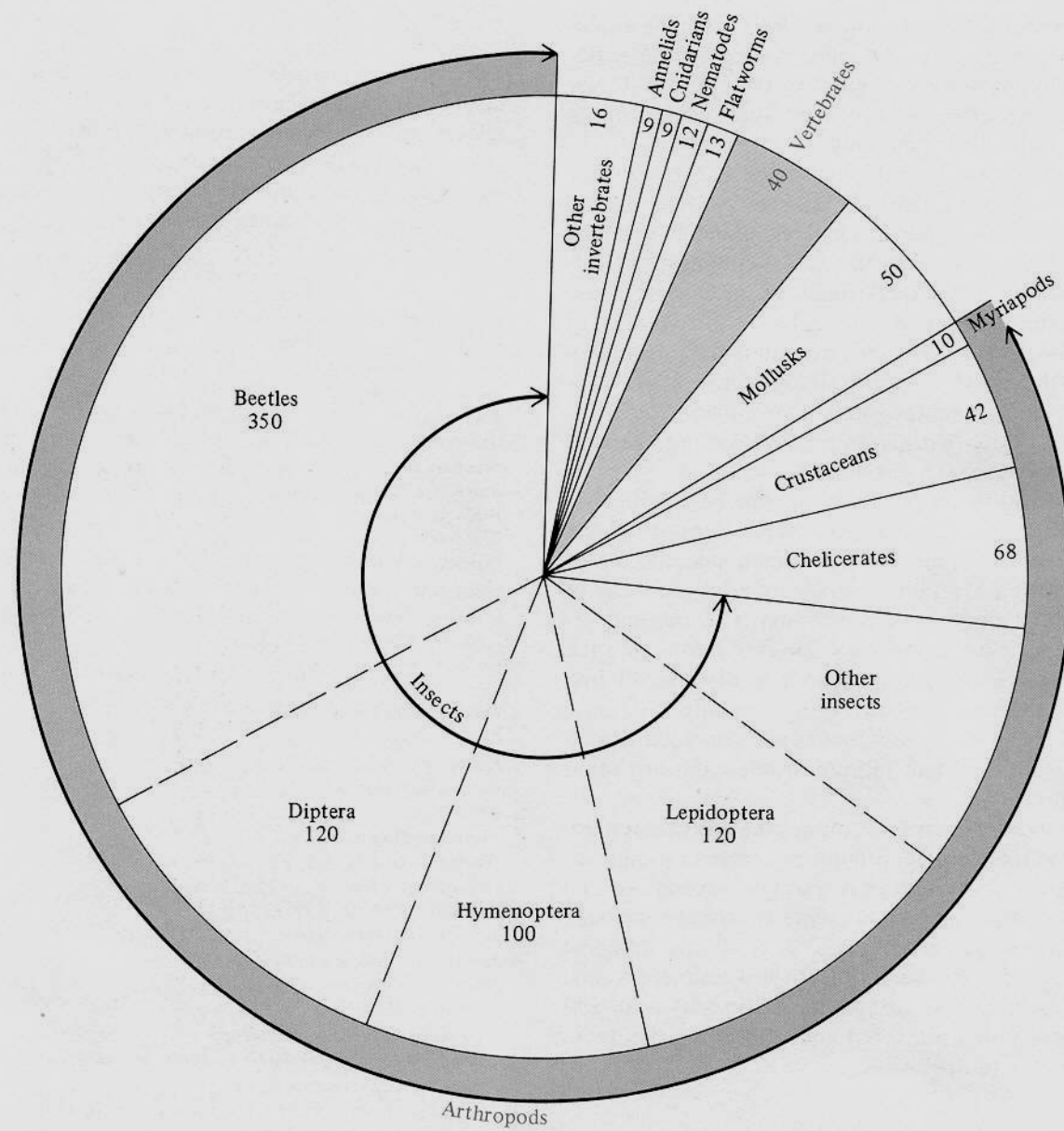


FIGURE 1-2 Number of species of animal groups showing the great predominance of the invertebrates (96.3% of the total) and, especially, of the arthropods (86% of the total). The numbers represent thousands of species.



## Hmyz vždy fyziology zajímal

Na Zemi (téměř) neexistují místa, kam by aspoň někteří zástupci hmyzu nepronikli. 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.

Důmyslné fyziologické a etologické adaptace

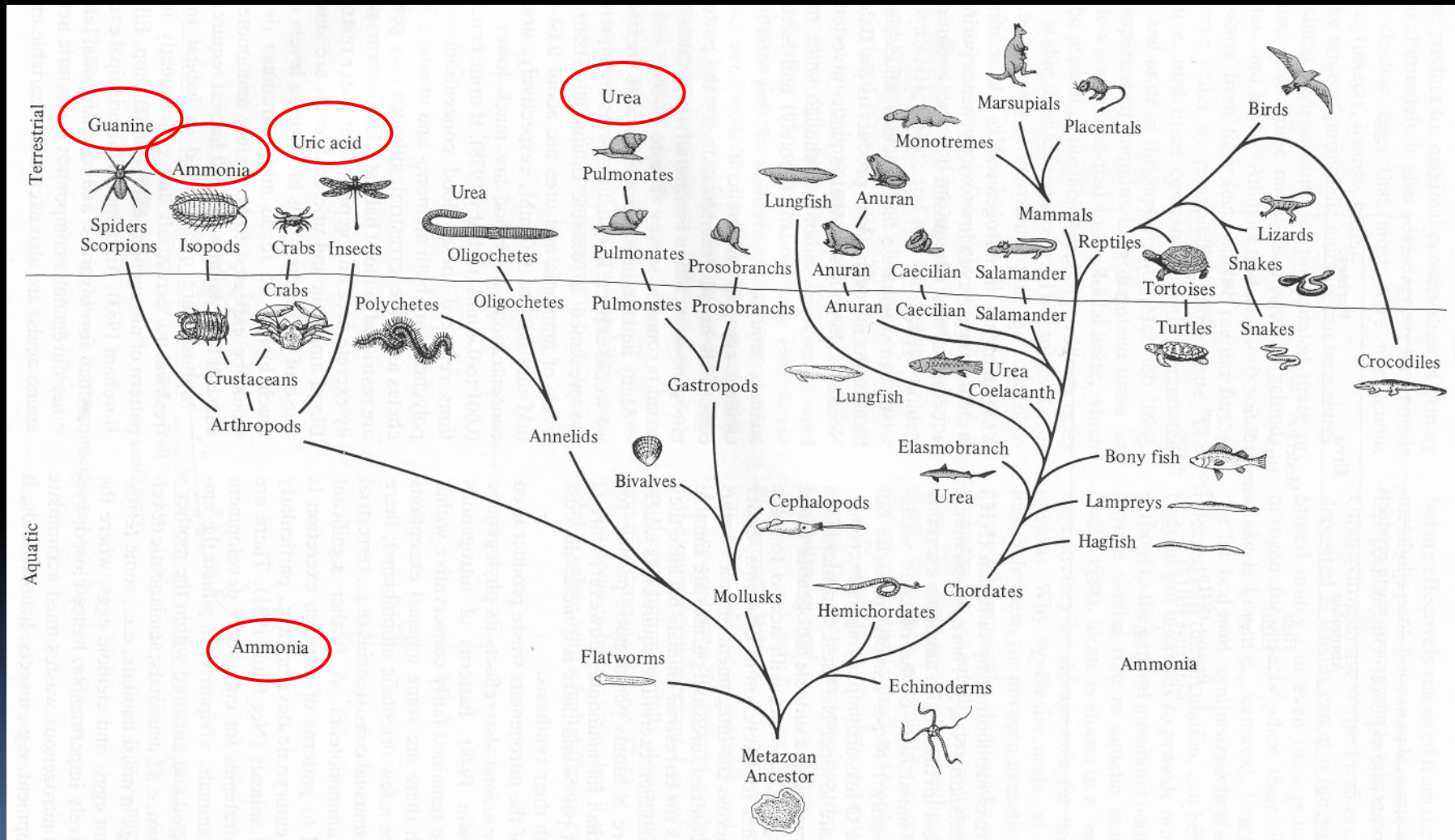
Smyslové schopnosti nebo vytváření sociálních společenstev

Význam vědecký, praktický, hospodářský (škůdci, potrava), medicínský (vektory)

Jednoduchost stavby, chovu, genetických manipulací, etika, náklady...

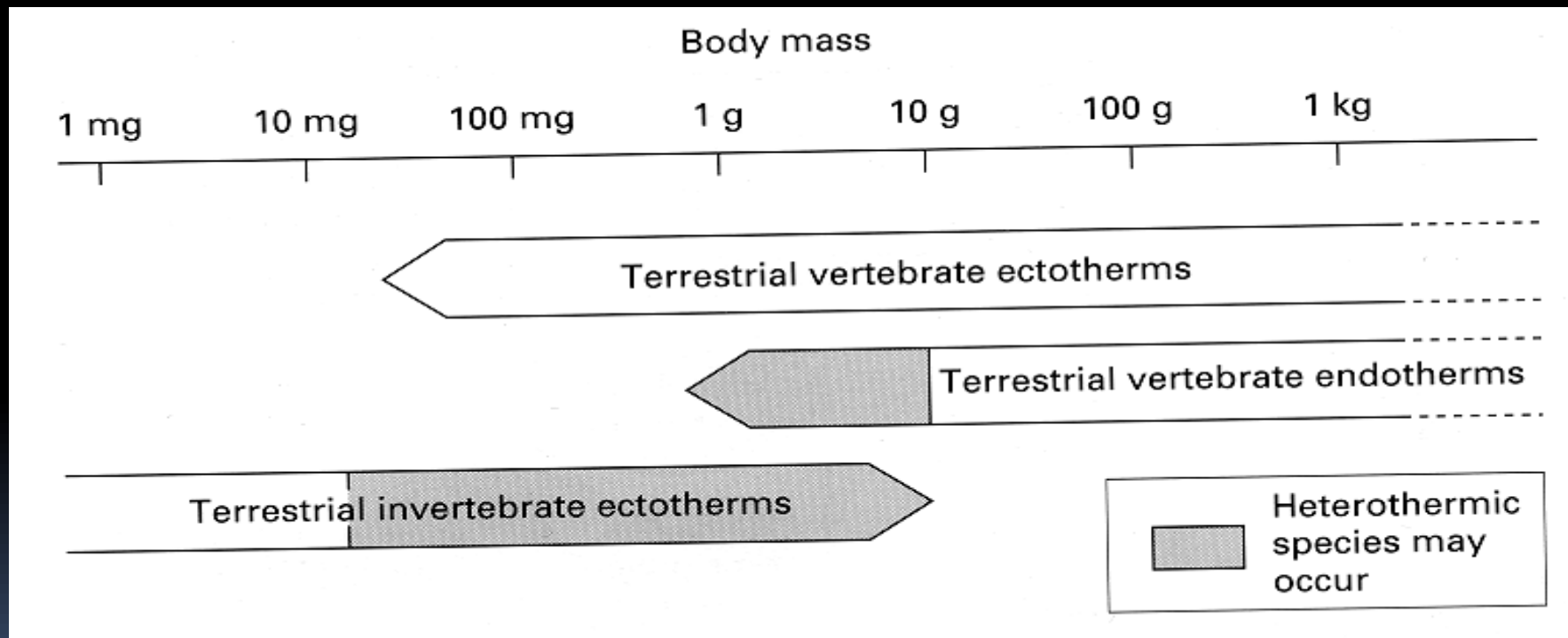
Inspirace pro technologie.

Taxonomické zařazení nemusí určovat funkce.  
Např. o způsobu vylučování amonných metabolitů  
rozhoduje dostupnost vody, ne fylogenetická příbuznost



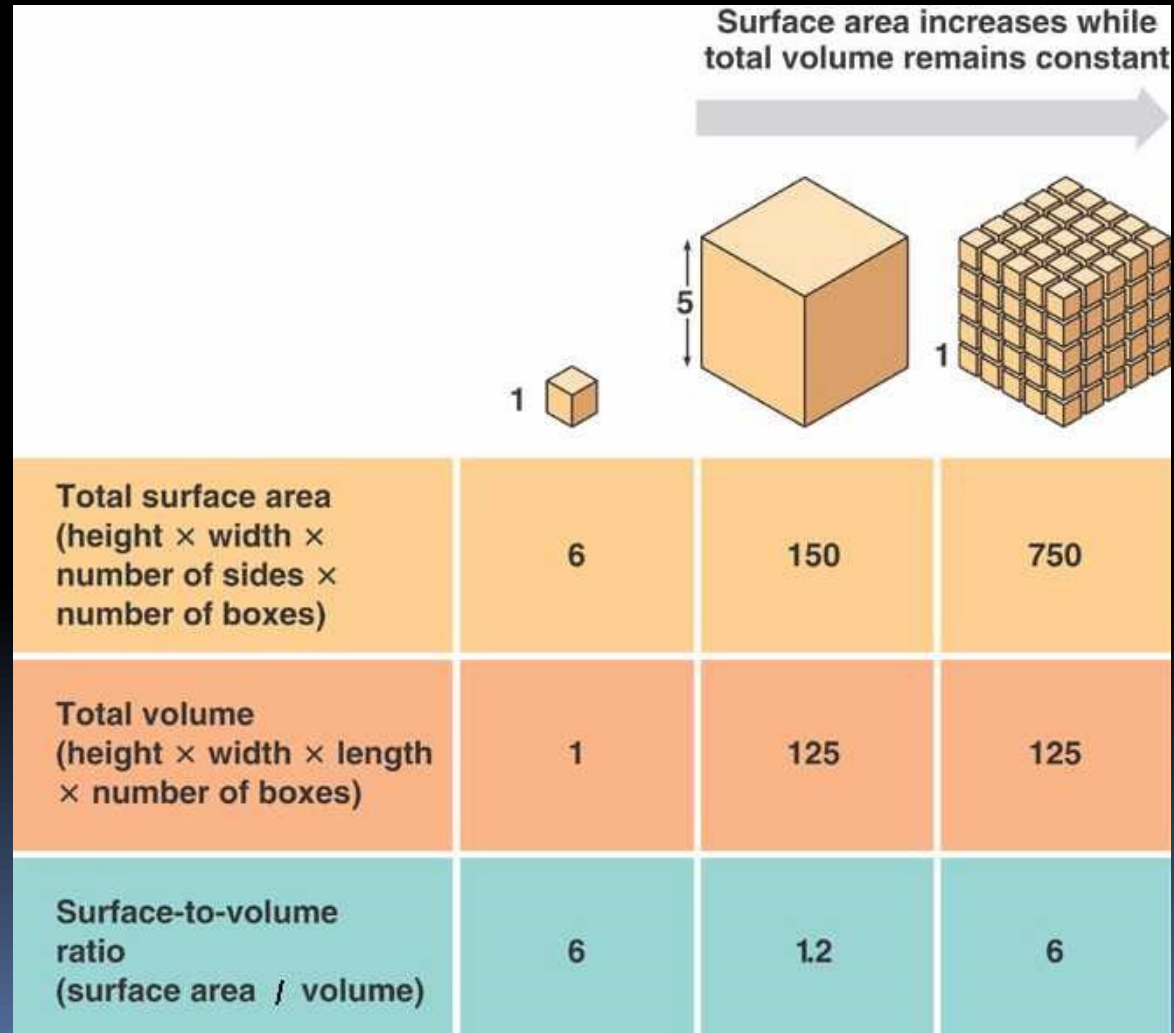
Pro fyziologickou taxonomii má větší význam, jestli živočich žije na souši anebo ve vodě, jestli voda je sladká nebo slaná nebo jestli je jeho tělo velké nebo malé nebo jestli jde o ekto- nebo endotermního tvora.

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



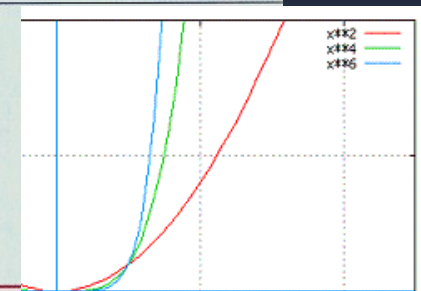
Velikost limituje:

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

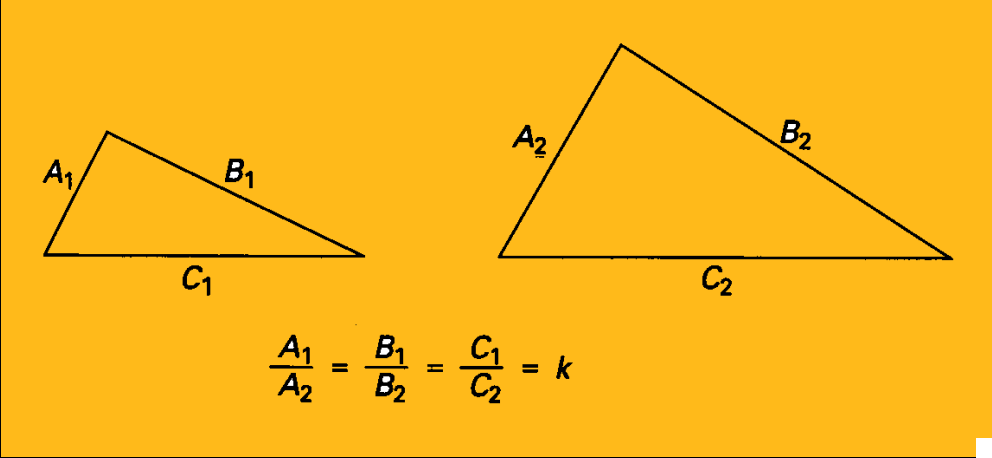
**TABLE 4.1** The time required for diffusion through water to halve a concentration difference

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

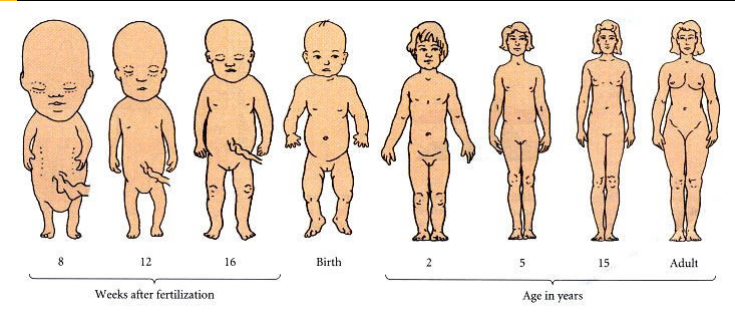
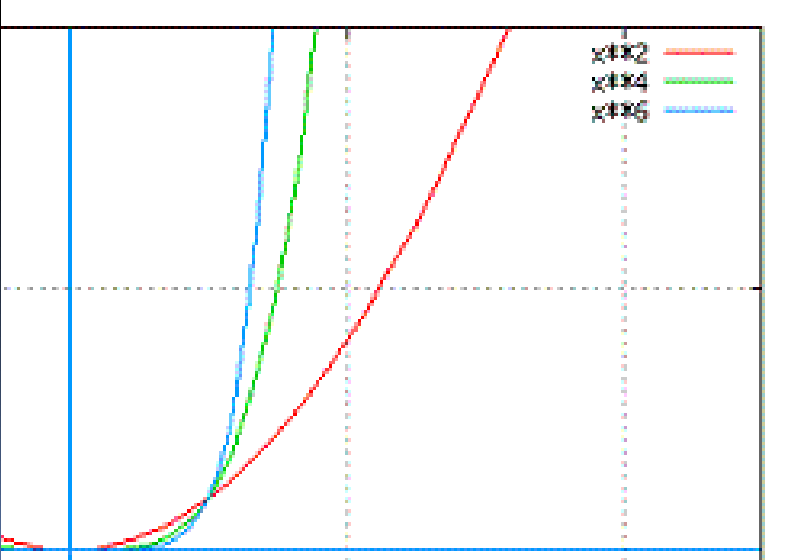


Tělesné proporce a nelineární – allometrické vztahy.  
Velký živočich nemůže být zvětšeninou malého.



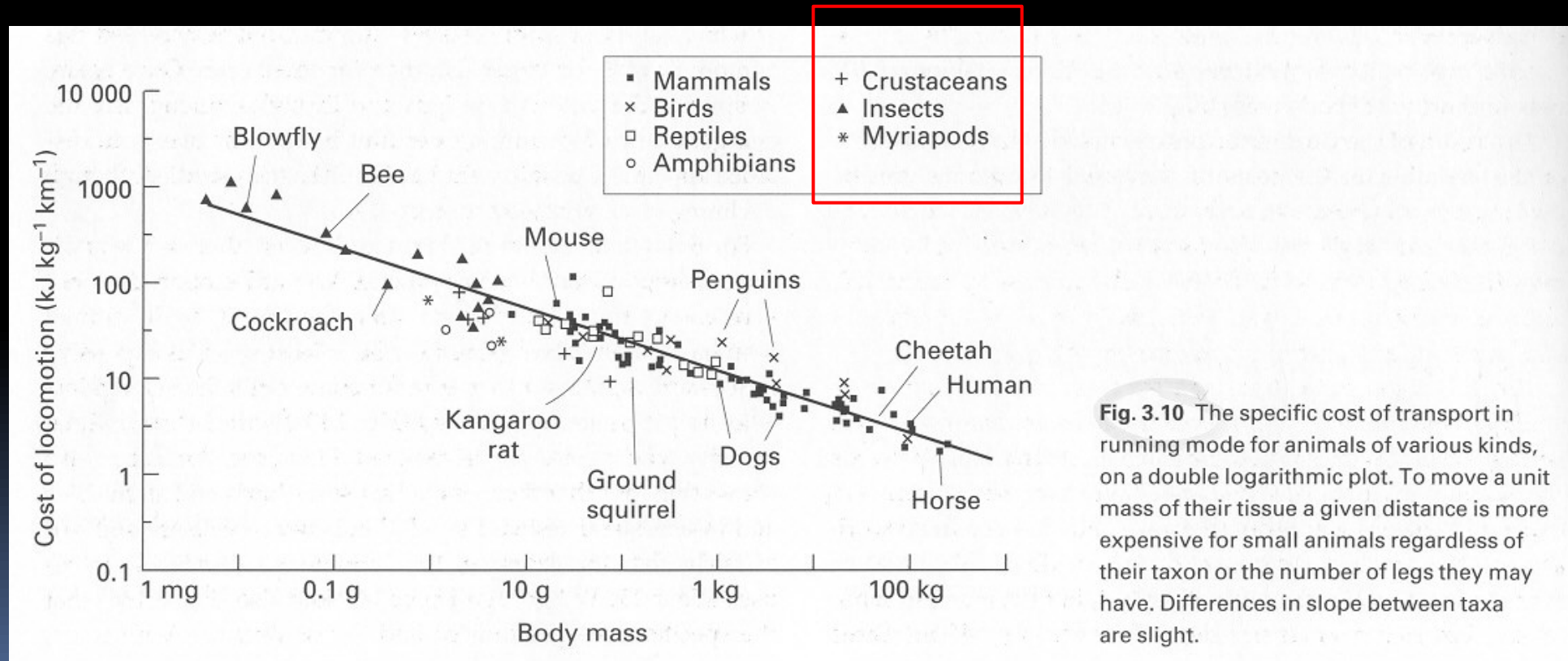
izometrické trojúhelníky,

Ale fyzikální (a biologické)  
vztahy jsou allometrické.



## Lokomoce - běh

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.

