

kými údaji publikované výsledky molekulárně genetických analýz, na jejichž základě byly tyto morfologicky uniformní druhy navzájem odlišeny (jak bylo uvedeno výše). Karyologická data nicméně odhalila, že stupeň endemismu je u této alpské skupiny patrně ještě vyšší, než se předpokládalo. Pouze jeden ze tří analyzovaných druhů, *E. germanus*, vykazoval v rámci svého areálu neměnný karyotyp. U druhů *E. alpha* a *E. gamma* byla doložena existence několika karyotypových ras, které se od sebe enormně liší diploidním počtem chromozomů. Jednotlivé rasy jsou geograficky odděleny a obývají relativně malá celistvá území. Ani v jednom případě nebyla dokumentována kontaktní zóna nebo částečný překryv areálů.

Při bližším pohledu na rozšíření jednotlivých druhů, resp. ras, se potvrdil klíčový význam geografických bariér, jež se podílejí na izolaci přirozeně sedentárních štírů. Mezi druhy *E. alpha* a *E. germanus* tvoří účinnou bariéru severoitalská řeka Adige. Hranici mezi karyotypovými rasami I. a II. druhu *E. alpha* představuje ledovcové jezero Maggiore. Geografickou bariérou mezi areály výskytu karyotypových ras II. a III. *E. alpha* je řeka Oglio protékající ledovcovým jezerem Iseo. U karyotypových ras *E. gamma* nebyla podobně významná bariéra nalezena, nicméně ne-

smíme zapomínat, že se vyskytují v oblasti členitých vysokých hor, které samy o sobě mohou vytvářet geografický izolační prvek.

Současně s analýzou chromozomálních charakteristik jsme též pátrali, zda míra genetické odlišnosti koresponduje se zjištěnými rozdíly na úrovni karyotypů alpských štírů. Molekulárně fylogenetické analýzy potvrdily, že jak v rámci druhů, tak na úrovni karyotypových ras jde o oddělené monofyletické linie. Nicméně genetická odlišnost mezi jednotlivými blízkými příbuznými rasami zdaleka neodpovídala výrazným rozdílům v karyotypech. Jinými slovy, pouze z molekulárně fylogenetických analýz a bez znalosti karyologie bychom nebyli schopni stanovit úroveň, na které se nacházejí geneticky izolované taxony – druhy.

Rutinně využívaná taxonomická kritéria opět poukázala na problematiku morfologické uniformity štírů, jelikož u nově odhalených alpských kryptických druhů nebyly pozorovány morfologické rozdíly. Není ale vyloučeno, že námi zamýšlená detailní morfometrická analýza v budoucnu odhalí druhově specifické rozdíly.

Přínos kombinovaných studií

Alpští štíři jsou dobrým dokladem toho, jak mohou být kombinované studie užitečné v zoologické taxonomii. Kdybychom štíry

klasifikovali pouze na základě morfologických znaků, předpokládali bychom na území Alp výskyt jediného druhu – *E. germanus* (obr. 8A). Pokud bychom zvolili propojení morfologických charakteristik s genetickou skladbou populací, tento v současnosti nejvíce využívaný přístup by nám potvrdil další dva taxony, *E. alpha* a *E. gamma* (obr. 8B). Karyologická data ale poskytla další úhel pohledu a prokázala, že zde žijí nikoli tři, ale dokonce 6 geneticky izolovaných linií (obr. 8C).

Karyologie nám tedy umožnila detekovat kryptickou druhovou diverzitu štírů. Bez molekulárně fylogenetických analýz bychom nicméně netušili, jaká je vzájemná příbuznost konkrétních populací a druhů. Kombinace všech tří zmíněných přístupů proto tvoří silný nástroj a také příslib pro řešení komplikované taxonomie a odhalení skutečné druhové diverzity štírů rodu *Euscorpis*.

Projekt č. 1350214 Trendy karyotypové evoluce v kontextu molekulární fylogeneze u modelového podrodu Alpiscorpis (Arachnida: Scorpiones) byl financován Grantovou agenturou Univerzity Karlovy v Praze.

Použitou literaturu najdete na webové stránce Živý.

Jaroslav Smrž

Co požírají a co skutečně tráví?