(a) Species of carnivorous mammals

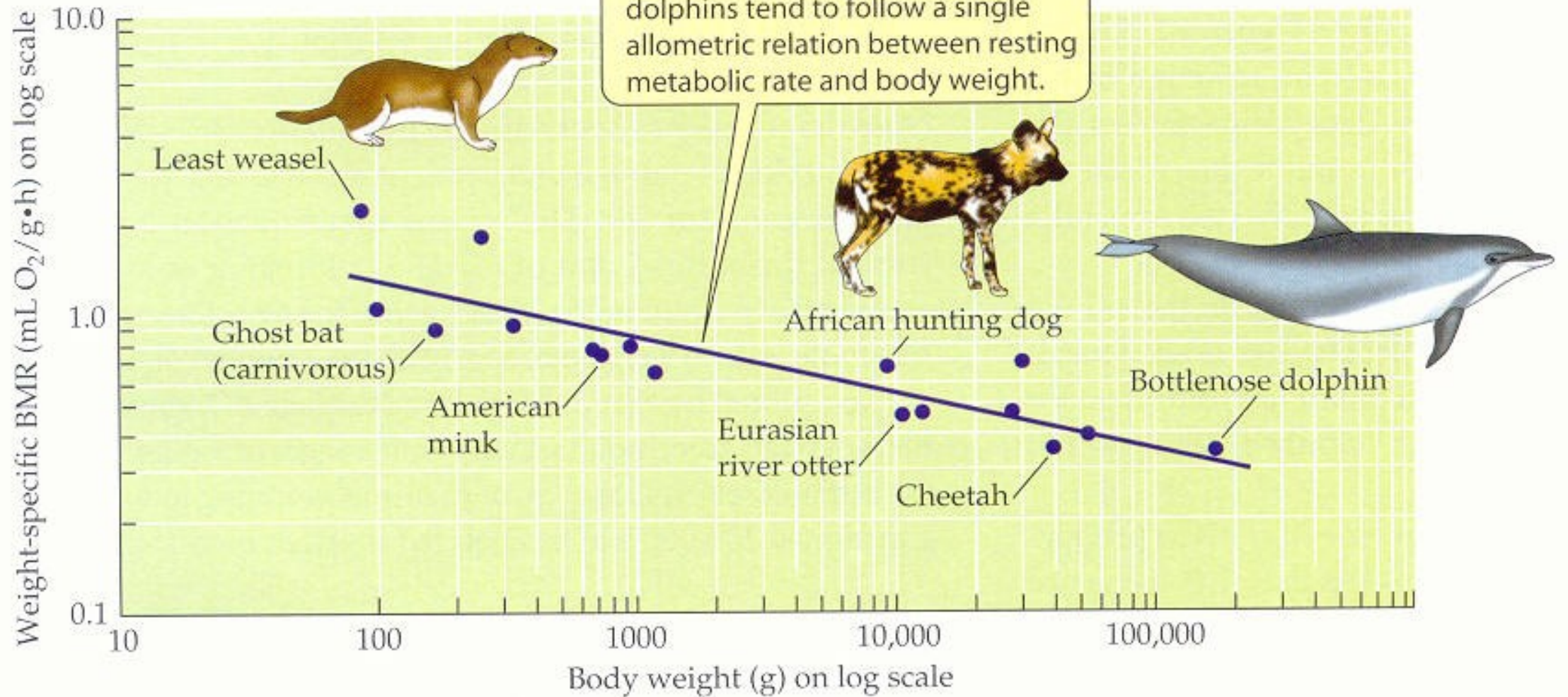
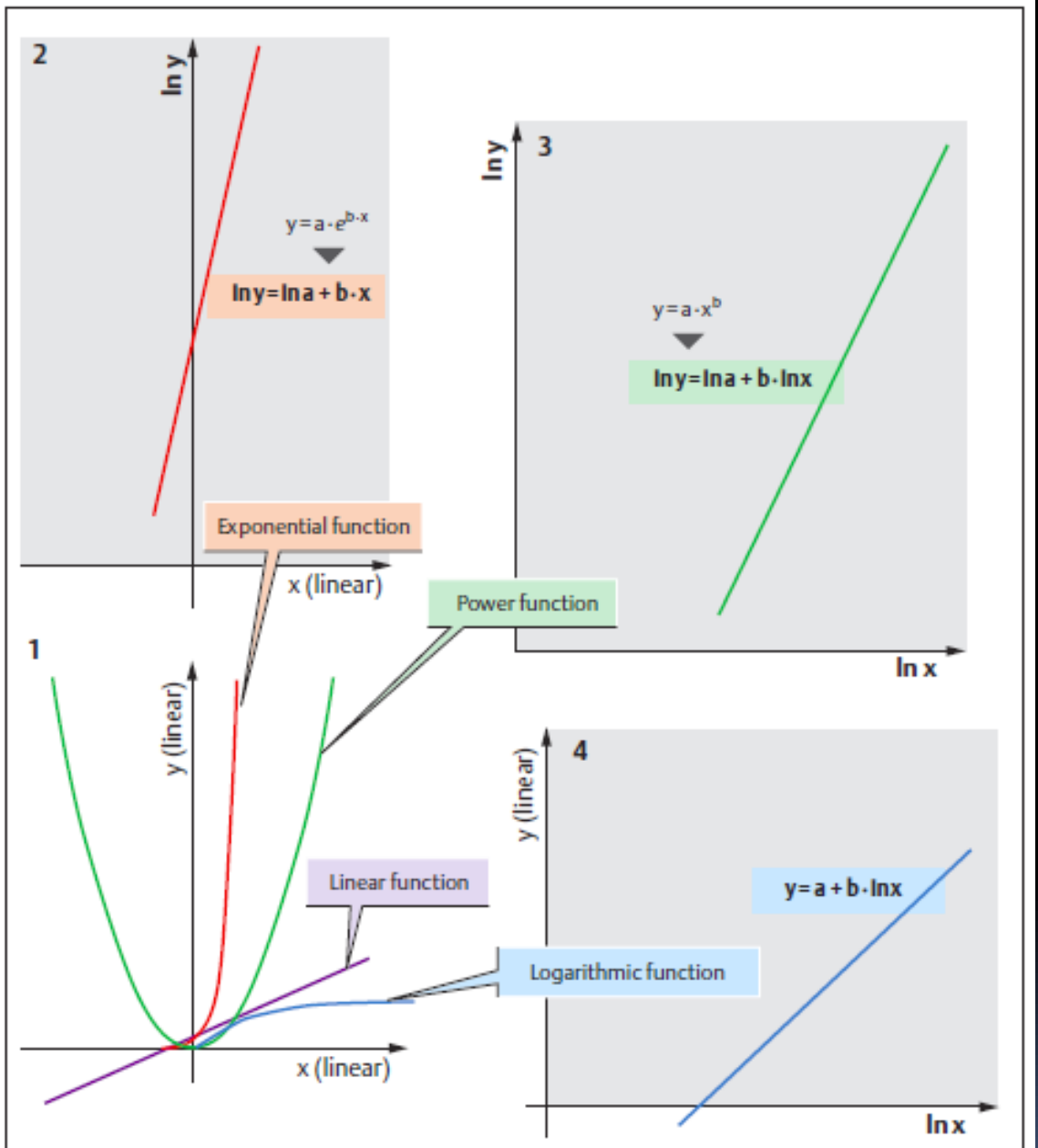


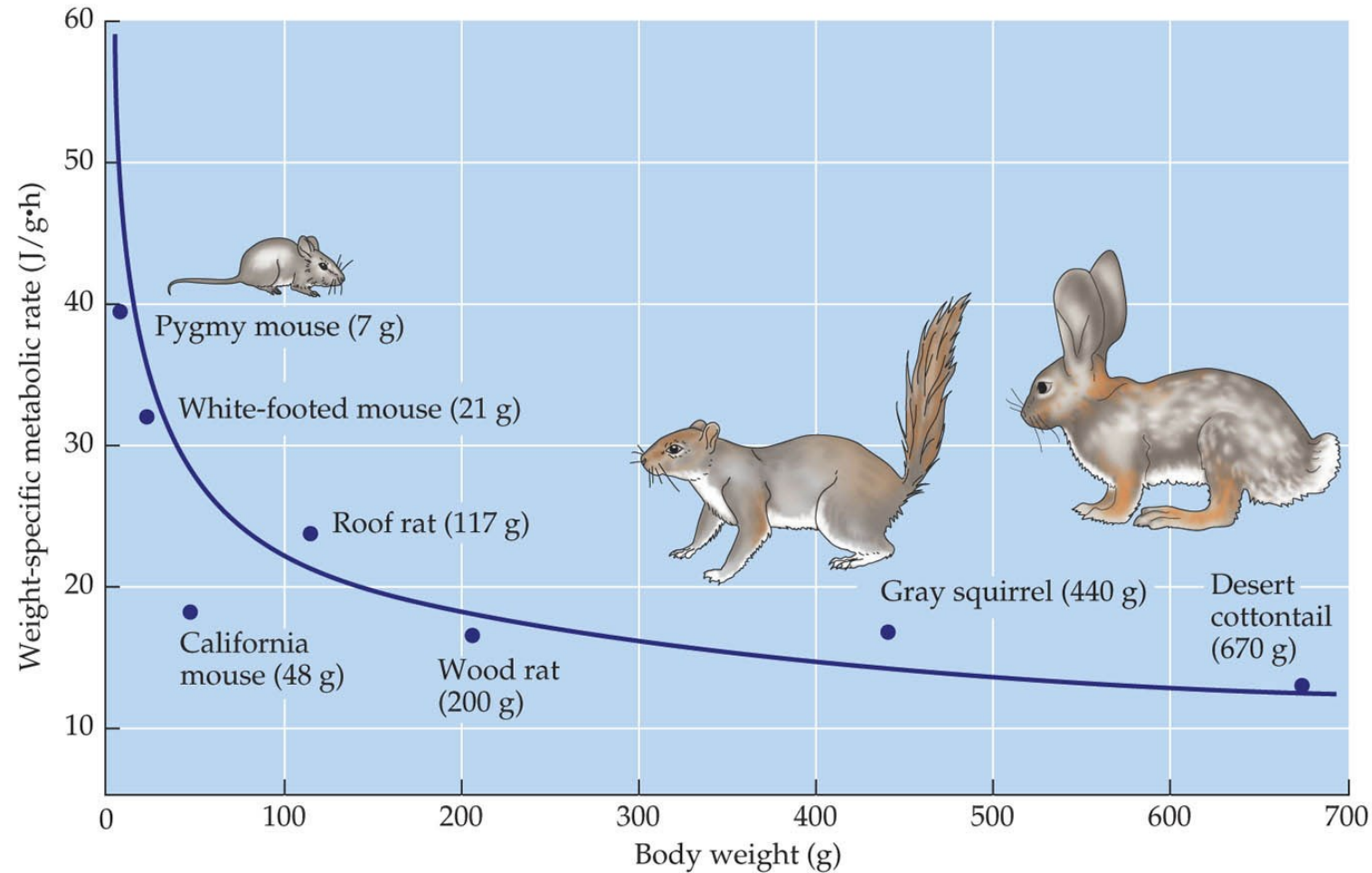
Figure 5.10 Metabolism

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



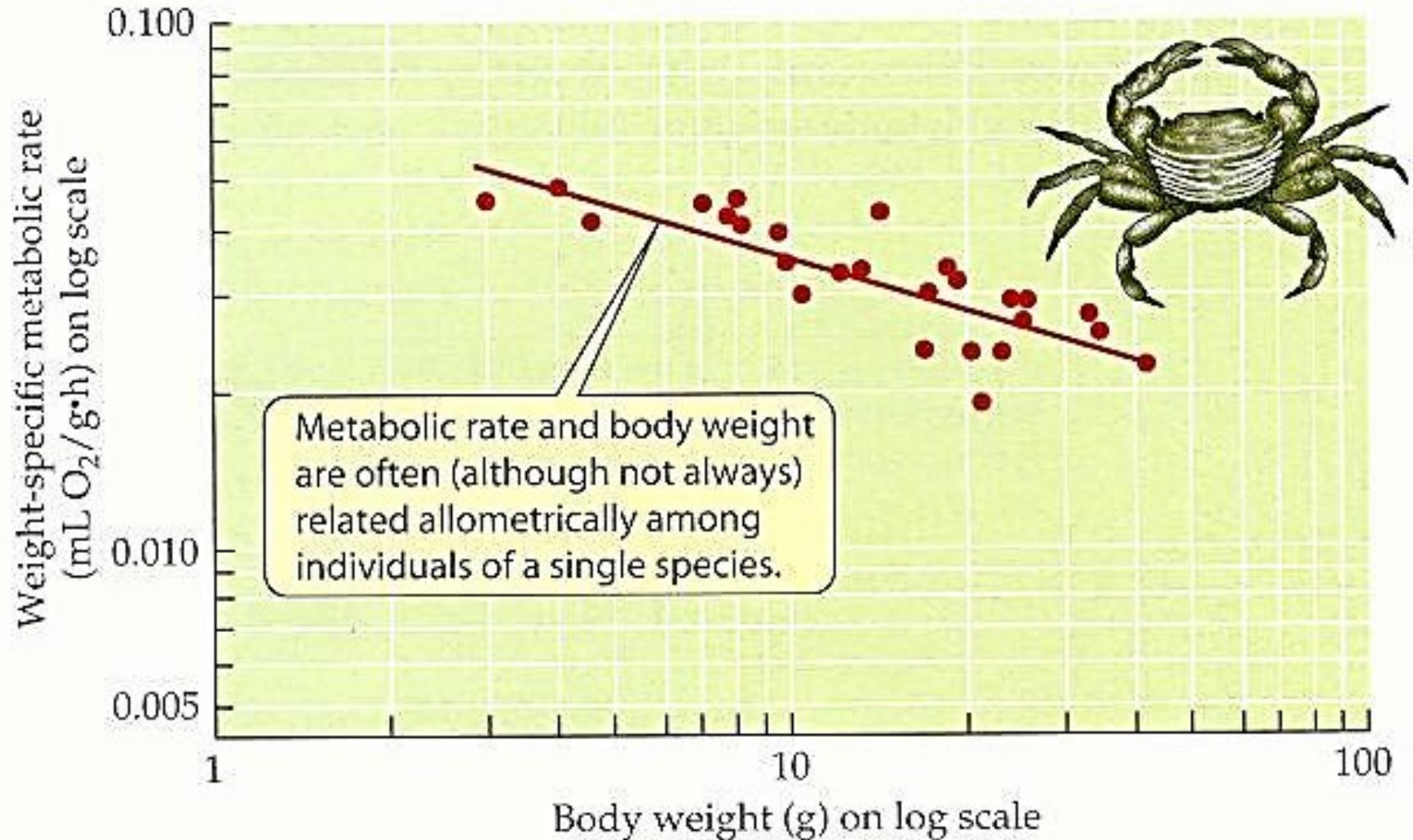
**D. Types of functions.** D1: Linear function (violet), exponential function (red), logarithmic function (blue), and power function (green) showing linear plotting of data on both axes. The three curves can be made into a straight line (linearized) by logarithmically plotting the data on the y-axis (D2: exponential function) or on the x-axis (D4: logarithmic function) or both (D3: power function).

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



Na 1 gram metabolismus s velikostí klesá.  
Větší jsou úspornější, a to i bezobratlí. (graf má log log osy)

(b) Individuals of a species of crab



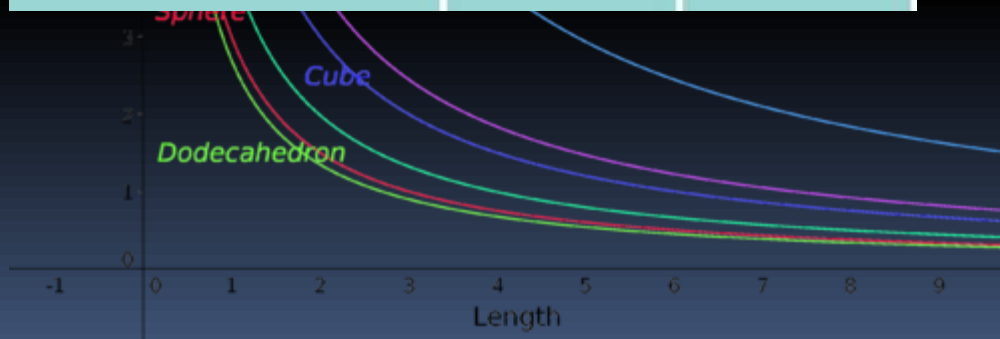
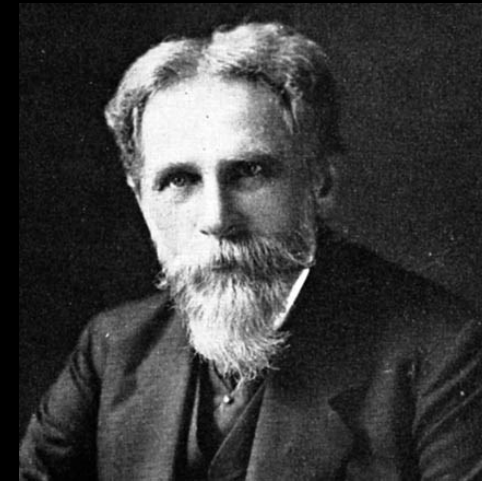
Proč ale?

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

Max Rubner  
1854-1932

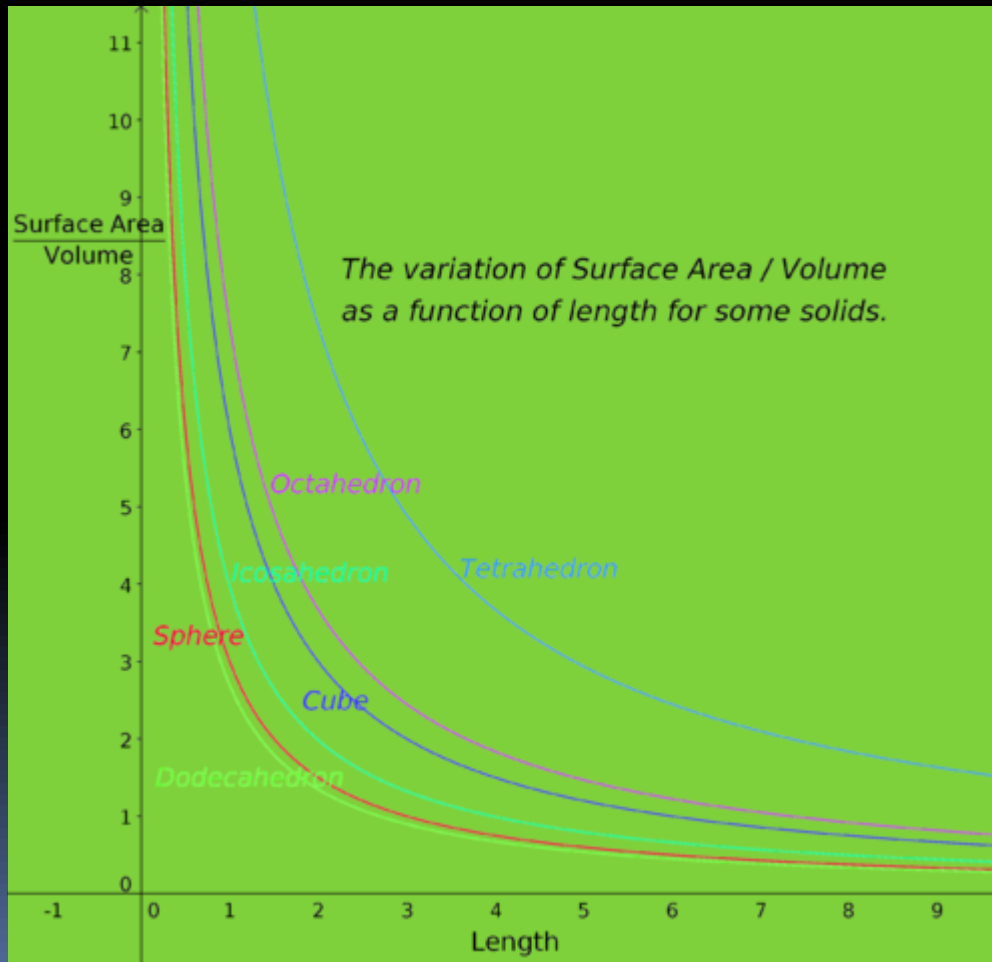


Rubner vztáhl i na metabolismus a interpretoval na homeotermech jako důsledek ztrát tepla povrchem. Malí ztrácejí více tepla a musejí více „topit“.

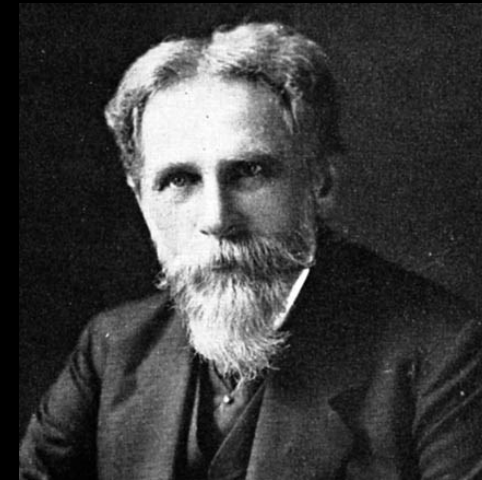
Proč ale?

Rubnerův povrchový zákon: povrch roste jen s  $2/3$  (0,67) mocninou hmotnosti (objemu).  $S=V^{(2/3)}$

T.j.  $S/V$  s velikostí zvířete klesá.

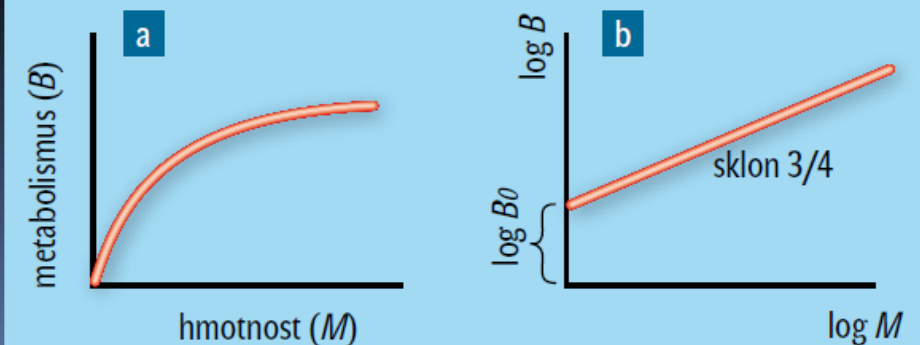


Max Rubner  
1854-1932



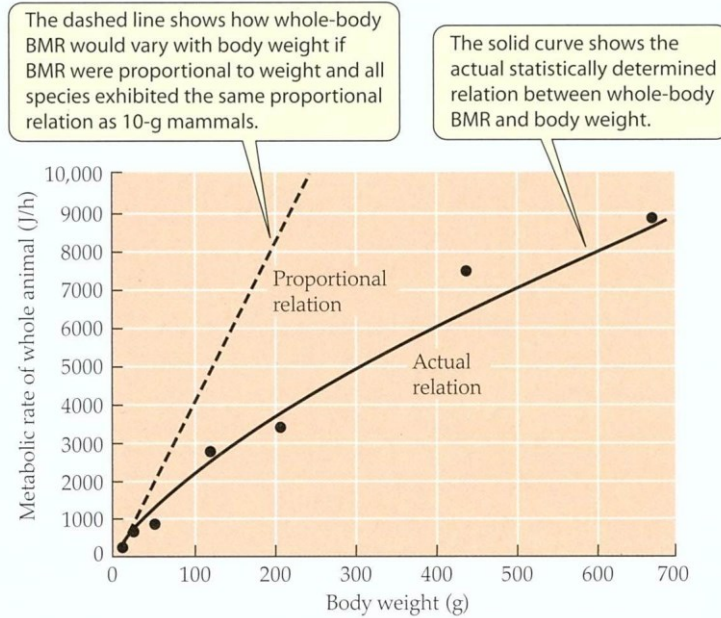
Rubner vztáhl i na metabolismus a interpretoval na homeotermech jako důsledek ztrát tepla povrchem. Malí ztrácejí více tepla a musejí více „topit“.

Vyneseme-li proti sobě hmotnost těla a intenzitu metabolismu (ta se měří třeba spotřebou kyslíku za jednotku času, ale lze ji udávat ve wattech, poněvadž jde vlastně o příkon), dostaneme křivku, jejíž růst se postupně zpomaluje (a). Učiníme-li to tak, že jsou obě osy logaritmické (b), získáme závislost, kterou lze velmi dobře proložit přímkou s určitým sklonem – jedna veličina škáluje s druhou. Vzhledem k tomu, že rovnice přímky je  $y = ax + b$ , kde  $a$  je onen sklon, můžeme rovnici vztahu intenzity metabolismu a hmotnosti vyjádřit jako  $\log B = a \cdot \log M + \log B_0$ , kde  $B$  je intenzita metabolismu,  $M$  je hmotnost a  $\log B_0$  je průsečík dané přímky se svislou osou. Po odlogaritmování dostaneme závislost  $B = B_0 \cdot M^a$ , jde tedy o mocninovou funkci, kde sklon přímky v logaritmickém měřítku  $a$  se stává exponentem; hovoříme o škálovacím koeficientu. Ten bývá typicky nižší než 1 (a velmi často blízký třem čtvrtinám) a v takovém případě roste v nelogaritmickém měřítku metabolismus s hmotností čím dál pomaleji, jak je vidět z obrázku A.

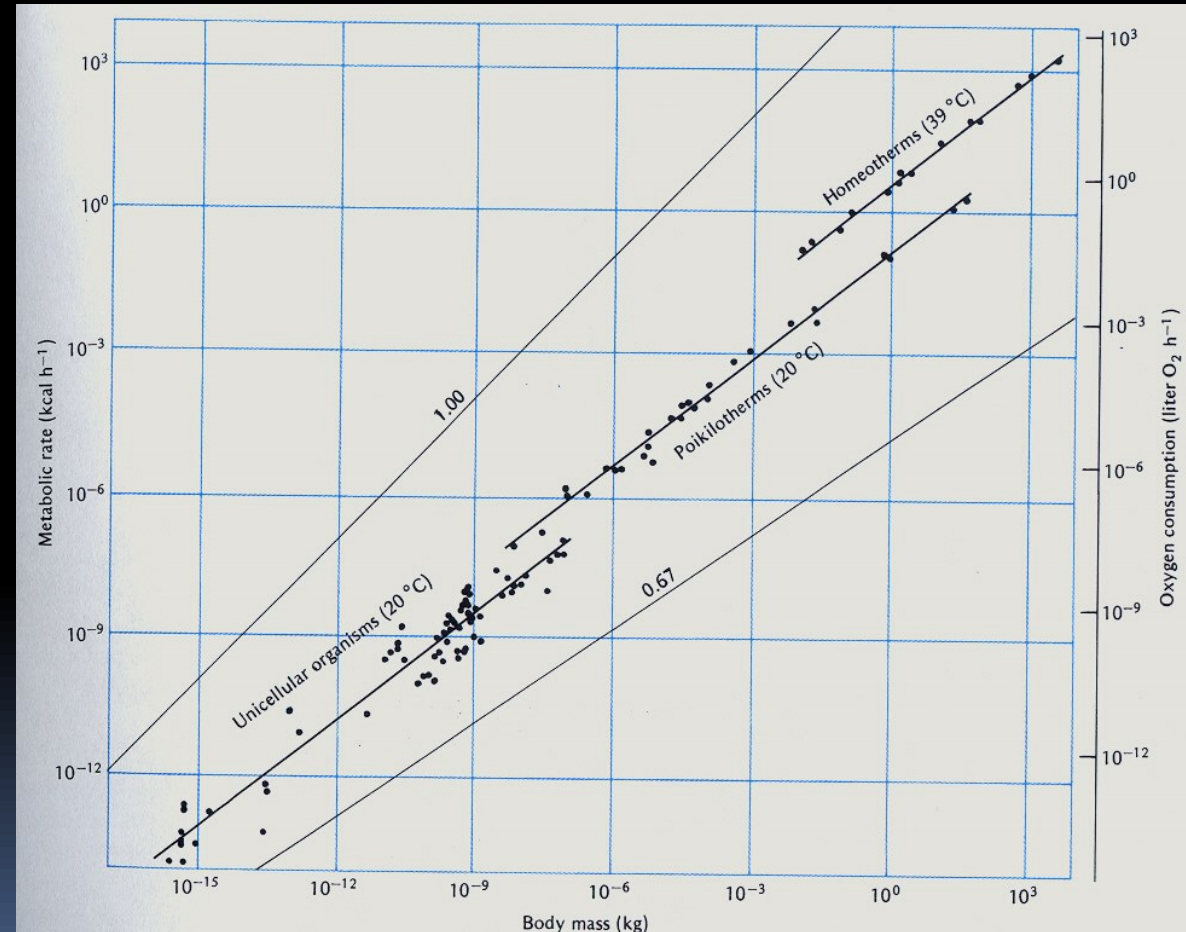


## David Storch, Je 3/4 koeficient univerzální? Vesmír

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.

~~$$MR = V^{2/3}$$~~

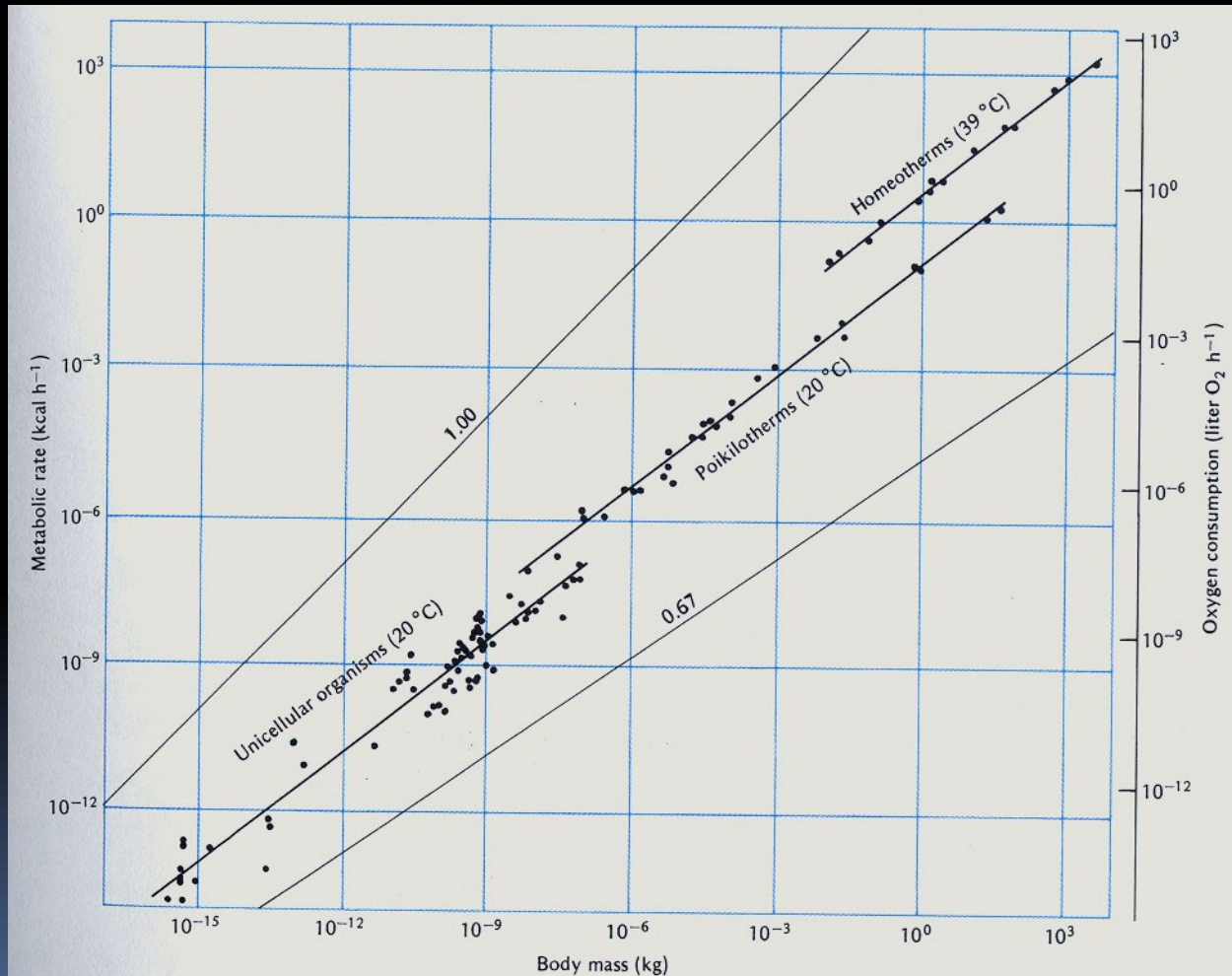
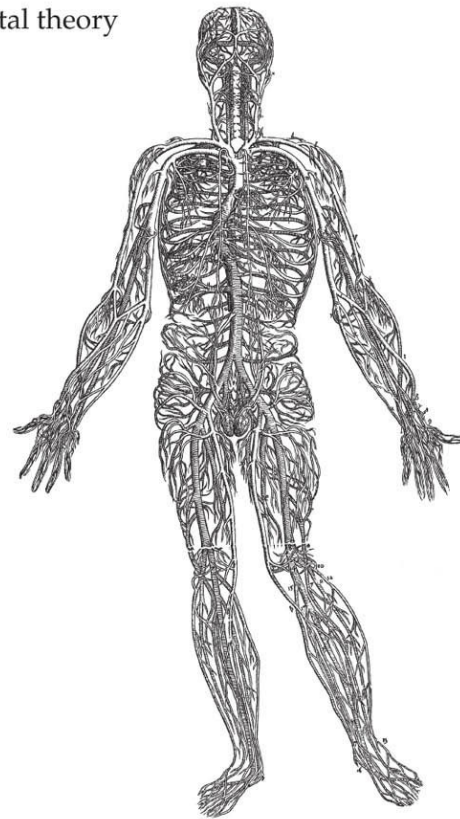


Figure 5.11 The rates of oxygen consumption for a wide variety of organisms when plotted against body mass (log coordinates) tend to fall along regression lines with a slope

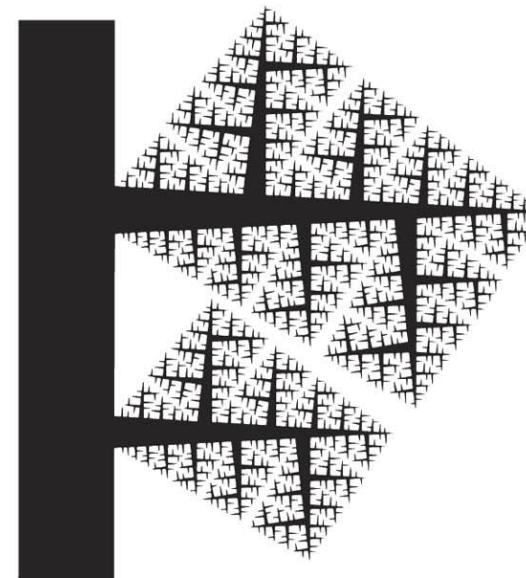
of 0.75. Note that each division on the coordinates signifies a 1000-fold change. [Hemmingsen 1960]

Hledání 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  $V$  a  $MR$ . Zatím je nedostatek empirických dat pro potvrzení této hypotézy.

(a) Fractal theory

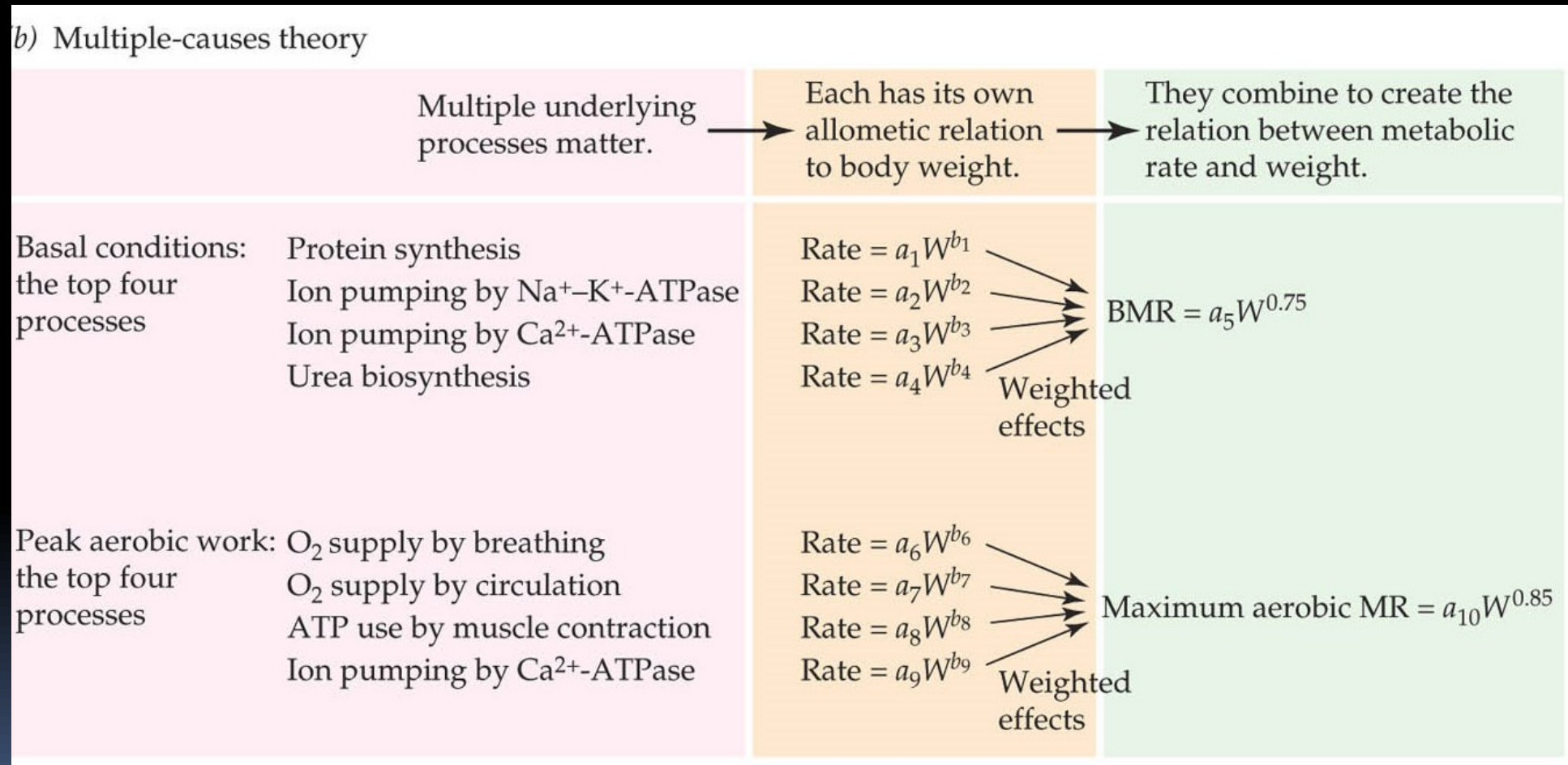


The circulatory system as drawn by Vesalius in 1543



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 – různě v klidu a zátěži.

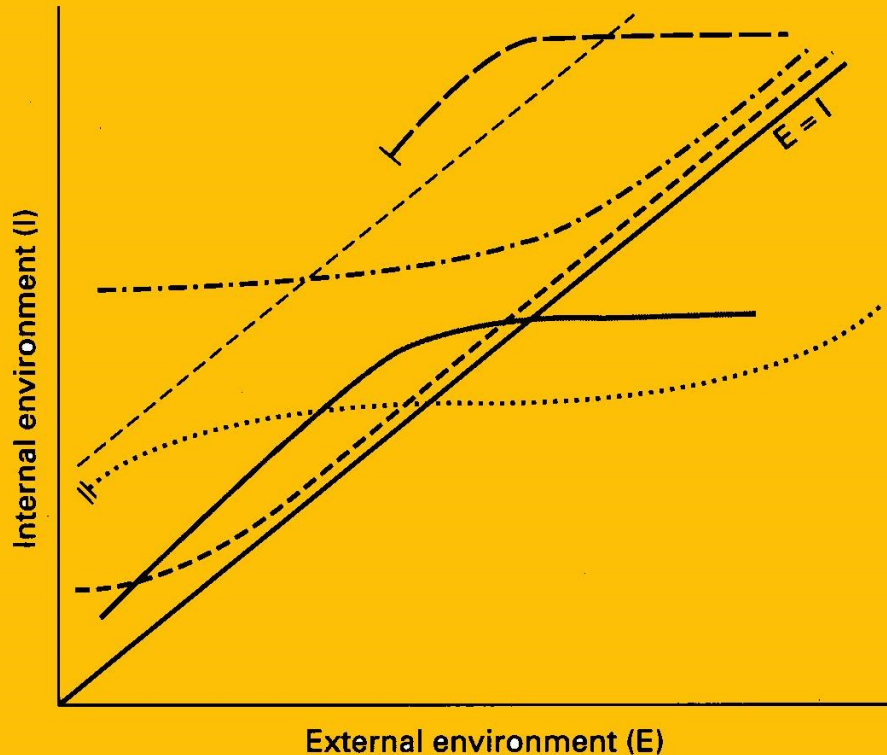


- Závěr: Každopadně se zdá, že u mnohobuněčných organismů nebyl  $\frac{3}{4}$  koeficient naměřen jen náhodou, ale jde o kanonickou hodnotu vyjadřující základní dimenzionální omezení jejich světa. Odchyly pak představují biologicky zajímavou informaci, specifickou pro jednotlivé taxonomické skupiny.

To, že větší jsou úspornější a menší rychleji metabolizují, tedy 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.

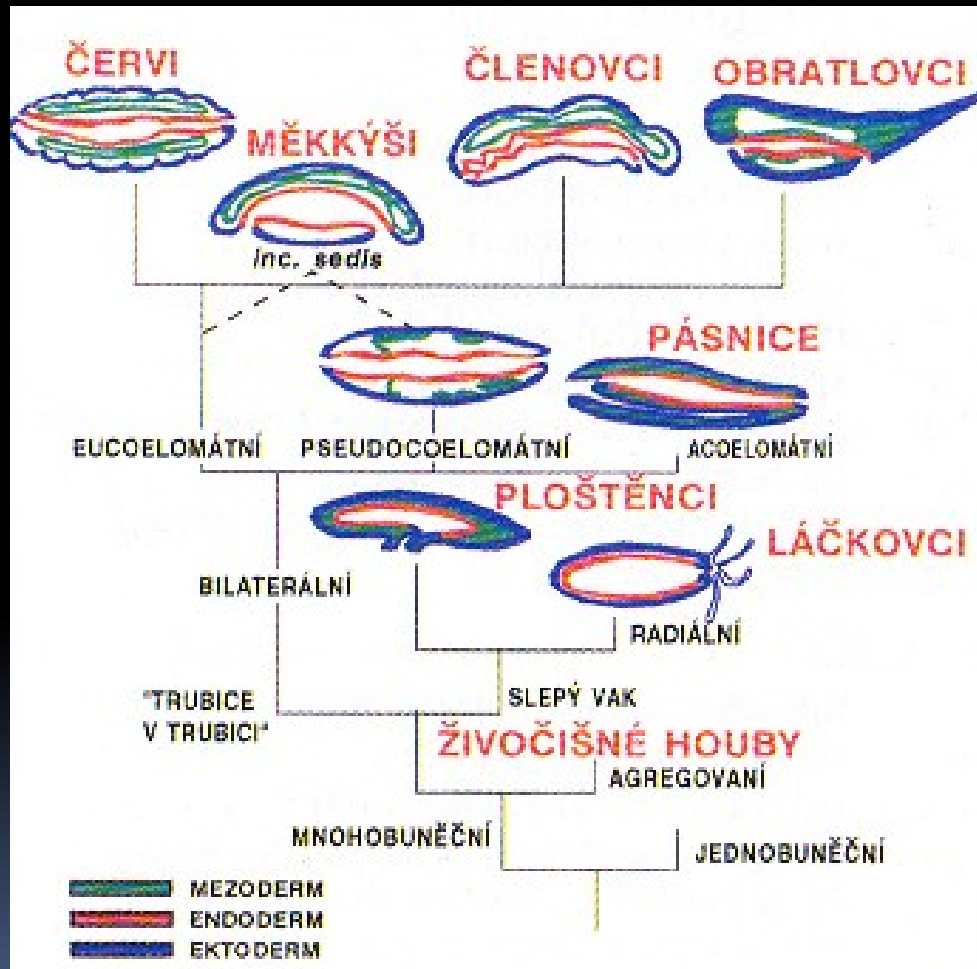
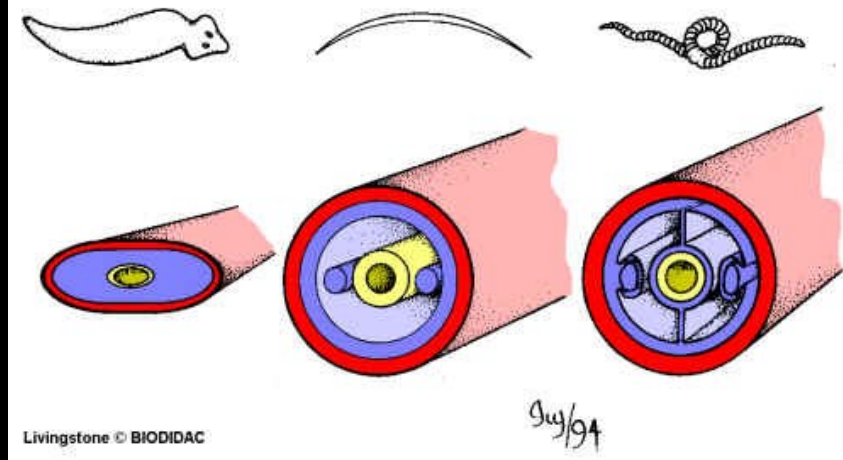
Aktivní bezobratlí (zejména hmyz) mají vysoký metabolický obrat.

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



## Progresivní znaky:

- Mnohobuněčnost
- Pravé tkáně
- Bilaterální symetrie
- Dva tělní otvory
- Třetí tělní vrstva – mezoderm
- 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.

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.



# Skelet

- 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



# Integument hmyzu

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.

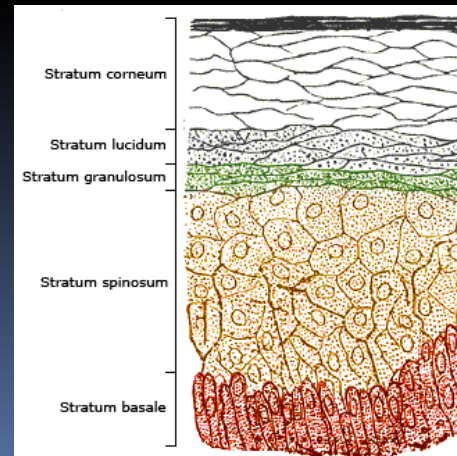
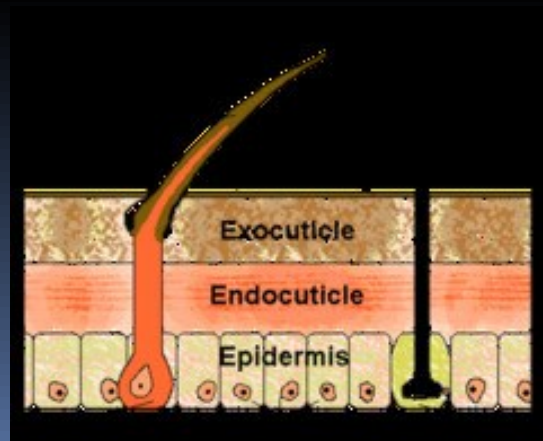
Povaha exoskeletu je proto zásadní pro vývoj látek, které mají být použity pro „boj s hmyzem“ – musejí penetrovat kutikulou.