Budete-li se zabývat zoologií, vždy (stejně jako většina dnešních zoologů), ať chcete nebo nechcete, začnete poznáváním druhů. Poznat, co žije kolem nás, co škodí na zahradě, ve skleníku, ve spízi, co se nám líbí, co nás osvěžuje a oblažuje život, příjemně bzučí, ale i co kouše. A to platí, přestože z toho kdysi vyplynula např. nepřesná a stále žijící a rozšířená definice biodiverzity jako pouhého seznamu vyskytovaných se druhů na lokalitě. Teprve při důkladném studiu vás začne zajímat biologie druhů, jejich vzájemné vztahy a význam pro potravní síť. Konzumovanou potravu můžeme studovat na různých úrovních – její velikost, spektrum (a tedy potravní specializaci sledovaného druhu), nabídku, nebo schopnost trávit, podmínky konzumace atd. U větších živočichů to může být poměrně snadné, většinou stačí sledování, v krajním případě pitva nebo jednoduchý experiment. U drobných forem se však musíme uchýlovat k velmi sofistikovaným procesům.

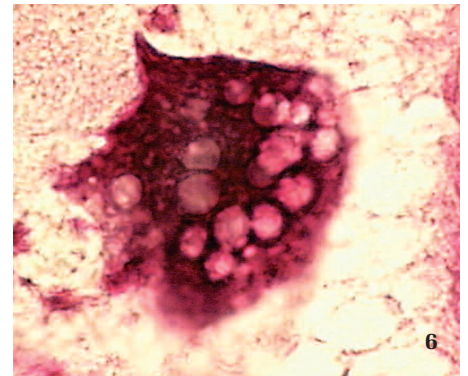
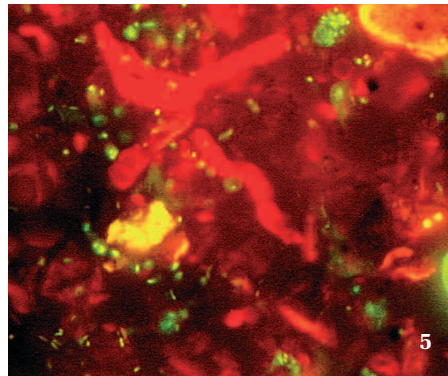
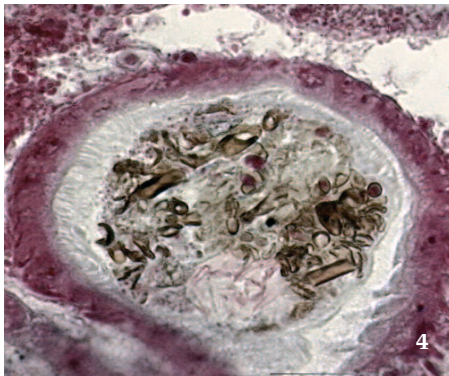
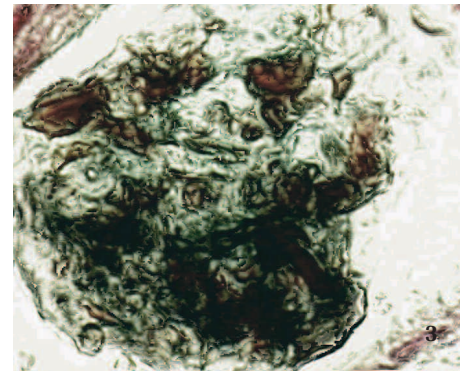
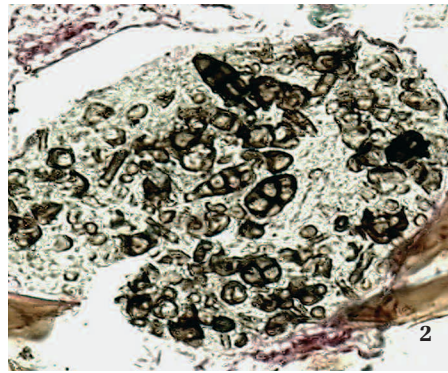
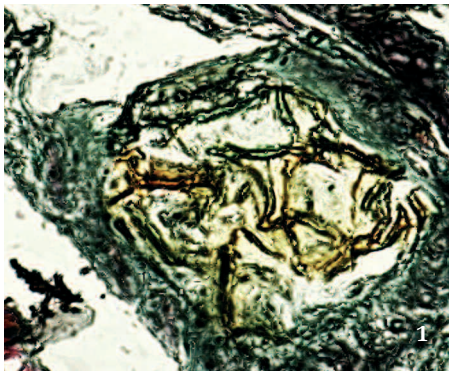
V našem případě jde o roztoče (*Acari*) různých skupin žijících se opadem, půdními vláknitými houbami, bakteriemi či řasami, někdy se studie týkají i parazitů (tab. 1). Můžeme u nich vycházet z vnější morfologie, např. typu ústního ústrojí a určité korelace s přijímanou potravou, což ale nemusí být vždy úplně přesné. Jinou metodou představuje experiment formou nabídky potravy ať již prostým předložením jednoho typu nebo tzv. kafeeteria testem, tedy s několika typy potravy na jednom expe-