# 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<sub>3</sub> apod.), například u korýšů.

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



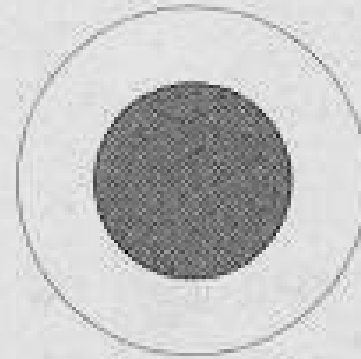
savec

# Většina bezobratlých využívá exoskelet.

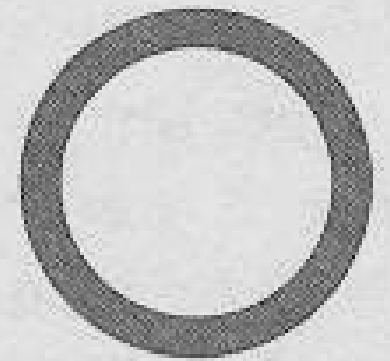
Výhody exoskeletu –  
3x pevnější při stejné  
ploše - šetří hmotnost

Analogie trámů a nosníků vs lešení u  
staveb.

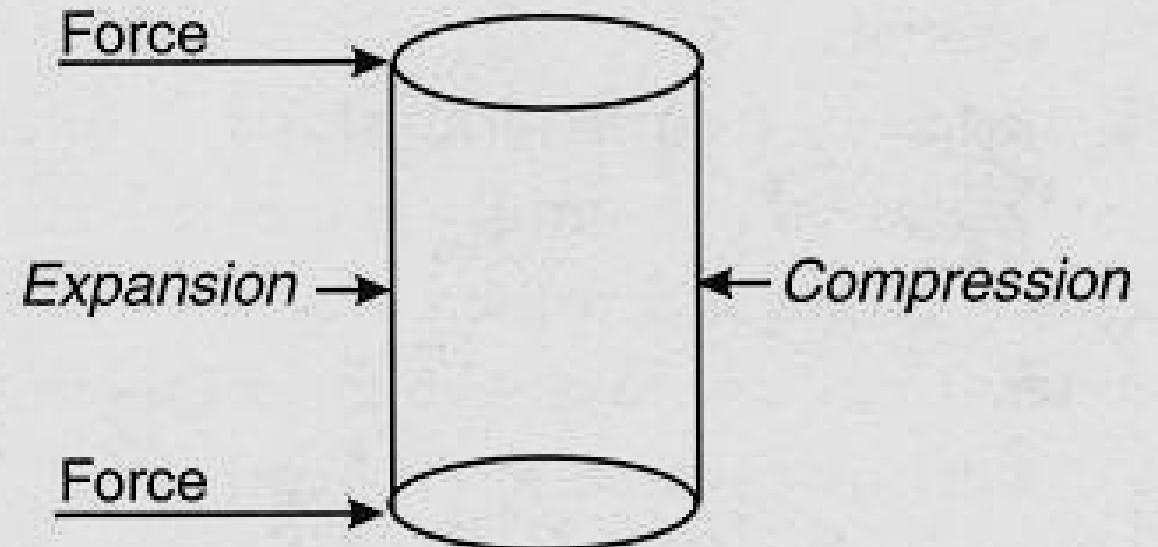
Svaly jsou uvnitř – limit omezeného  
prostoru.



Endoskeletal  
appendage



Exoskeletal  
appendage



## 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.

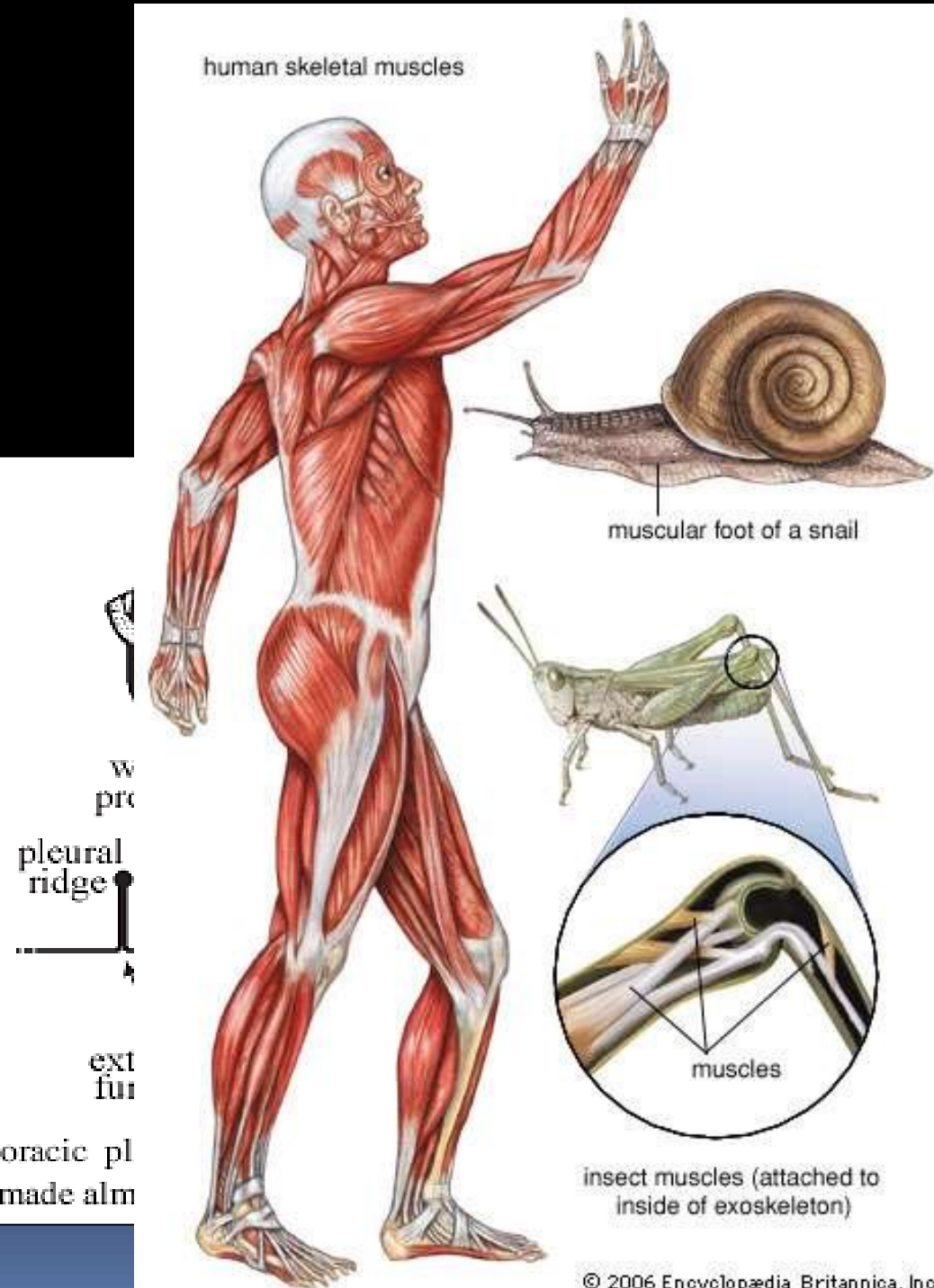


Fig. 6. Thoracic pl process is made alm

## 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.

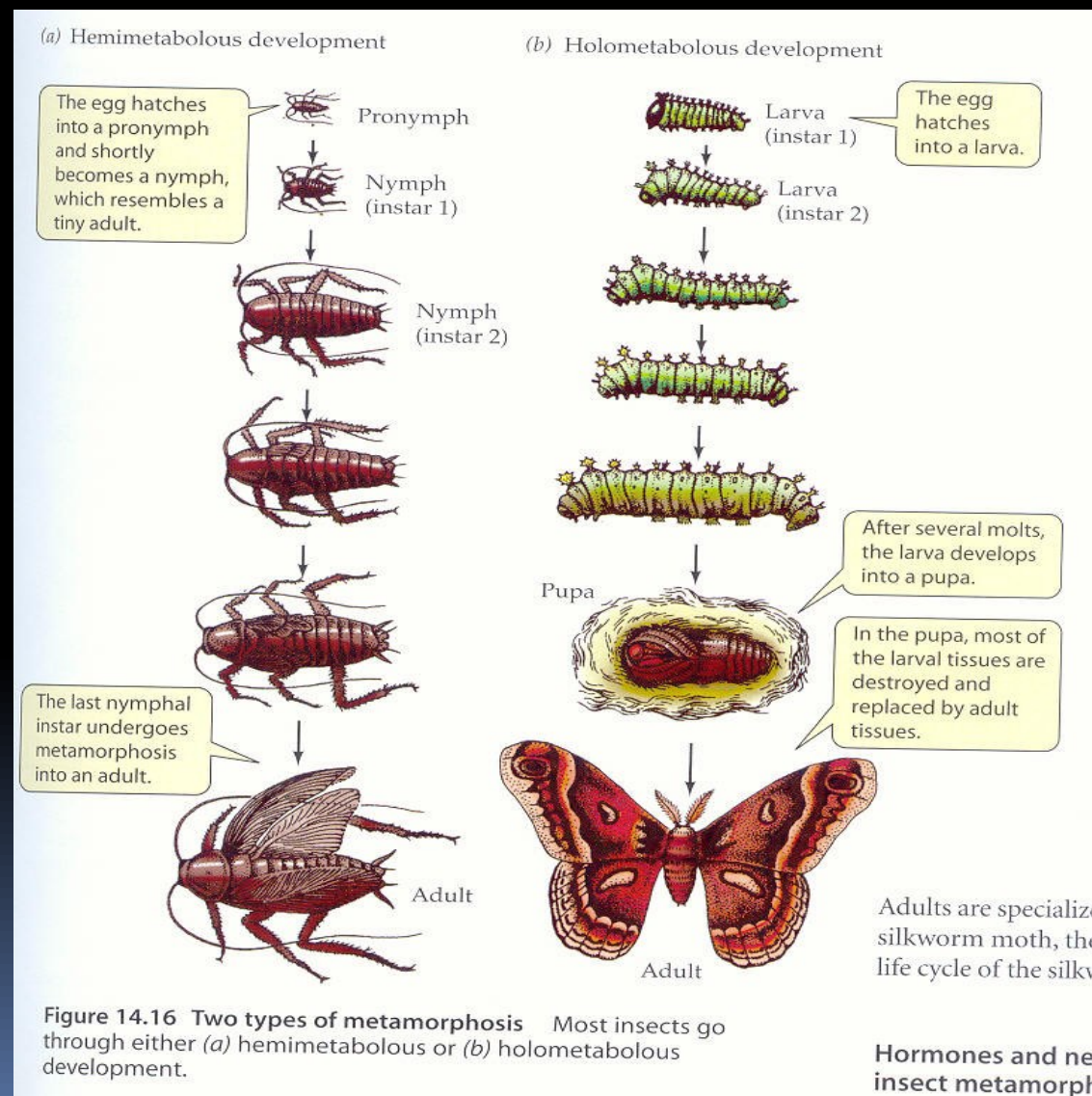
Aby zredukoval toto choulostivé období během svlékacího cyklu, pokročilejší skupiny hmyzu mají redukováný počet svlékání.



# 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.

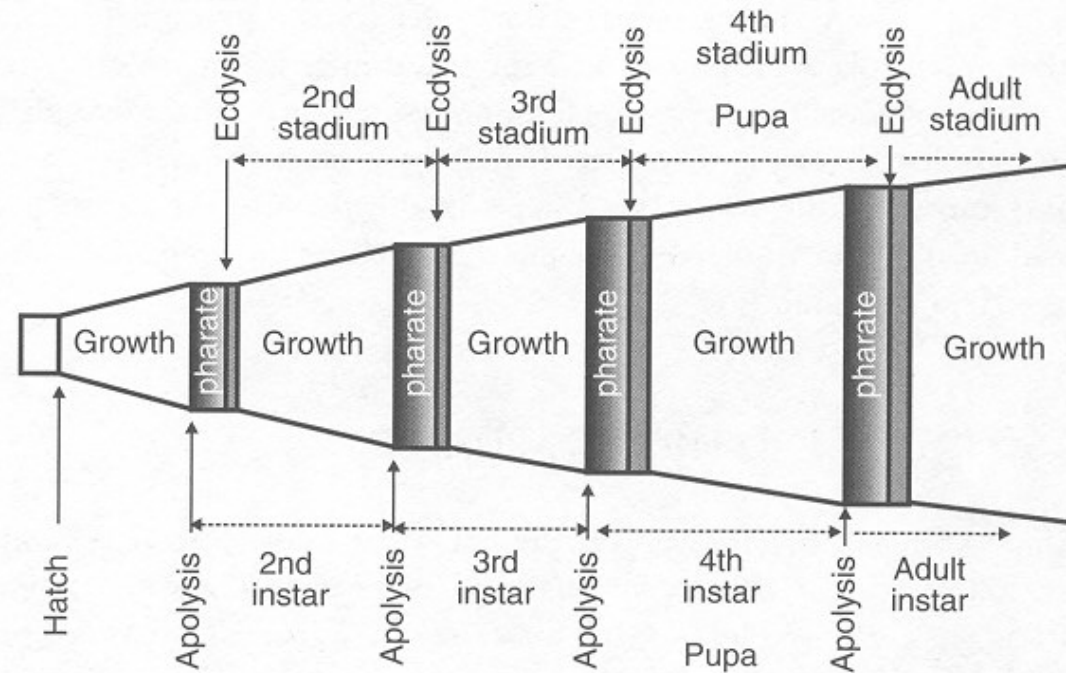
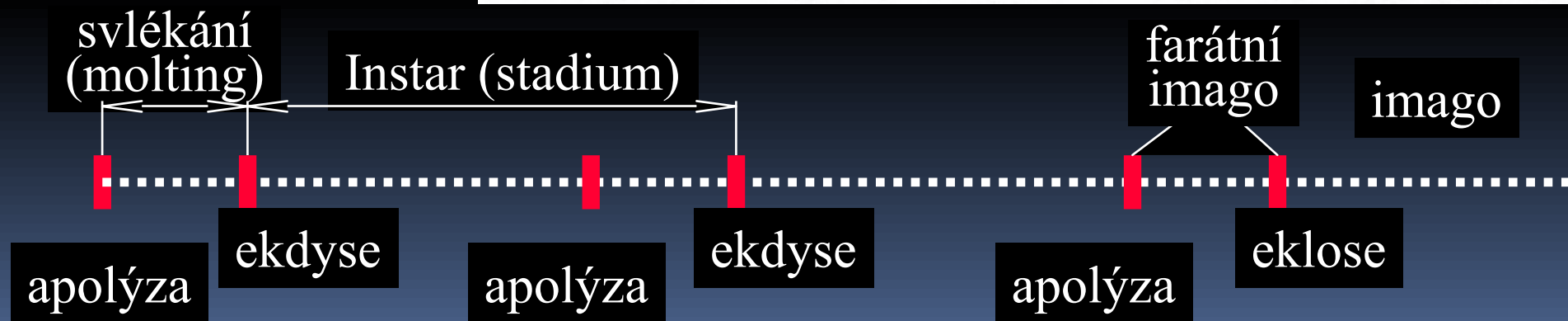
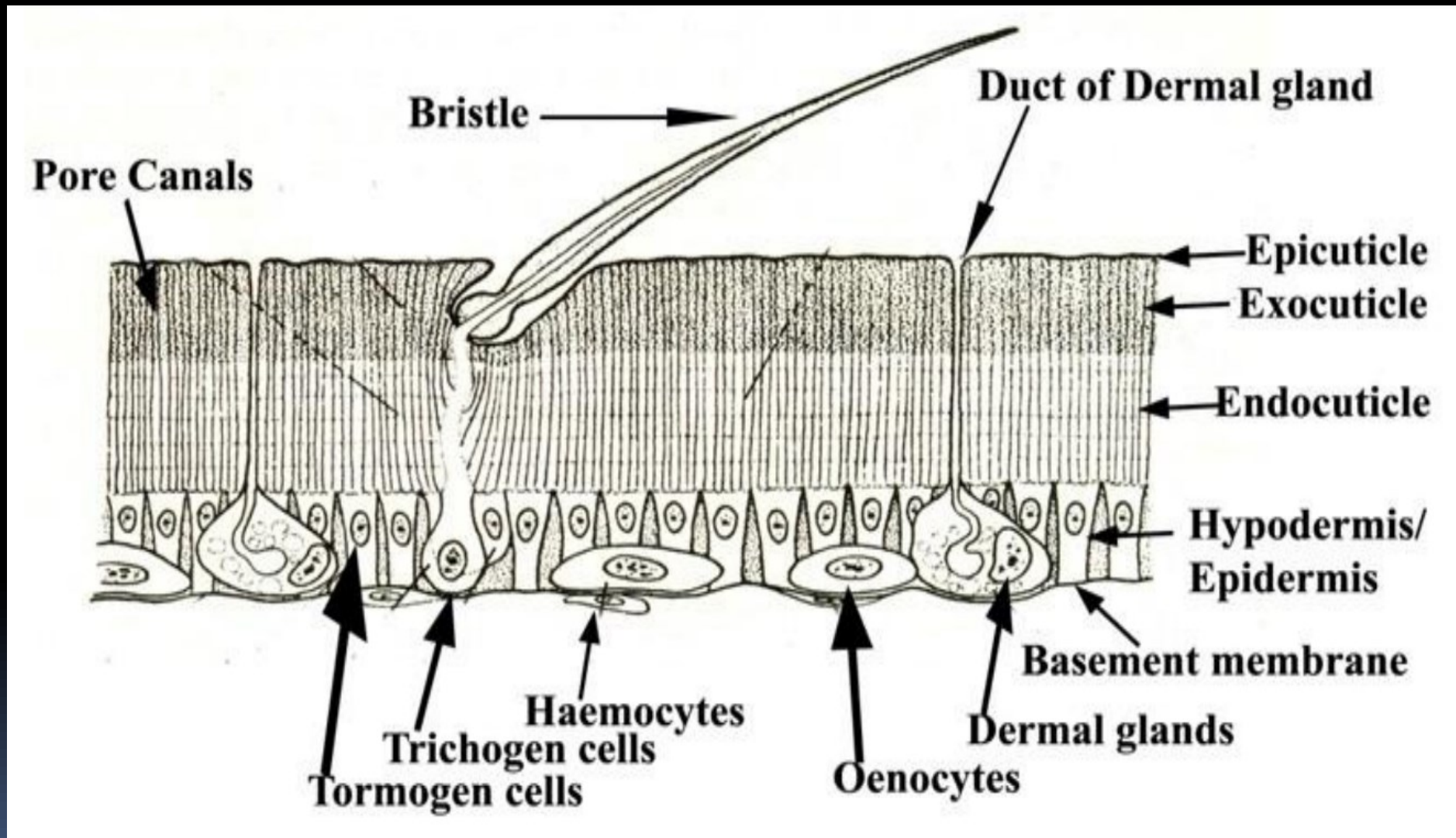


FIGURE 2.4 The molting period is punctuated by two events, apolysis and ecdysis, that define insect development. Apolysis, the separation of the epidermal cells from the cuticle, marks the beginning of the molt and the next instar. The insect is in a pharate stage until ecdysis occurs, the casting off 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.



# Vrstvy kutikuly



**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

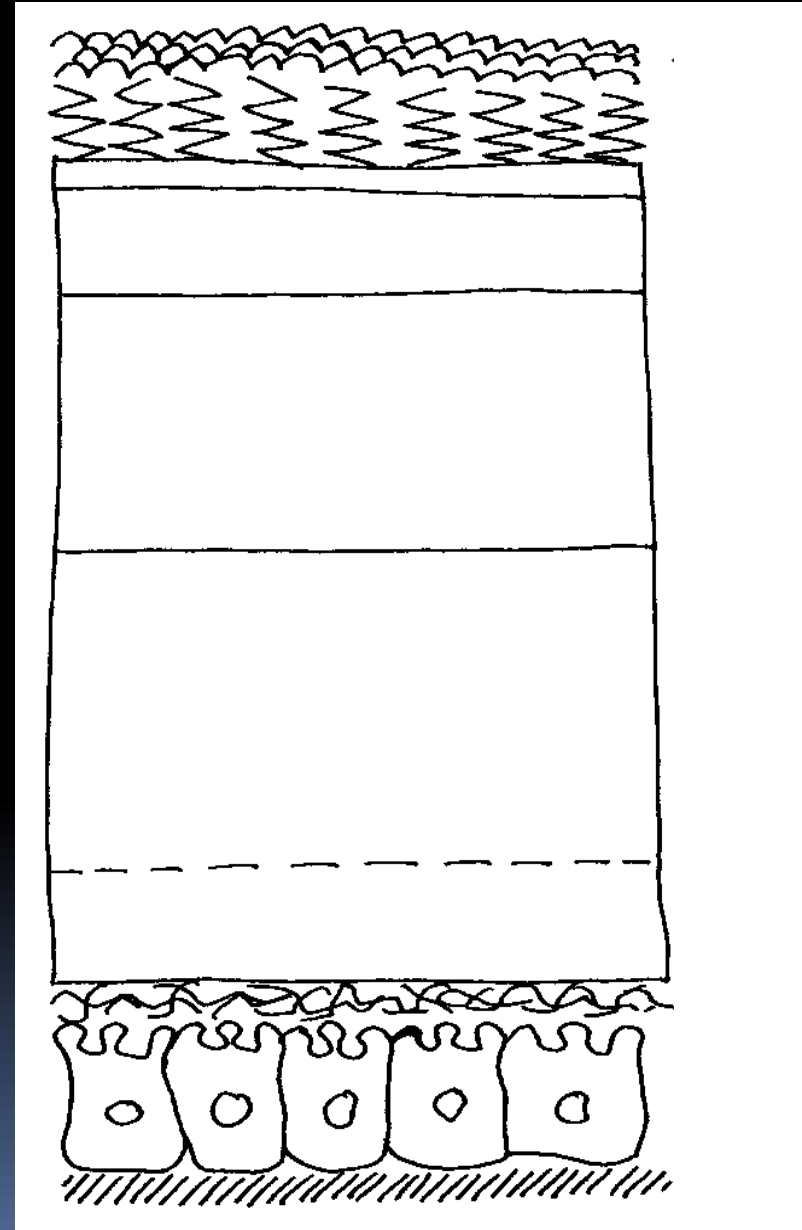
endokutikula preekdys

endokutikula postekdys

ekdysiální membrána

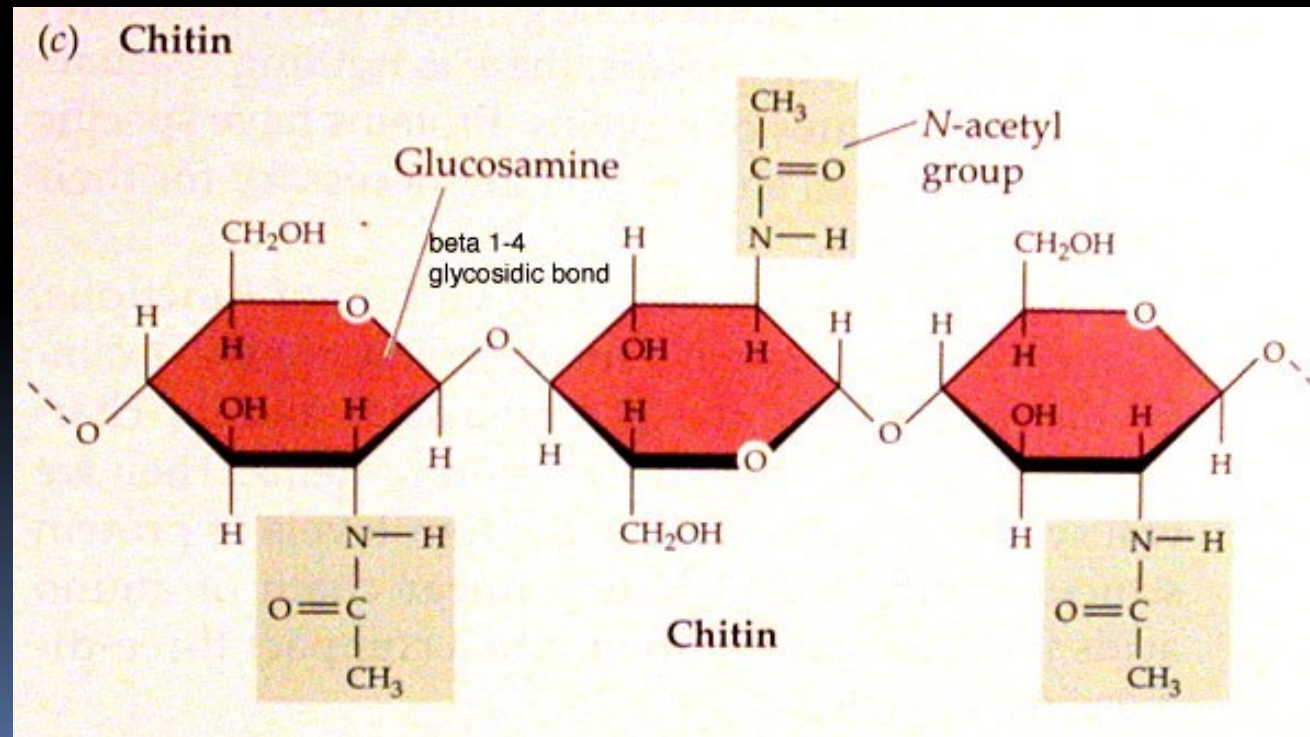
epidermis

Bazální membrána



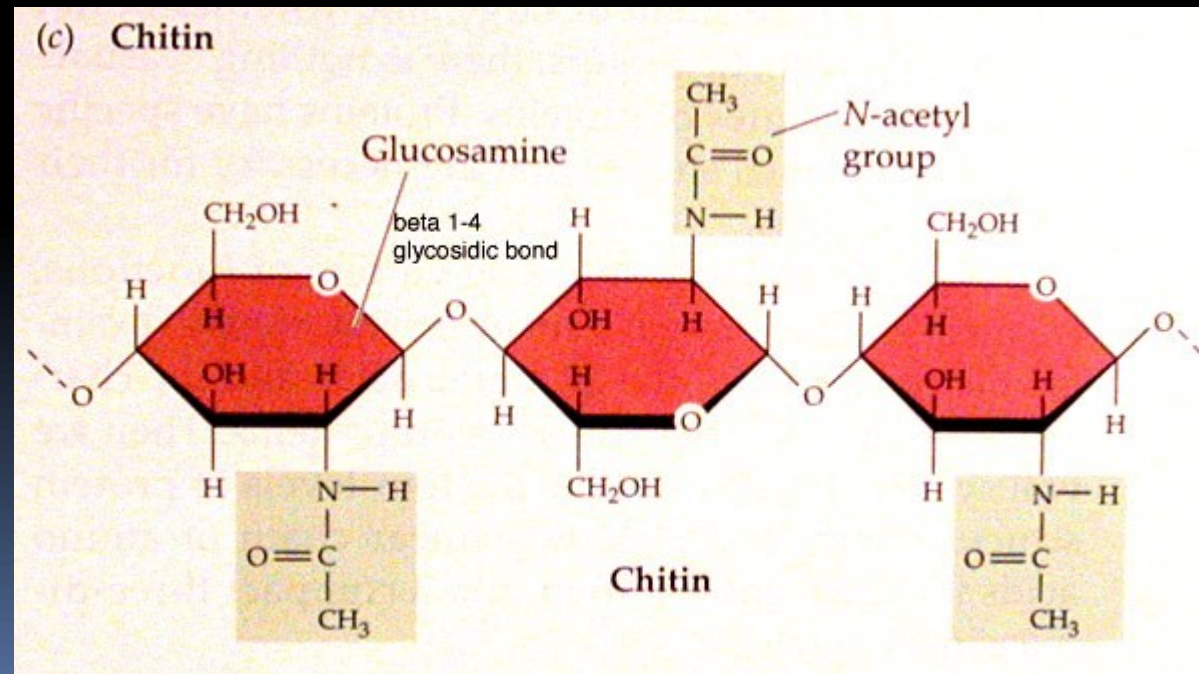
První bezobratlí živočichové, kteří se dostali z vodního prostředí na souš, se před vyschnutím bránili trvale vlhkou vrstvou slizu. Chemicky je sliz glykoprotein, sloučenina bílkoviny a cukru.

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.

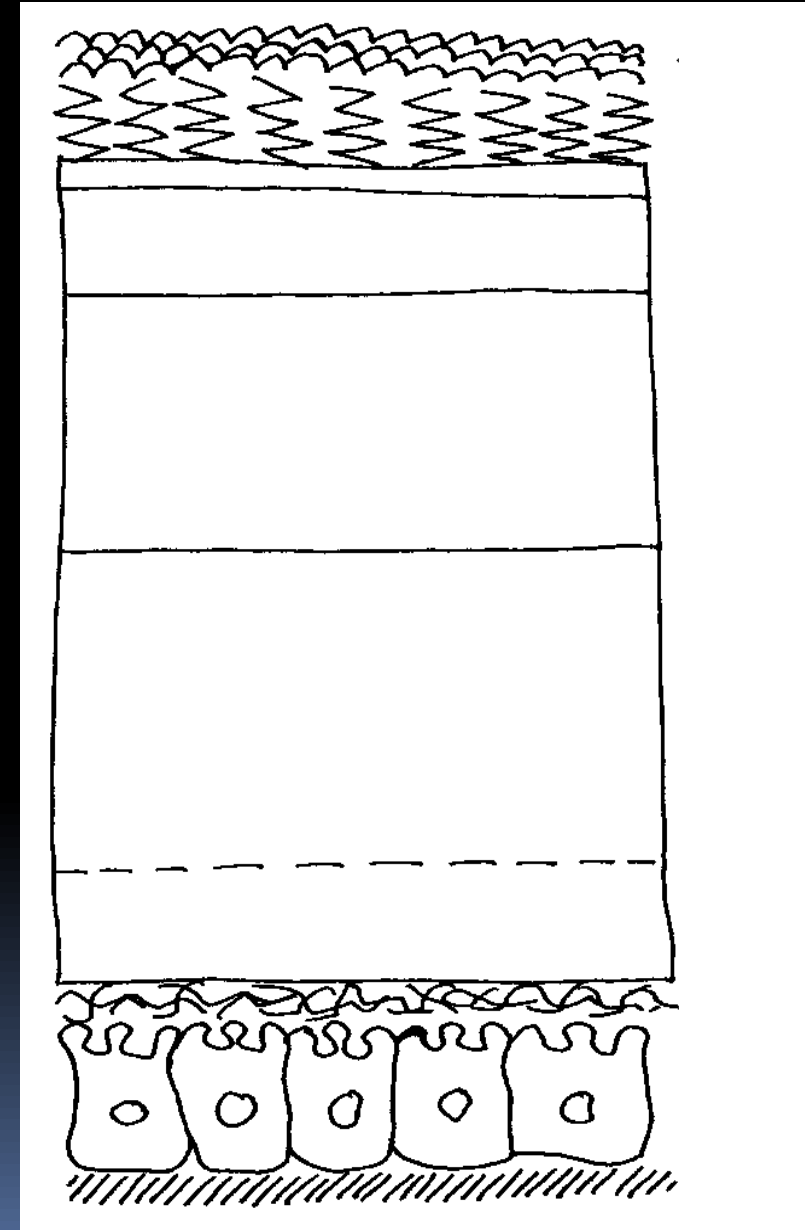


Takový by však sotva vykonal hmyzu platné služby jako materiál vhodný na povrch těla. Jeho vlastnosti by se totiž podobaly savému papíru. Bylo třeba jej něčím ztužit.

K tomu posloužila druhá složka slizu - bílkovina. 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



Podíl chitinu roste

# Tvorba a odvrhování kutikuly

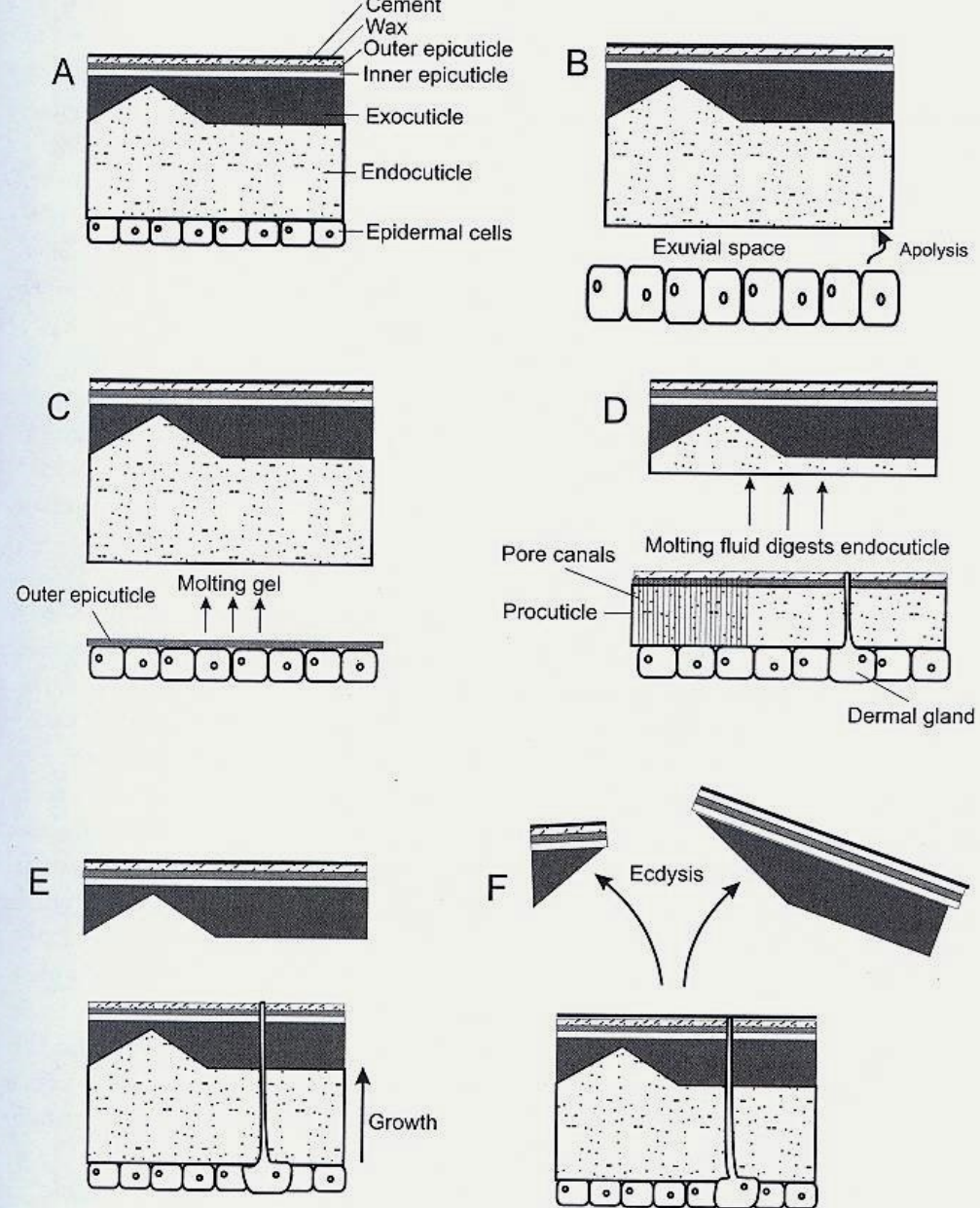
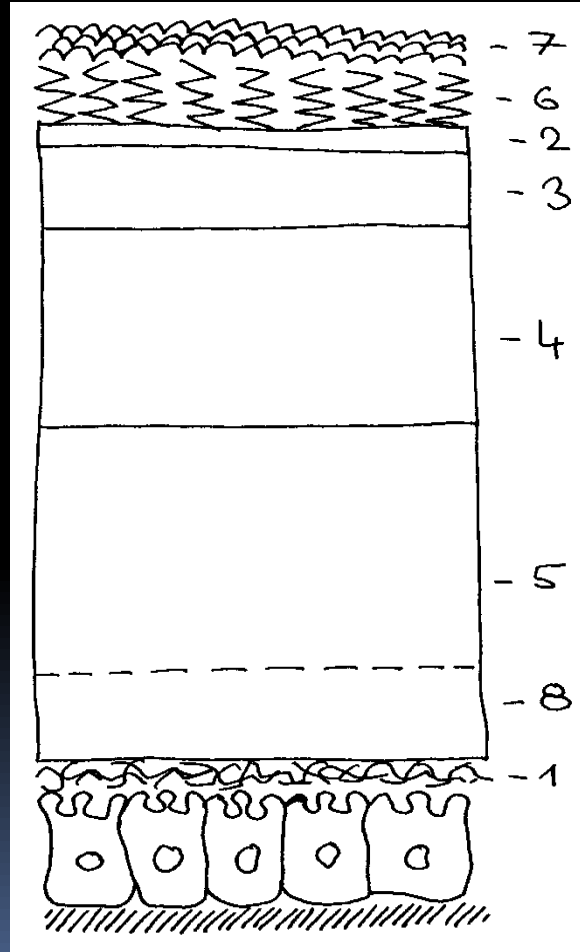


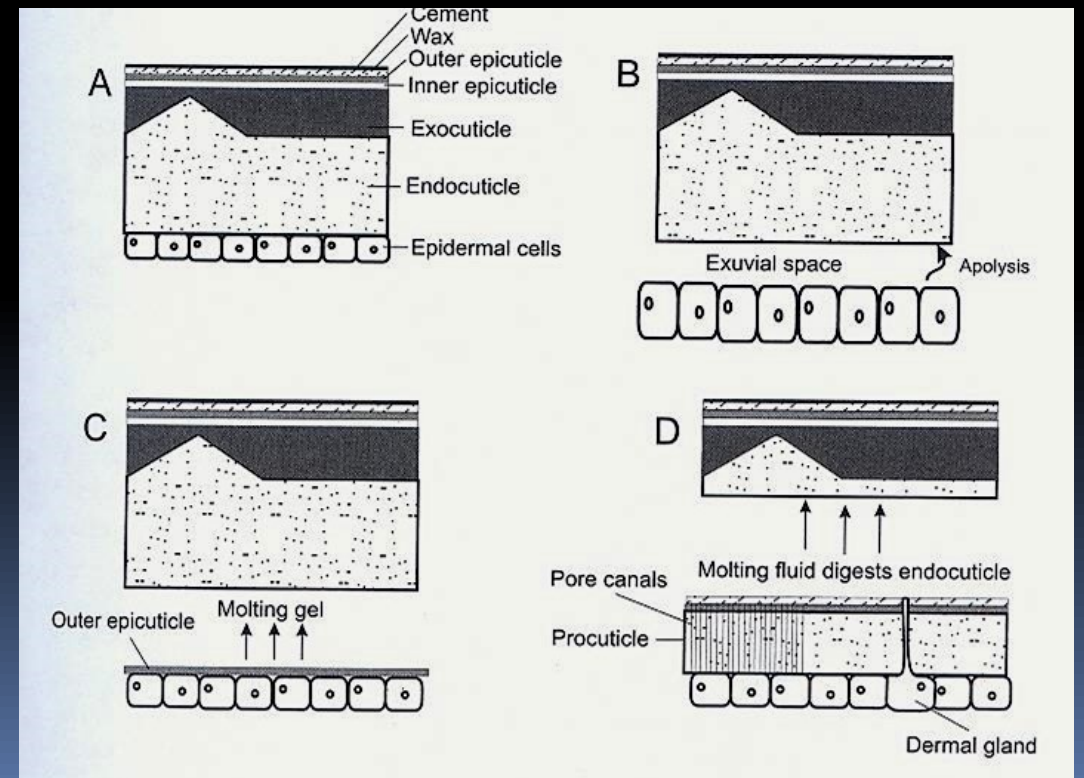
FIGURE 2.18 Steps in the molting process. (A) The integument before the molt. (B) Apolysis, separating the cuticle from the epidermis and creating an exuvial space. (C) Secretion of the molting inactive molting gel into the exuvial space. (D) The digestion of the old endocuticle and the secretion of 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. svlékácí 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

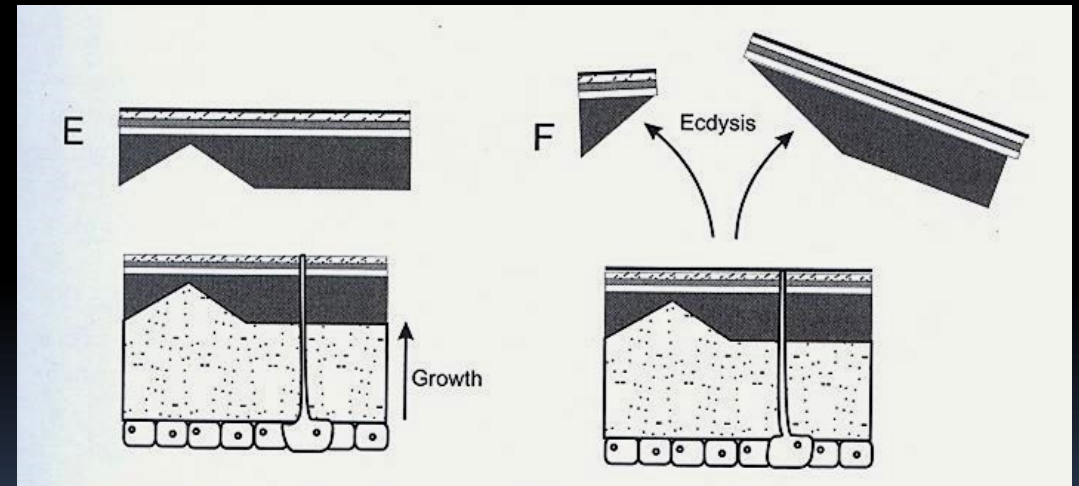
Enzymy svlékácí tekutiny jsou vylučovány pravděpodobně celým povrchem nové kutikuly. Produkty štěpení jsou pak obvykle resorbovány tělem ještě před odvržením staré kutikuly.



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.



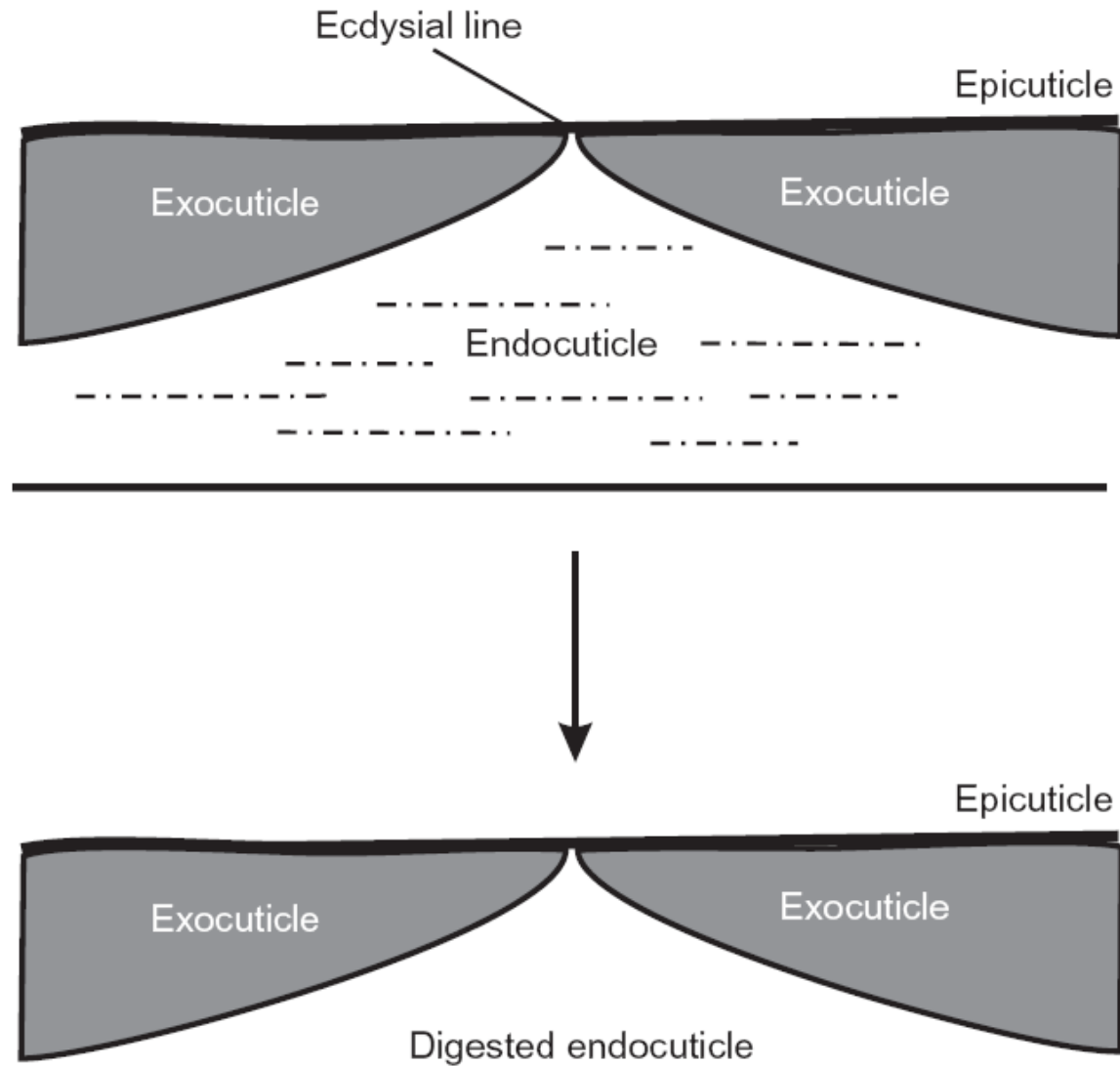


FIGURE 2.10. A cross-section of the integument in an area that is programmed to split during ecdysis. The absence of exocuticle and the digestion of the endocuticle that remains allow the insect to easily break the epicuticle that remains for emergence.