rimentálním prostoru (Petriho miska, box) a možností výběru. Tady ale musíme brát v úvahu umělé podmínky na rozdíl od přírodních a především znát využitelnost nebo stravitelnost dané potravy. Podstatná není jen schopnost pohltnout, ale hlavně trávit a zužitkovat. Jinak řečeno, není problém jenom pozřít (vzpomeňme si na nejrůznější bizarní sázky z mláďí!). U mnoha zvířat se totiž lze setkat s průchodem potravy střevem živočicha i v intaktní, nedotčené podobě, tedy s přítomností neporušených

a životaschopných buněk v exkrementu. S tímto fenoménem se setkáváme u živočichů, kteří často v potenciální potravě žijí (např. saprofágové, tedy konzumenti odumřelých pletiv či tkání). V tomto případě nejde o běžnou potravní nabídku, ale obklopení potravou, někdy s obtížnou migrací nebo zcela bez možnosti okamžitého úniku z dočasně či trvale nevhodných podmínek. Pak živočich pouze substrát sežere a ve střevě málo zužitkuje podobně jako otec Scholasticus kobylinky, tedy jde

Tab. 1 Podřády roztočů (*Acarina* = *Acari* = *Acarida*) a jejich potravní zaměření

U nás žijící:
Klíšťata (<i>Ixodida</i>) – paraziti
Čmelíkovci (<i>Gamasida</i> = <i>Mesostigmata</i>) – většinou půdní dravci, ale i paraziti, výjimečně saprofágové
Sametkovci (<i>Actinedida</i>) – většinou půdní dravci, ale i paraziti, výjimečně saprofágové, ale také významní fytofágové (a tedy potenciální škůdci hospodářských rostlin)
Pancířníci (<i>Oribatida</i>) – půdní saprofágové, mykofágové i algivorové (žijí se řasami)
Zákožkovci (<i>Acaridida</i>) – půdní saprofágové, mykofágové, bakteriofágové, paraziti, několik čeledí žije i ve vodě, řada synantropů, a tedy i škůdců v zásobách potravin
Exotičtí:
Celoštítníkovci (<i>Holothyrida</i>) – půdní dravci v Jižní a Střední Americe, Karibiku, Australasii, na ostrovech v Indickém oceánu
Sekáčkovci (<i>Opilioacarida</i>) – půdní saprofágové, žijí v severní Africe, na Blízkém východě, od jihu USA až do Jižní Ameriky, v Africe a na Madagaskaru, ve Střední Asii, Austrálii



o tzv. fenomén poustevníka. Běžný „nabídkový“ experiment ovšem u drobných forem poskytuje opět nejisté pozorování. To, že živočich sedí na potravě, kterou mu předložíme, a hýbe kusadly (chelicery u roztočů, u hmyzu mandibuly, o ostatních ani nemluvě) nebo dokonce produkuje exkrementy, není ještě zárukou stravitelnosti a skutečné zainteresovanosti na potravě. Na osud potravy musíme nahlédnout do vnitřku střeva nebo exkrementu. Zde pomáhá pracná, ale užitečná metoda – histologie střeva, případně histologie či roztlak exkrementu – včetně fluorescenčního osvětlení a barvení nebo použití konfokálního mikroskopu.