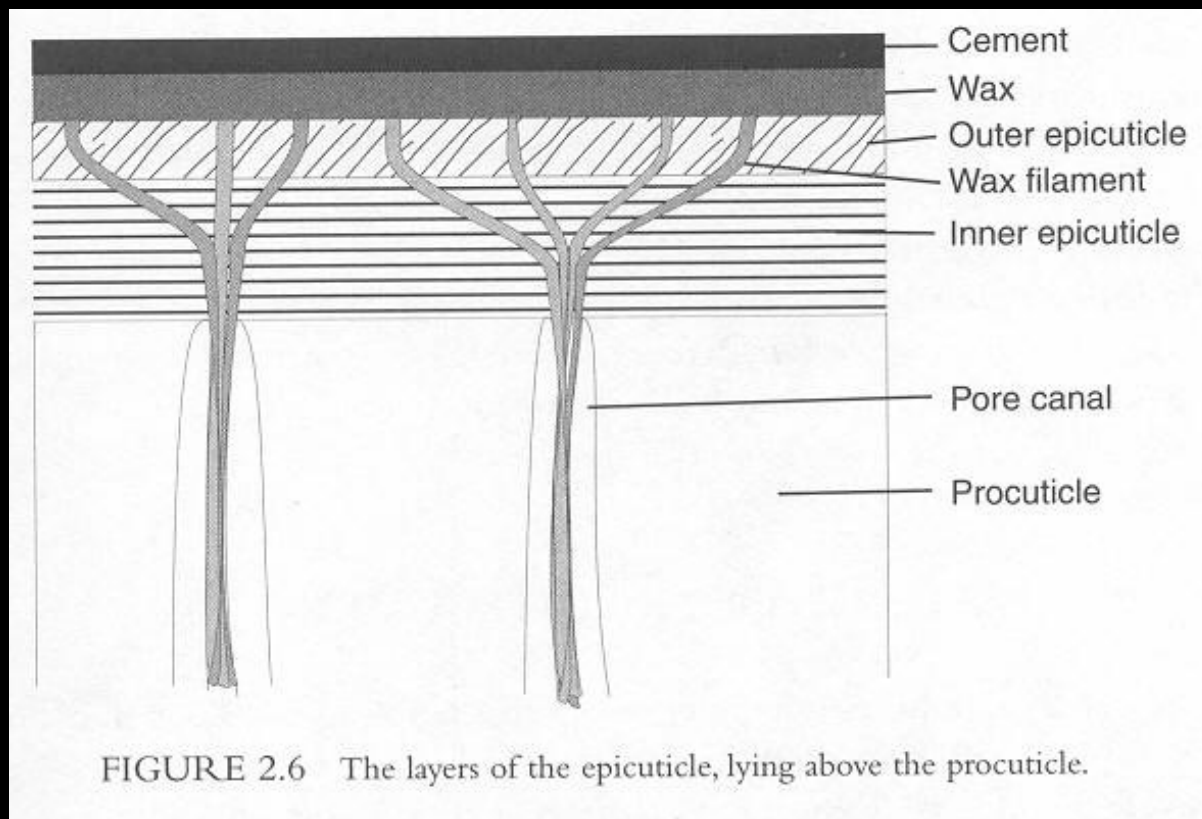


FIGURE 2.6 The layers of the epicuticle, lying above the procuticle.

**Pórové kanálky** probíhají z epidermis k povrchu skrze kutikulu. Jsou to výběžky cytoplasmy epidermálních buněk, často spirálovitého tvaru - jak pronikají kutikulou. U švába asi 200 pórových kanálků vychází z každé epidermální buňky (1,2 mil / mm<sup>2</sup>). Transportují lipidy (voskové látky) produkované epidermálními buňkami na povrch nově vznikající kutikuly. Chybí tam, kde kutikula průhledná, jako na povrchu složených očí.

Pórovitými kanálky se vyloučí na povrchu kutikulinové vrstvičky viskózní sekret bohatý na **fenolické látky**, které se využijí k „vytvrzení“ bílkoviny - **sklerotizaci**. Vytvrzená bílkovina – sklerotin.

Na povrch se díky pórovitým kanálkům (1 $\mu$ m, obdoba Haversových kanálků v kostech) vyloučí také **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.

# Chitinové vrstvy kutikuly

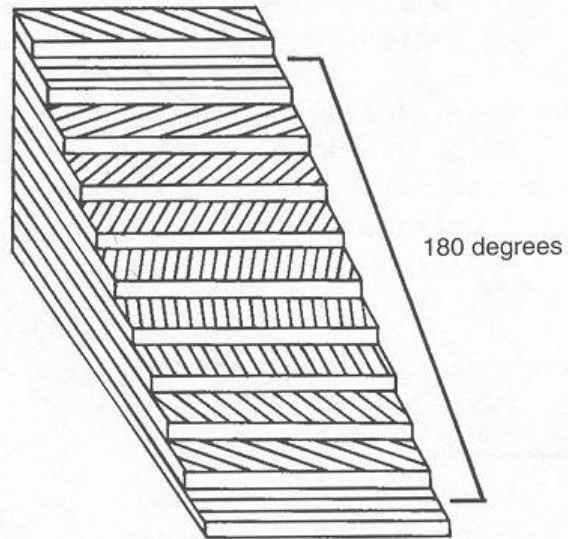


FIGURE 2.14 The helicoidal arrangement of the chitin layers as they are rotated by a constant angle during their synthesis. The bar shows the rotation of layers through 180°. From Neville (1984). Reprinted with permission.

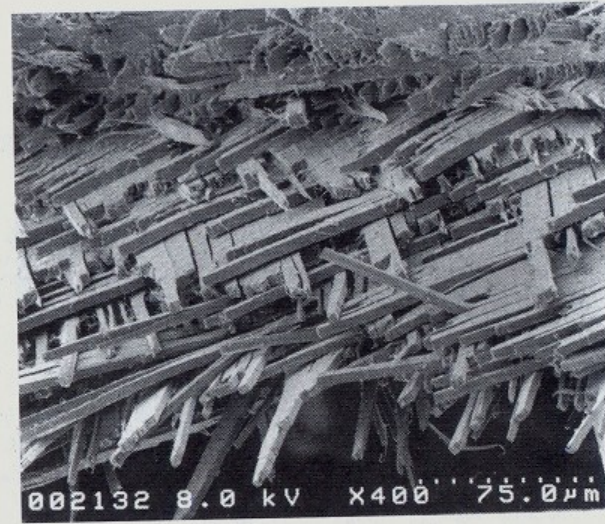


Kompozit, struktura – třetinová tloušťka při mnohsměrné orientaci vláken umožňuje stejnou pevnost proti jednosměrné orientaci, uložení energie. Při ohybu snáší dobře kombinaci tahu nahoře a tlaku dole.

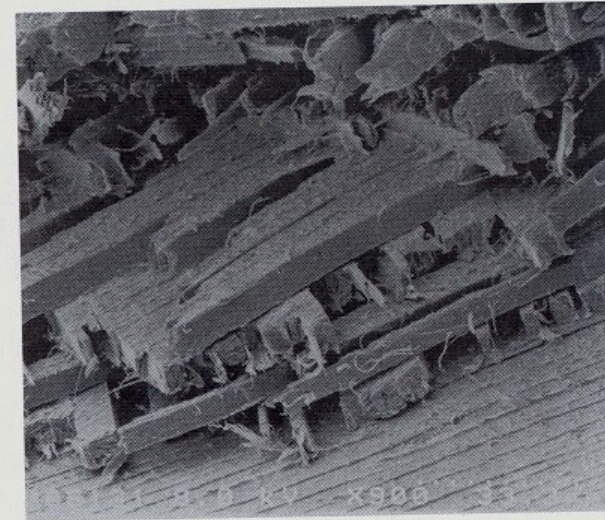
# Chitinové vrstvy kutikuly



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 $\times$ , B: 900 $\times$ ). (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,

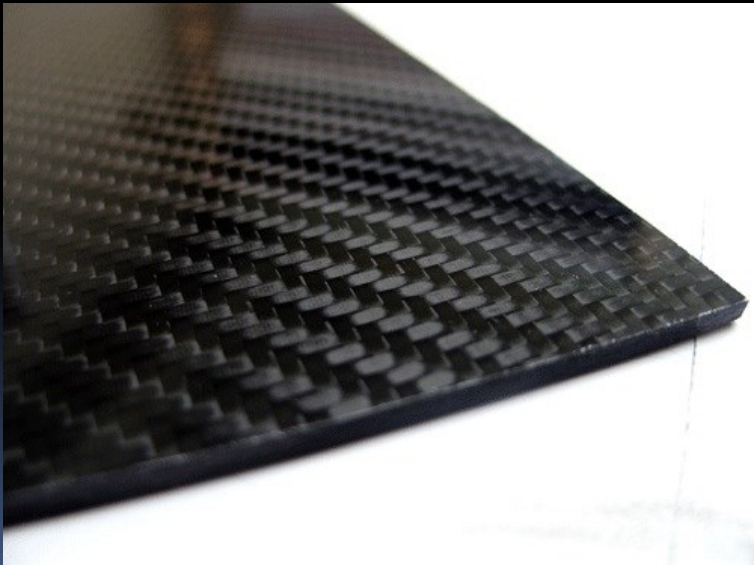


Sensory – musí existovat  
otvory (problematické místo)

Klouby – velké deformace

Povrch - Odolnost proti opotřebení

Šlachy a úpony - elasticita a  
uložení energie



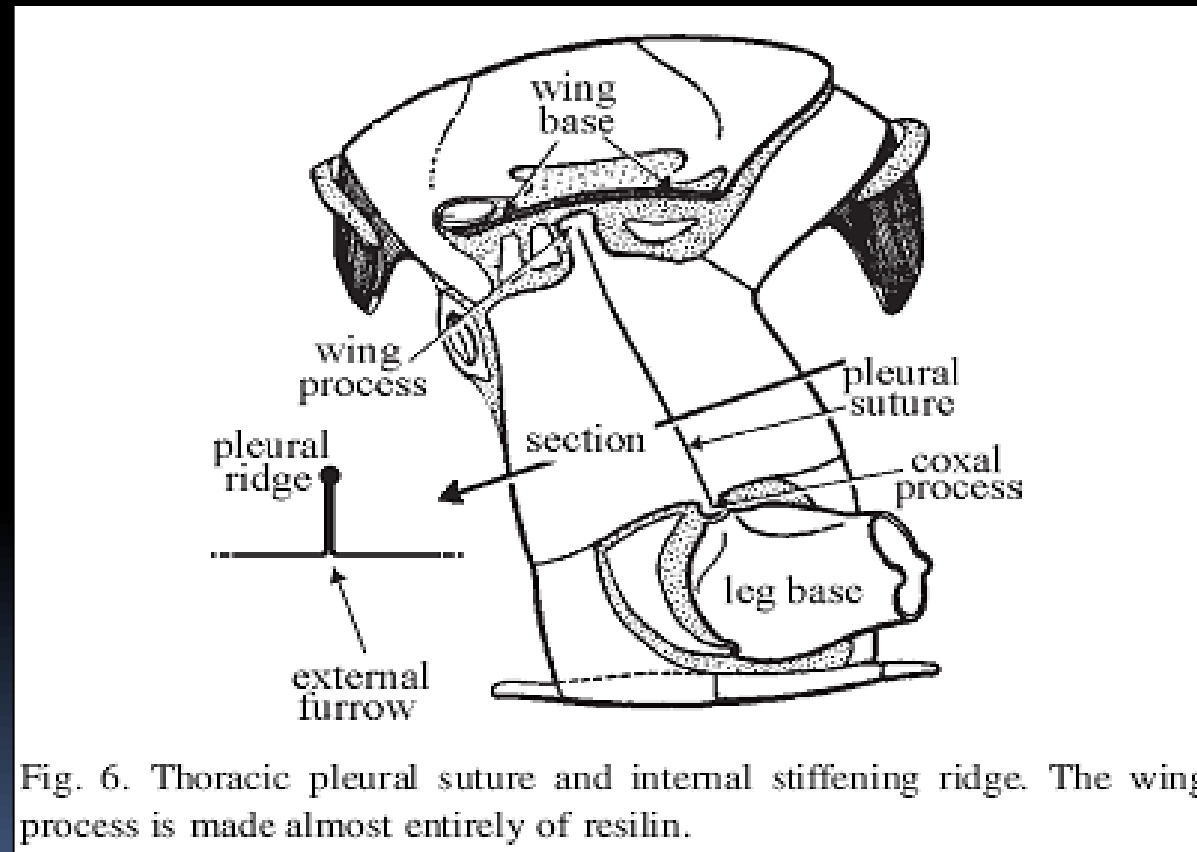
Vlastnosti podobné uhlíkovým nanovláknům – lehké a pevné (letadla) po lidskou kůži.

Sensory – musí existovat  
otvory (problematické místo)

Klouby – velké deformace

Povrch - Odolnost proti opotřebení

Šlachy a úpony - elasticita a  
uložení energie



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

Záleží na  
obsahu vody

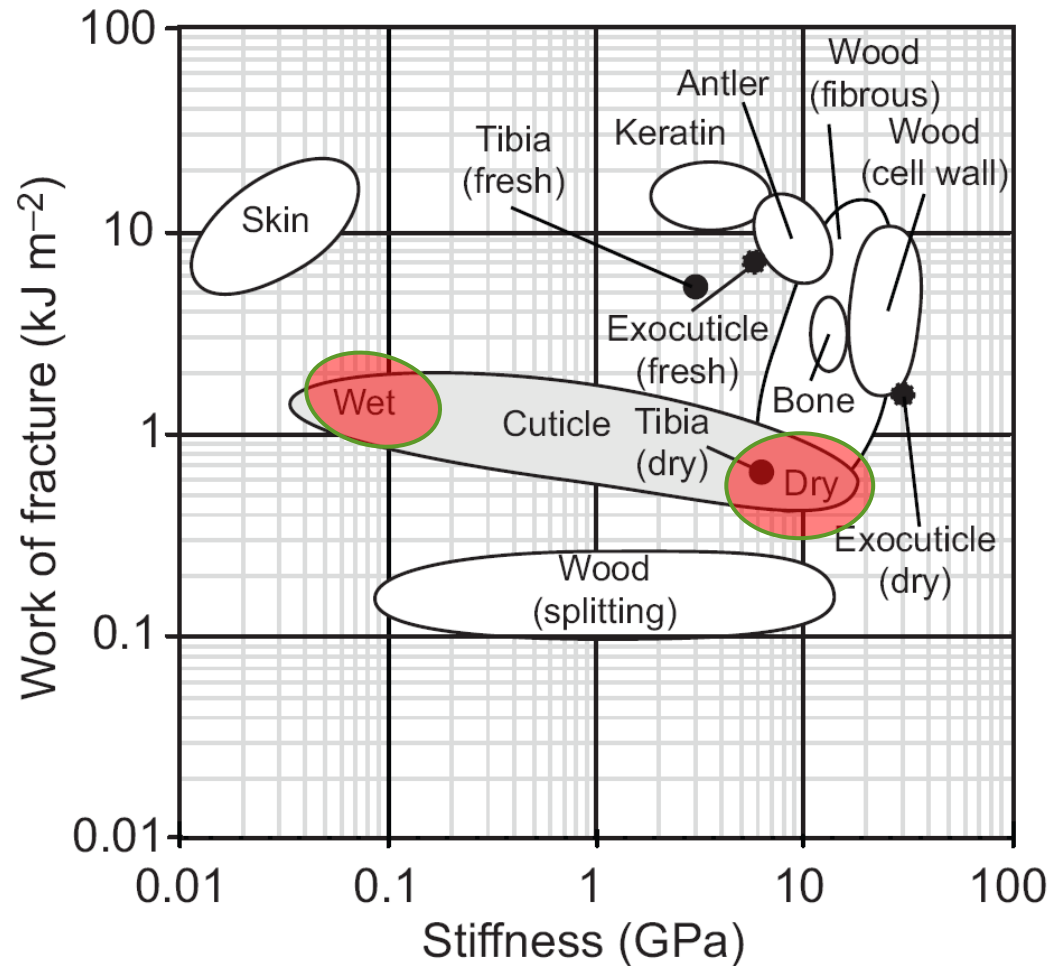
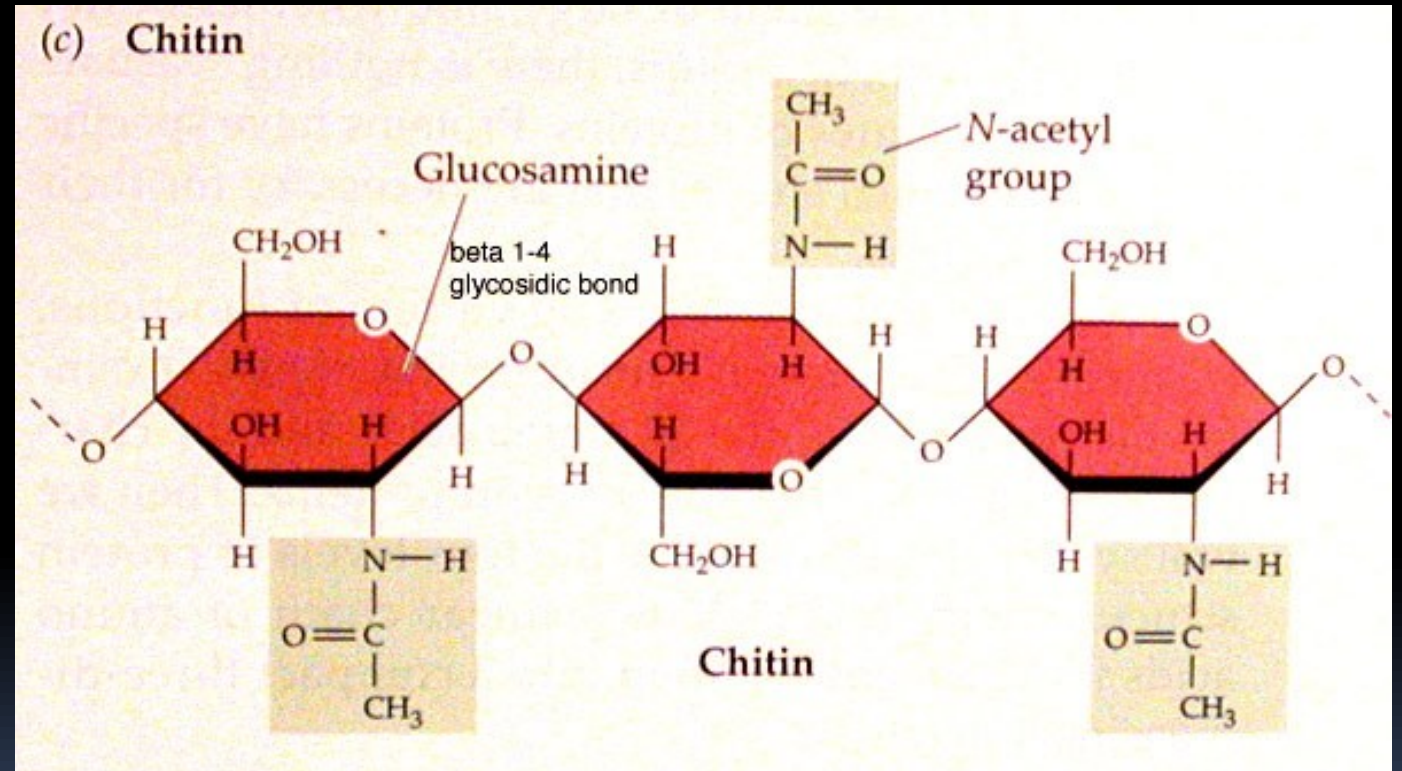
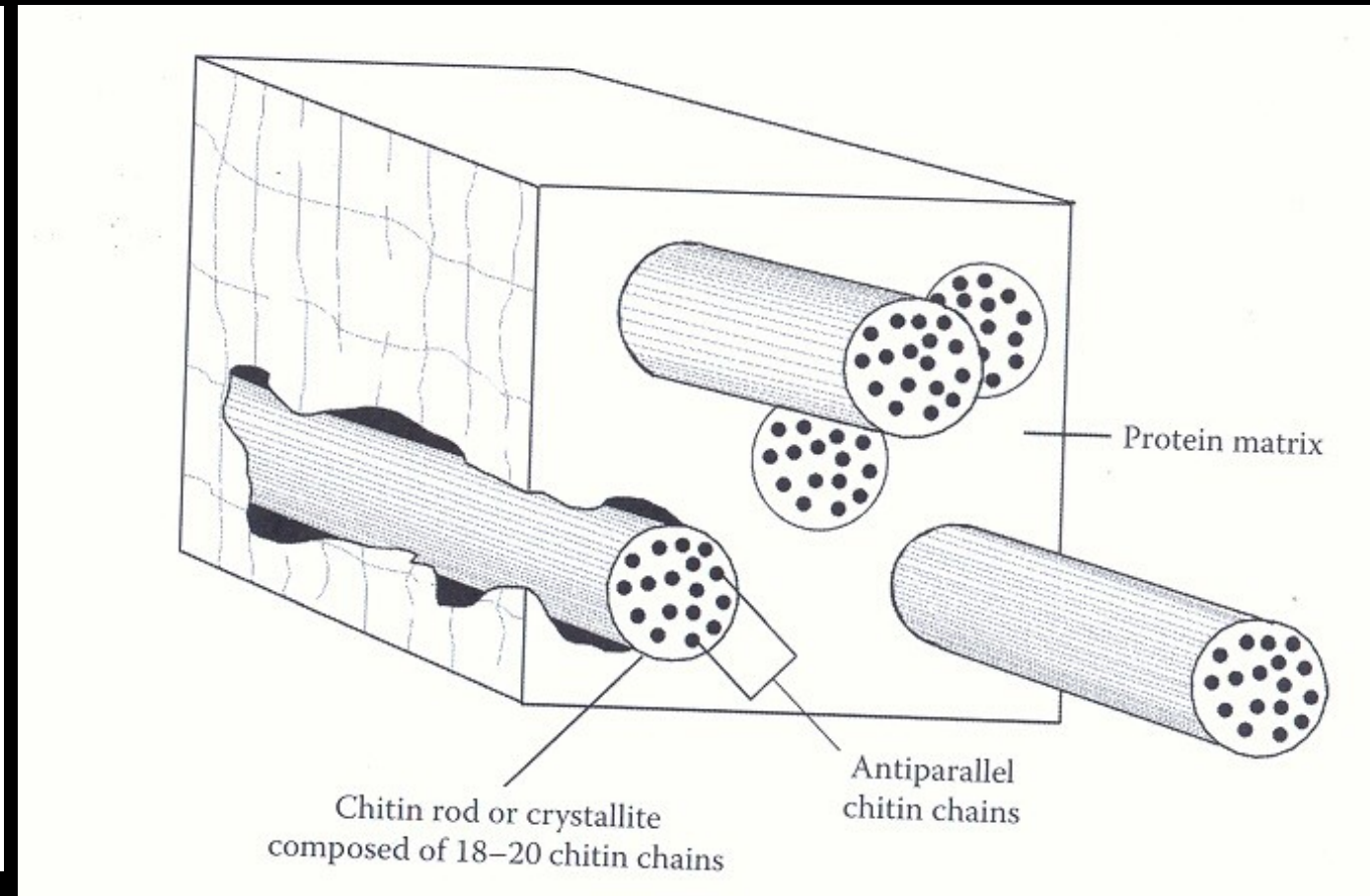
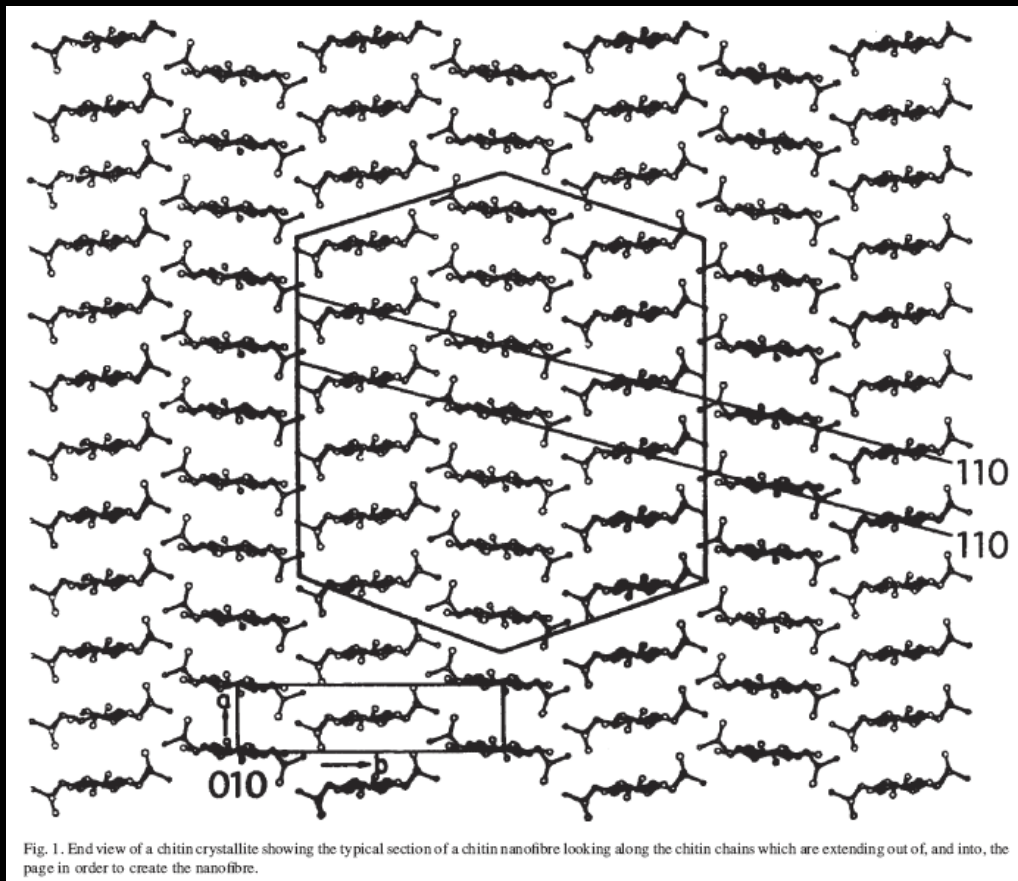


Fig. 5. Work of fracture and stiffness of selected biological materials. Data are based on Wegst and Ashby (Wegst and Ashby, 2004), with our own results for fresh and dry *S. gregaria* locust tibia added for comparison (solid circles). The dark grey 'cuticle' area refers to data from *Rhodnius* beetles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

# 1. Sklerotizace - zesíťování cukerného chitinu pomocí proteinů

Chitin je nerozpustný, elastický, ale savý,  
Podobný celulóze  
Jednotkou je N-acetyl-D-glukosamin  
Monosacharidové jednotky jsou propojeny  
spoji (1. a 4. uhlík) a tvoří řetězec





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.

## 2. Sklerotizace - zesíťování cukerného chitinu pomocí proteinů

Proteinová matrix obklopuje chitinové fibrily.,

Směs chitinu a bílkoviny – zatím je měkká a nevytvrzená

Krystalinní struktura chitinu je důležitá pro kovalentní interakce s proteinovou matrix.

Vzdálenosti vedlejších řetězců (zbytků) se musí shodovat. Jsou důležité pro vznik vazby.

$$2 \times 1.032 = 3 \times 0.69$$

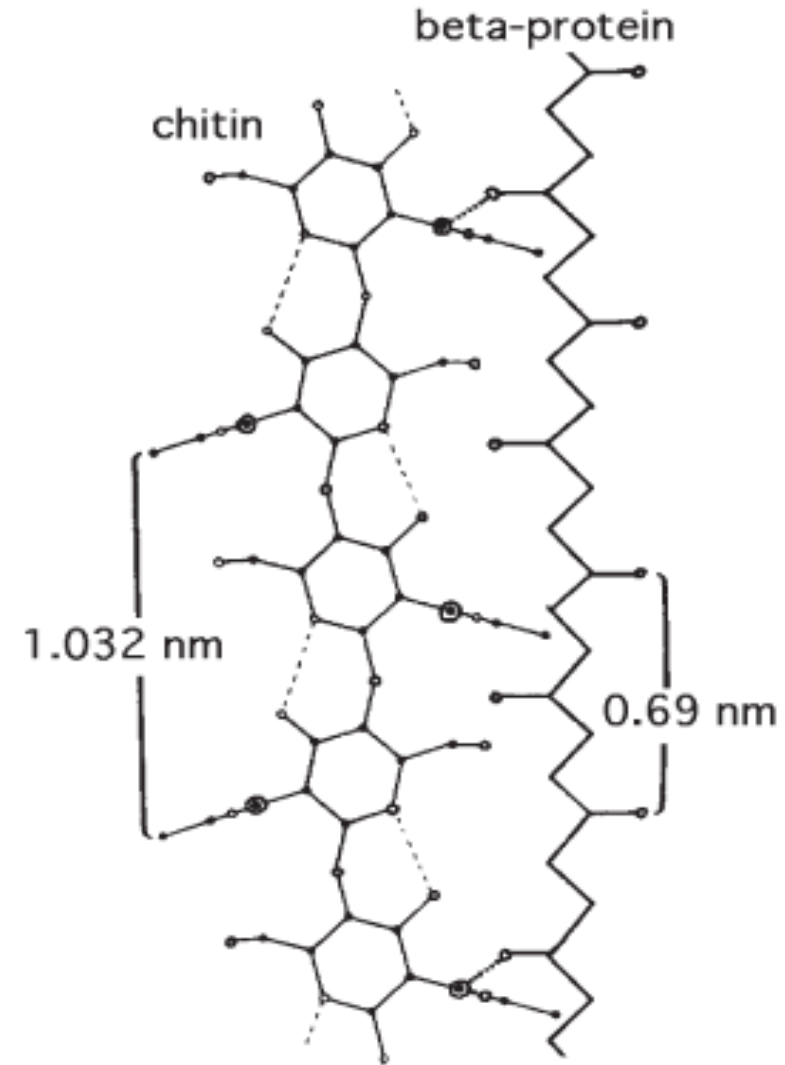
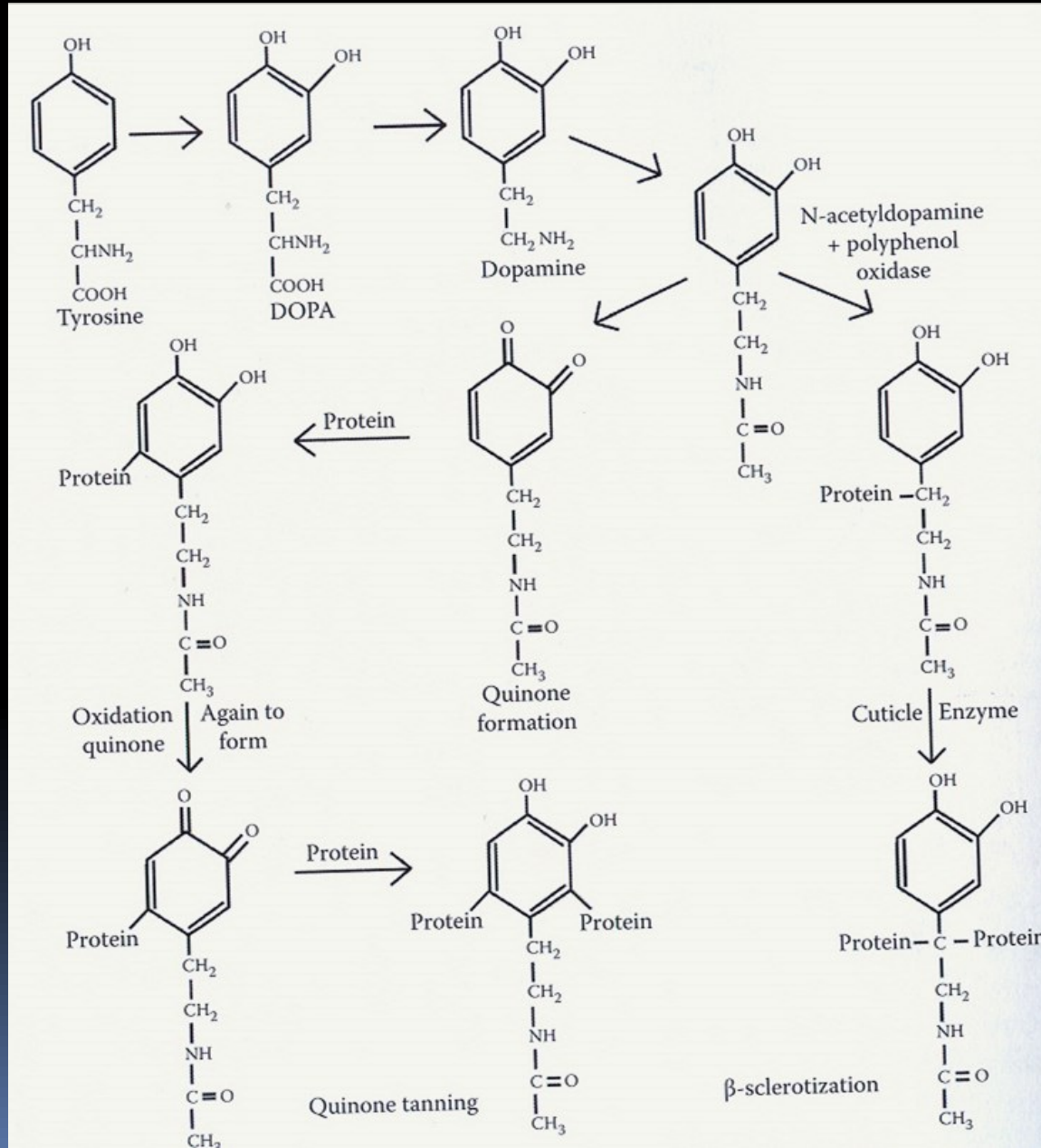


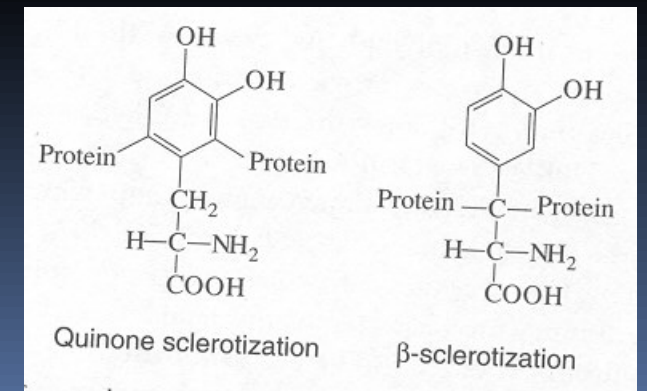
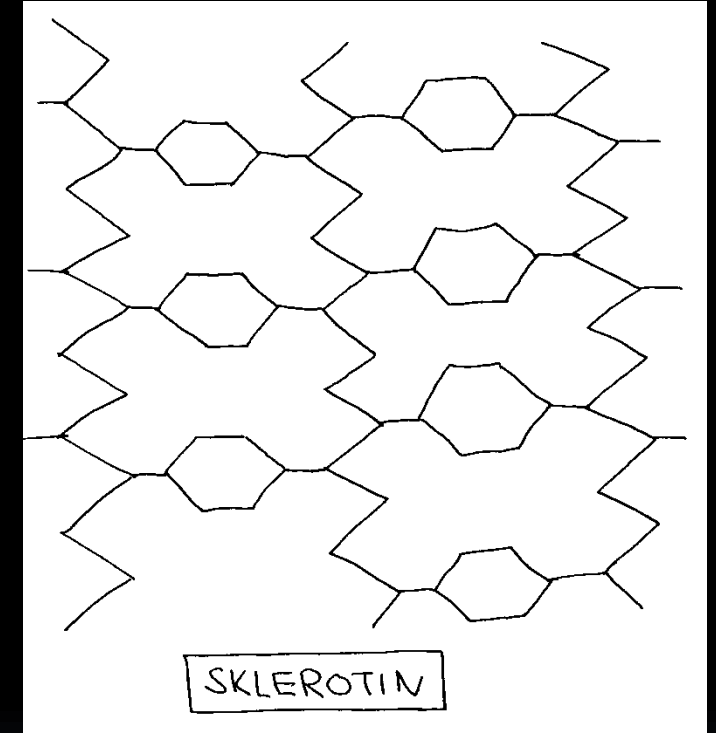
Fig. 2. Suggested bonding between a silk-like protein and chitin.

### 3. Sklerotizace pomocí fenolů – vytvrzení bílkoviny

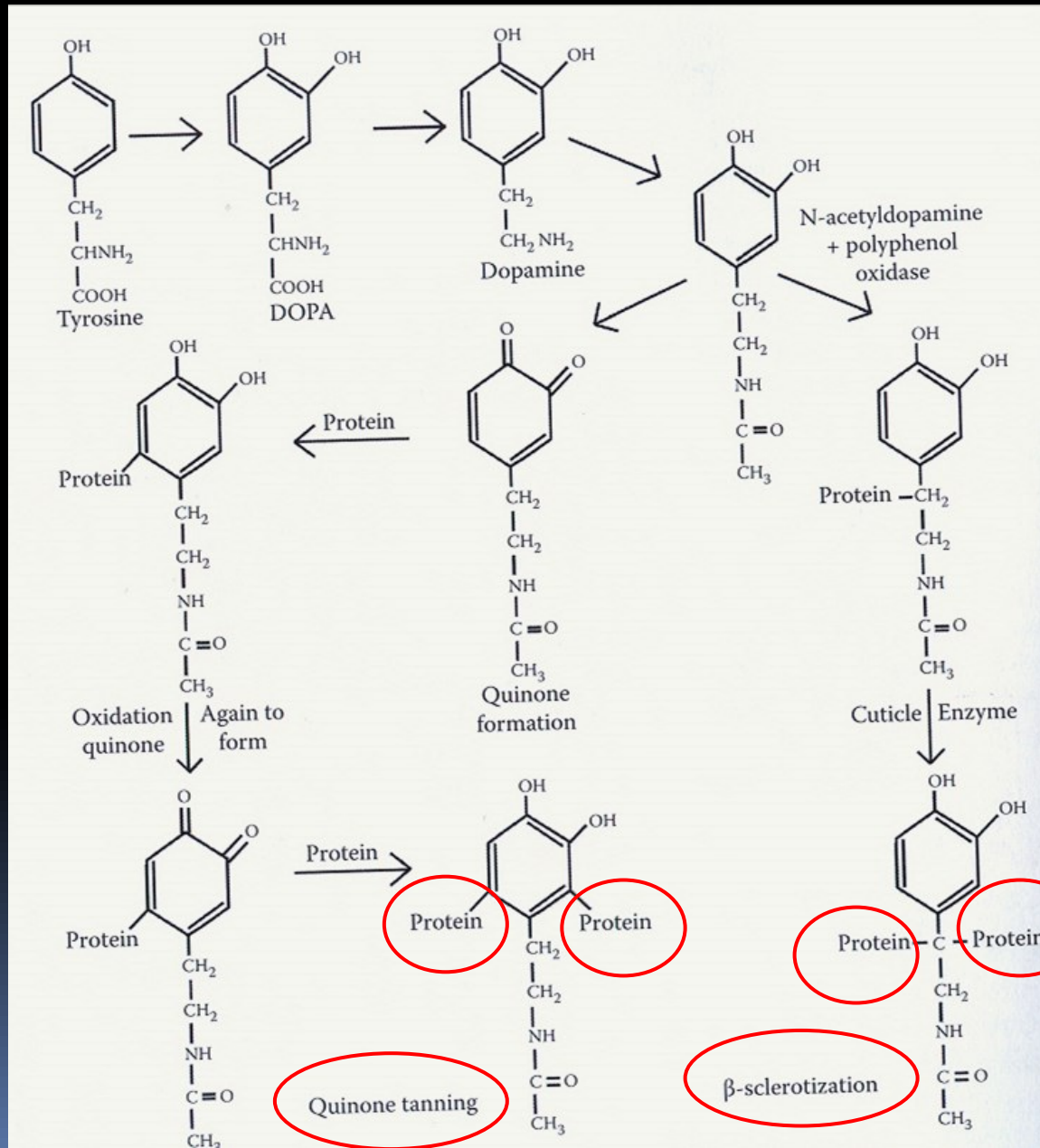


Fenoloxidázová kaskáda: od fenolů k chinonům

Hormonálně řízená enzymatická reakce.

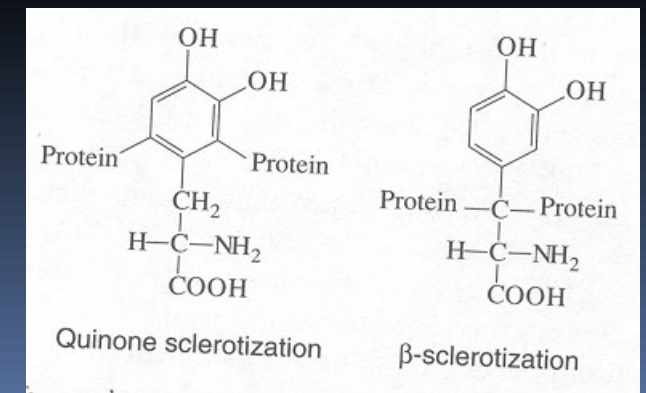
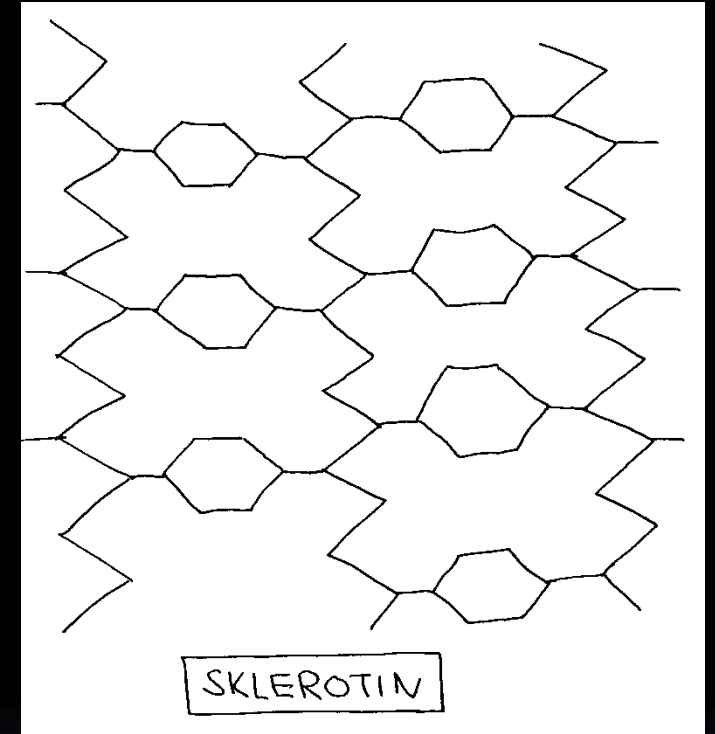


### 3. Sklerotizace pomocí fenolů – vytvrzení bílkoviny



Fenoloxidázová kaskáda: od fenolů k chinonům

Hormonálně řízená enzymatická reakce.





**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**.

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 ?

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 nejučelnější.

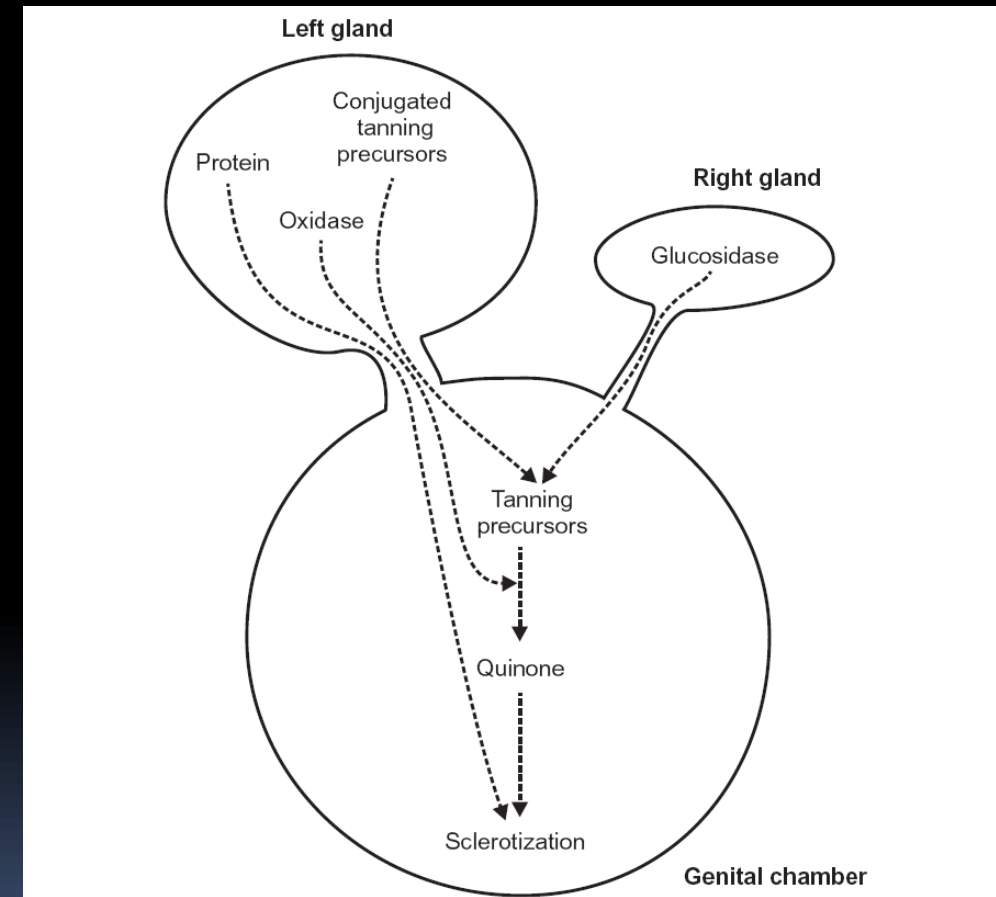


FIGURE 2.14. The mechanism of ootheca production in the cockroach. The left gland secretes oothecal proteins, tanning precursors that are conjugated and inactive, and an oxidase. The right gland secretes a glucosidase. When the contents are mixed in the genital chamber, the glucosidase removes the conjugate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

Smíchání komponent při tvorbě ootéky v genitální komoře.

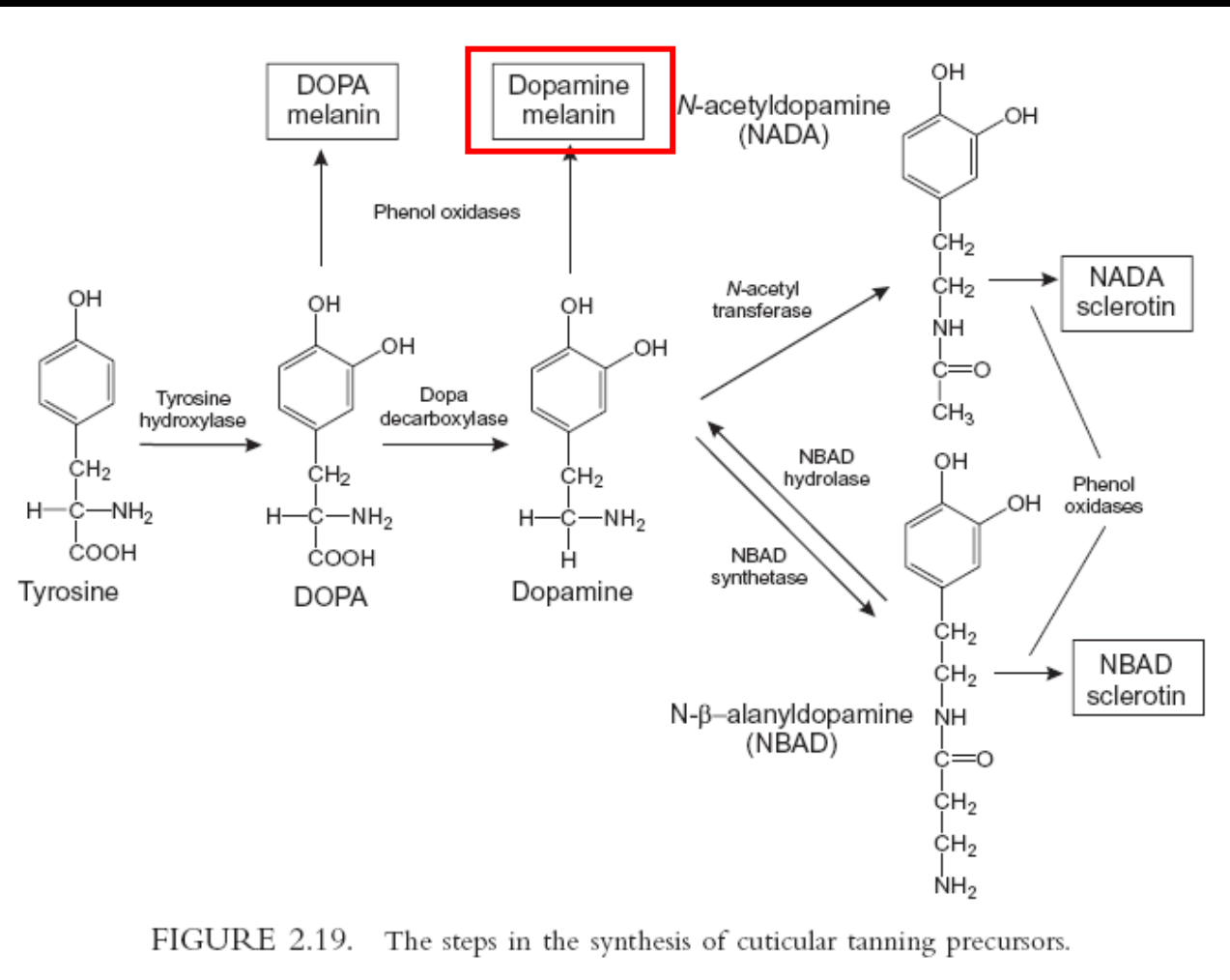


FIGURE 2.19. The steps in the synthesis of cuticular tanning precursors.

Sklerotizace - vytvrzení  
Melanizace - ztmavení

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).

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. Gen pro resilin octomilky vnesen do střevní bakterie *Escherichia coli*.

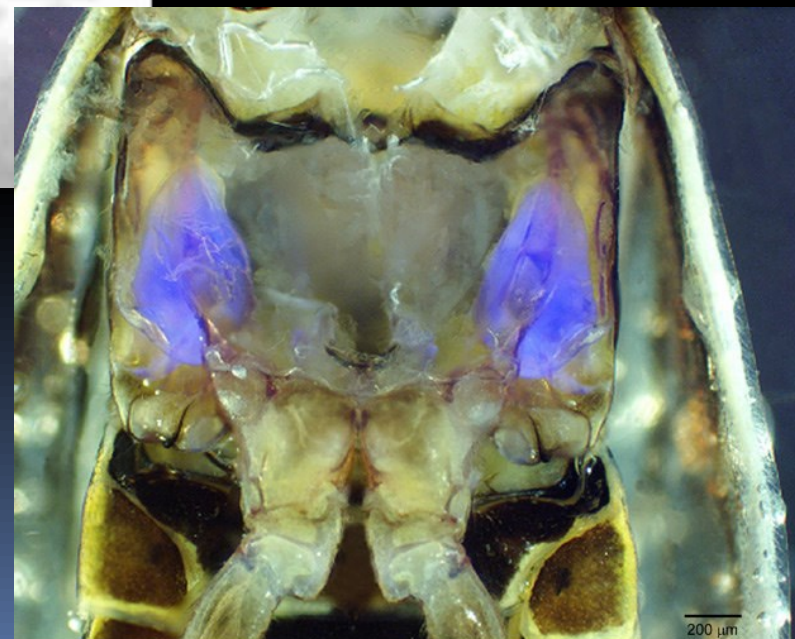
Bakterie vyráběly bílkovinný řetězec tvořený sedmnáctkrát opakovaným motivem patnácti aminokyselin. Tyto řetězce mají do parametrů resilinu daleko. Jedinečnou pevnost a pružnost získaly, až když je vědci propletli zvláštní chemickou reakcí do složité trojrozměrné sítě.

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

pěnodějkovití



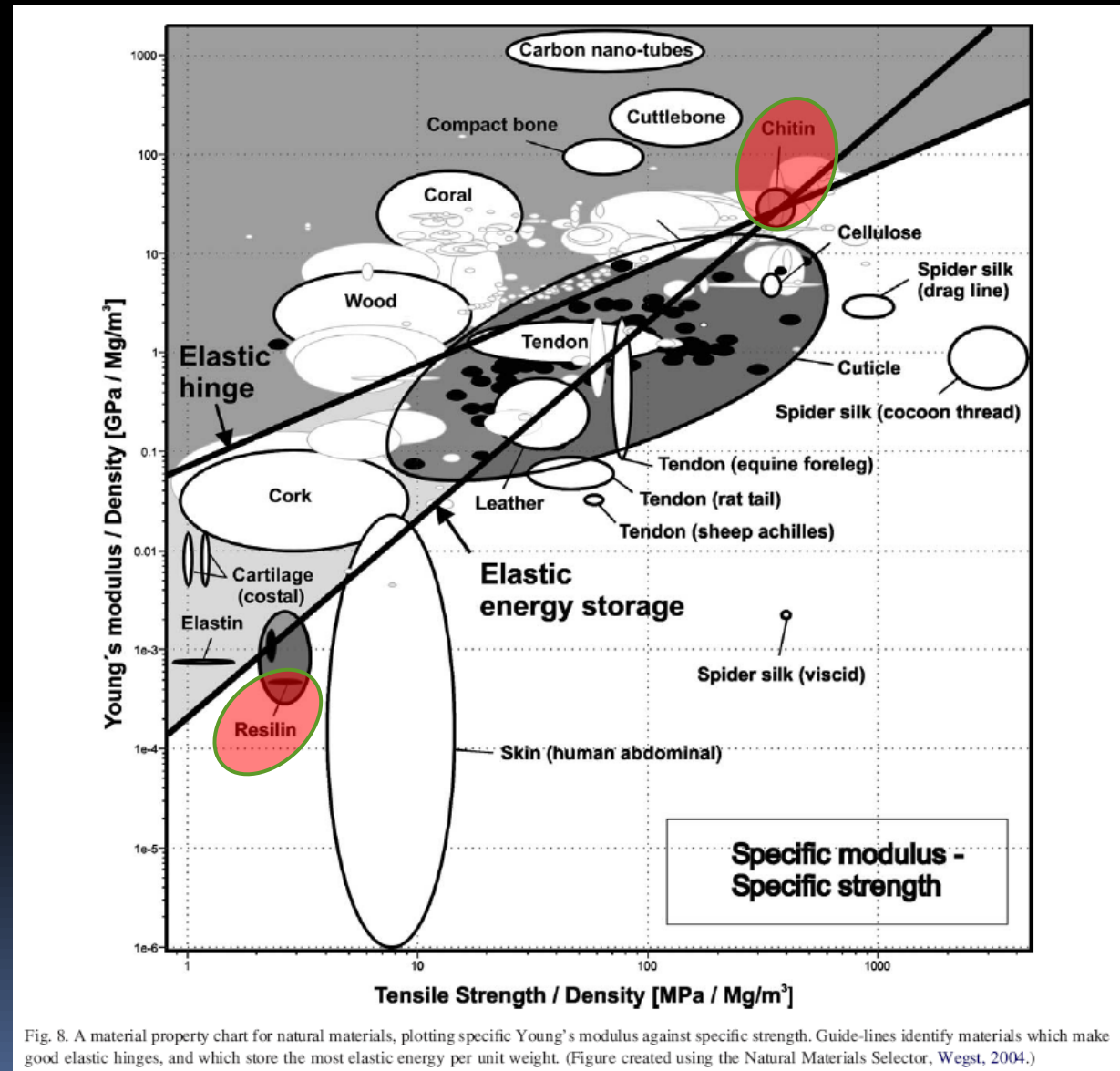
Zrychlení 4,000 m/s<sup>2</sup>



Credit: Burrows et al, *BMC Biology* 2008

## Elasticita a uložení energie.

Resilin jinde než chitin.  
Kutikula pevná i pružná.



Tam, kde má být kutikula pružná, chybí exokutikula.

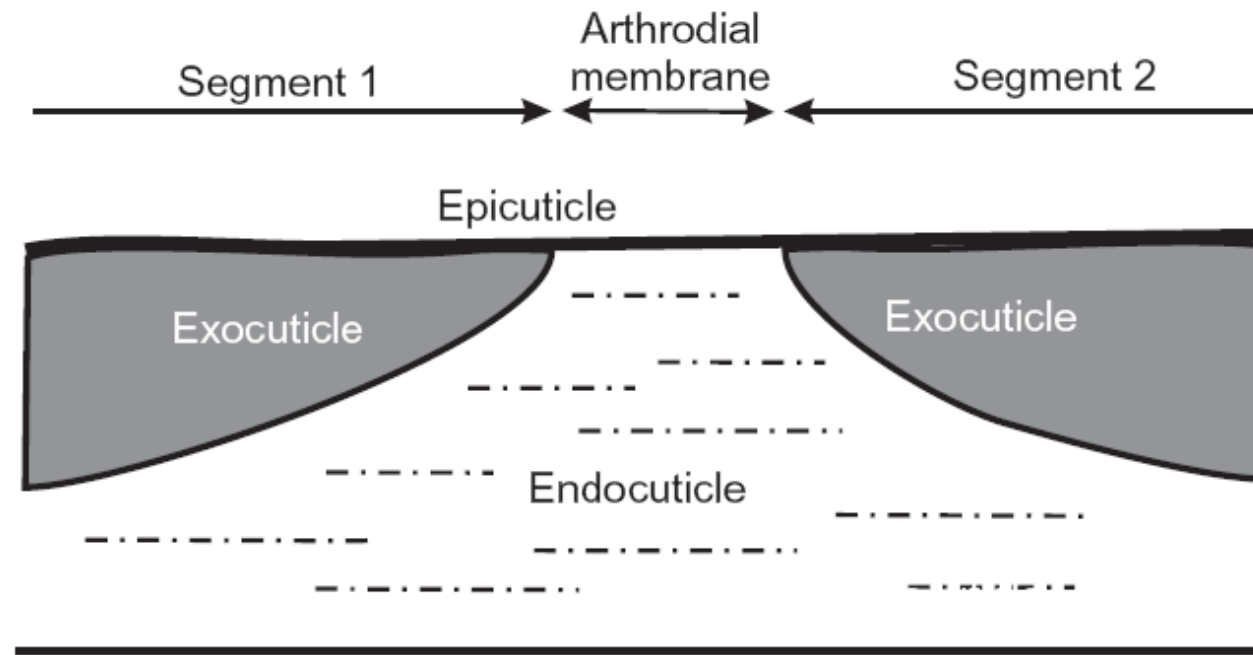


FIGURE 2.9. A cross-section of the integument between two segments, showing the absence of exocuticle that results in the flexible arthrodial membrane.

# Ochrana kutikulou proti vyschnutí je omezena teplotou

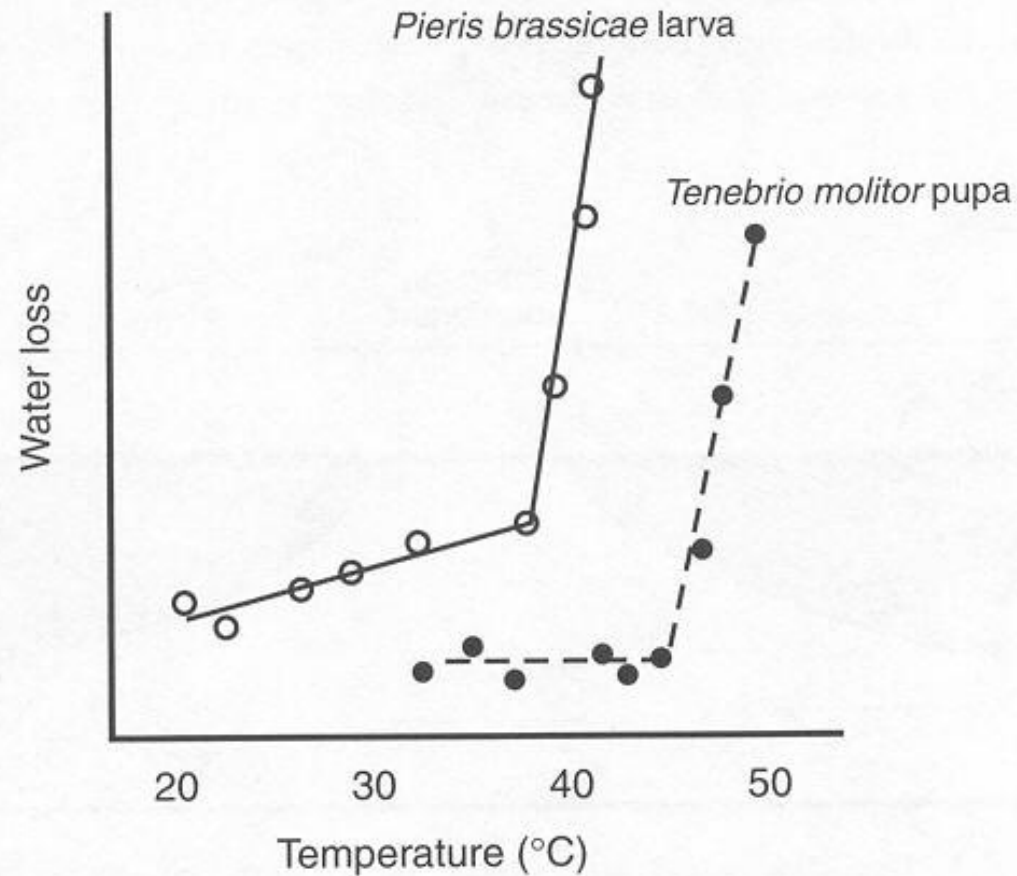


FIGURE 2.7 The relative water loss in two insects as a function of temperature. Above a critical temperature, the wax layer becomes disoriented and water loss increases substantially. From Beament (1959). Reprinted with permission.

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



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 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 už jako dospělci neschopni svlékání. To 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.

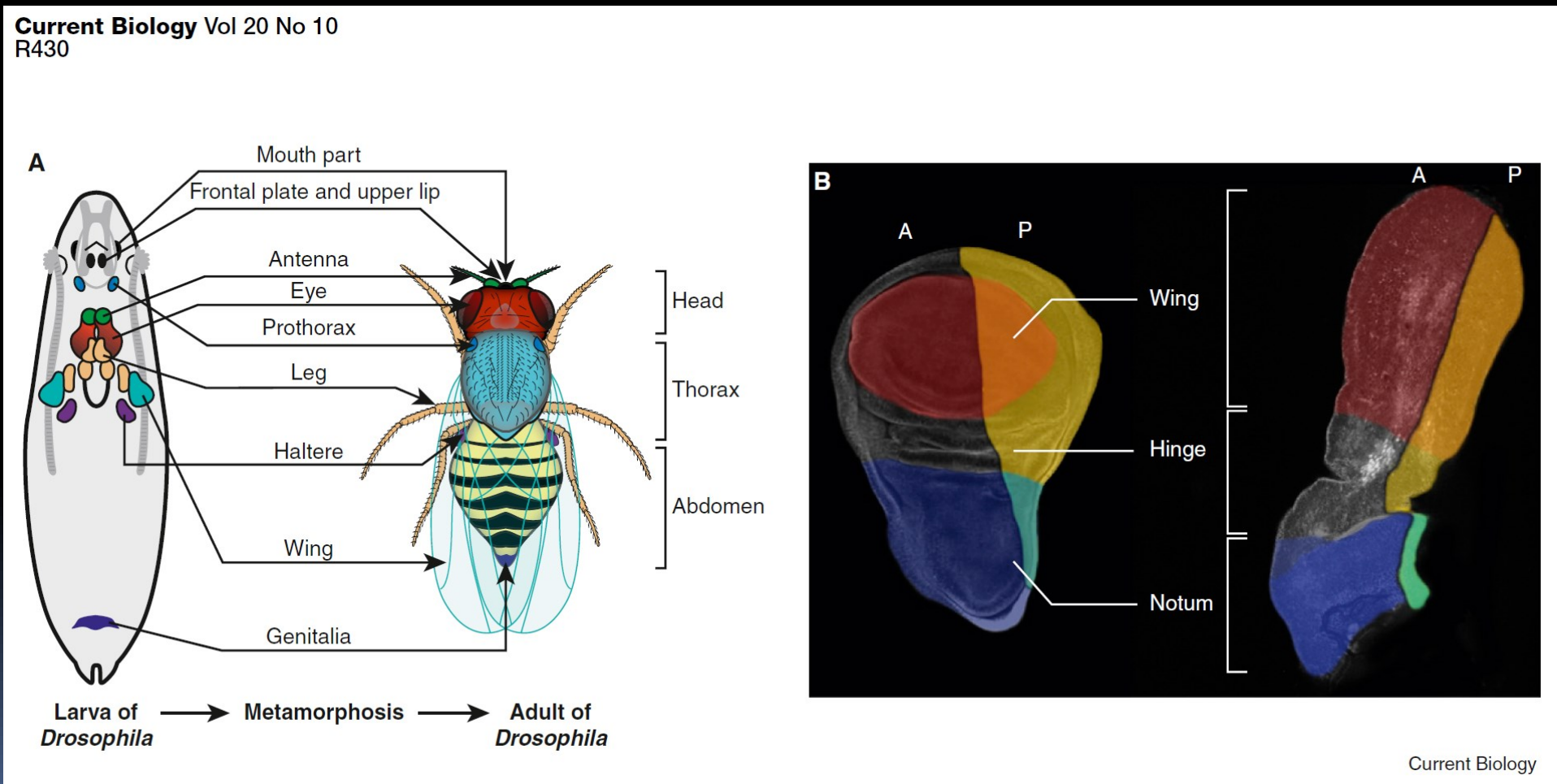
Jak jednou degenerují, buňky nemohou vytvořit novou kutikulu křídel, i kdyby se hmyz svlékal. Smrt buněk, která činí možným let, zároveň znemožňuje svlékání u dospělců.

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



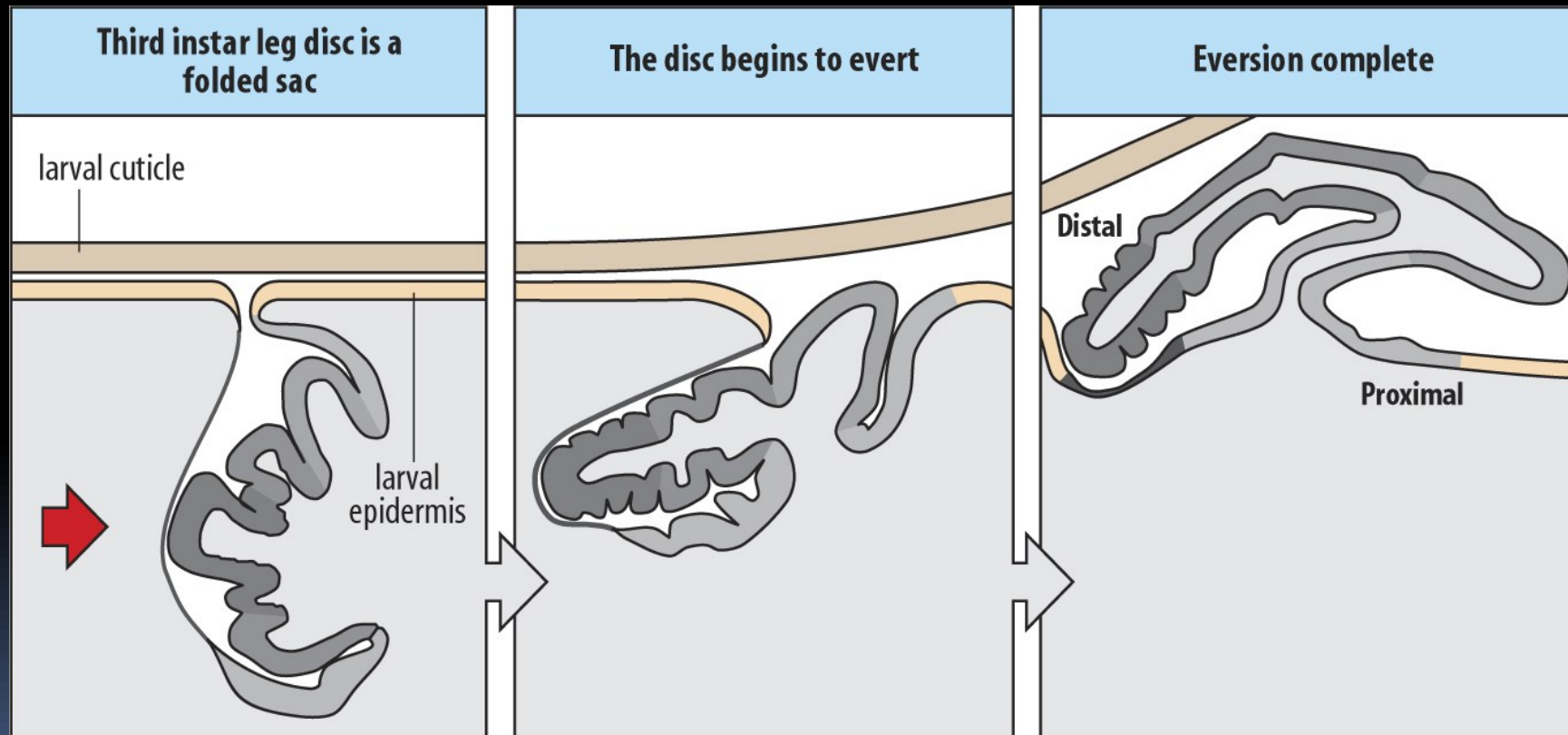
D.m. má 19 imaginálních disků. Tzv. kompartmenty v rámci jednoho i.d. vpravo

Imaginální disky jsou váčkovité epiteliální struktury larvy hmyzu, které se uplatňují při metamorfóze v kuklu a imago. Většina larválních struktur degeneruje a i.d. se přeměňují do externích struktur hlavy, hrudi, končetin a genitálií.

Jejich výzkum je podstatný pro pochopení genetických aspektů morfogeneze včetně mechanismů vad a chorob. Jednak velice rychle a přesně řízeně proliferují. Diferencují do různých buněčných typů jako jsou receptory, cévy, epidermální bb. Bb různých tzv. kompartmentů i.d. se nemíchají a jsou pod vlivem specifických transkripčních faktorů.

I.d. je možno explantovat a vložit do tkáně kukly, kde se plně vyvine v např. tykadlo, ale ve špatném místě. Nebo mutací řídicího genu se místo tykadla vyvine noha.

U larvy jsou invaginované a s epidermis spojeny jen tenkou stopkou.  
Při metamorfóze nastává everze – vyklenutí, vychlípení epidermálních útvarů  
tvořících budoucí tykadla, nohy křídla atd.  
Následuje tvorba nového typu kutikuly.



Imaginální disky vyrůstají z váčků embryonálního ektodermu. Disky nohy a křídla jsou homologní struktury, jsou podobně utvářené a zachovávají si identitu mezi jiným ektodermem. Během všech svlékání se v nich dělí a vyvíjejí.

Hmyzí nohy jsou kloubně spojené trubky epidermis, které sekretují tuhou kutikulu na povrchu se svaly, nervy a pojivky uvnitř.

Křídla jsou dvě epidermální vrstvy (dorzální a ventrální) spojené dohromady.



mura osenice  
Nikon Small World 2020







Zobonoska révová