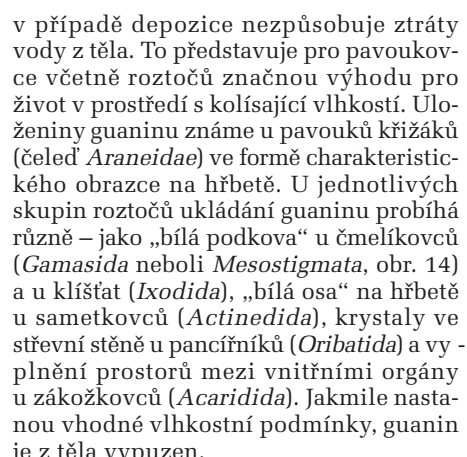
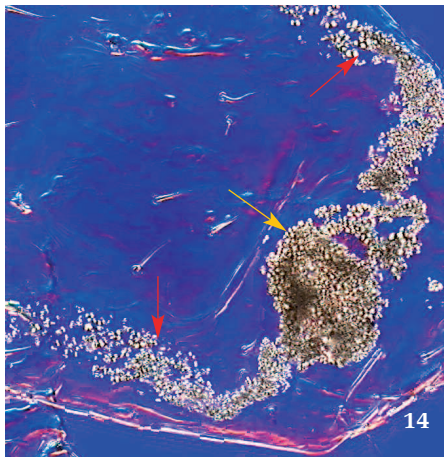
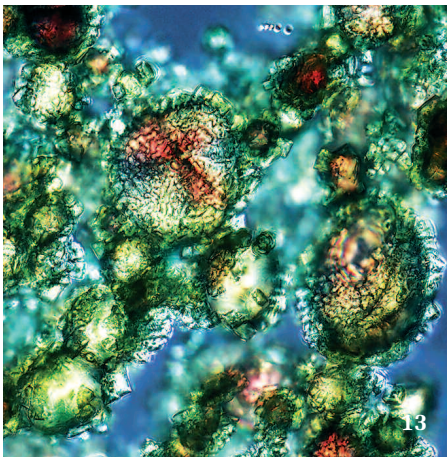
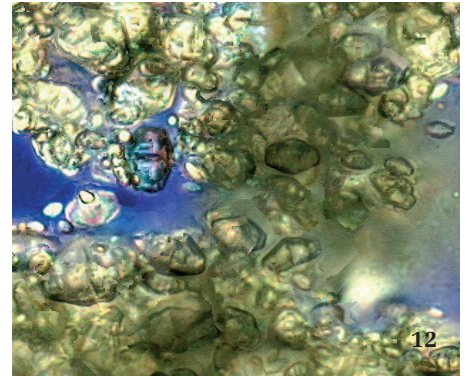
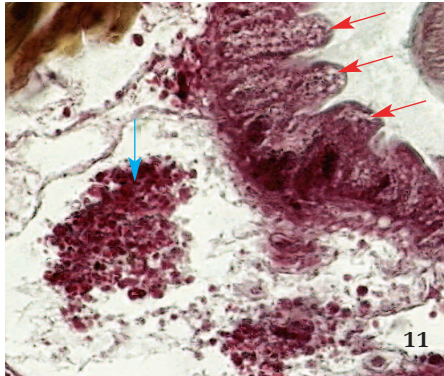
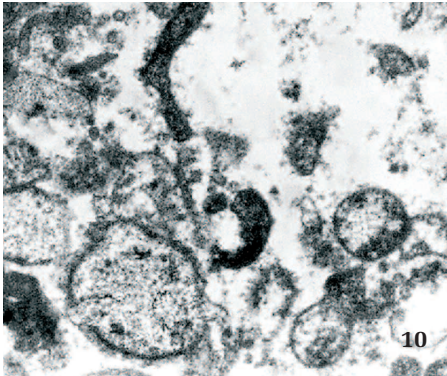
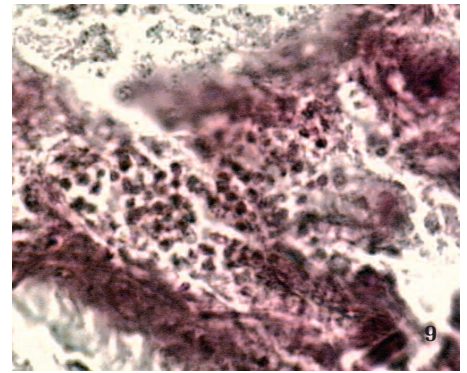
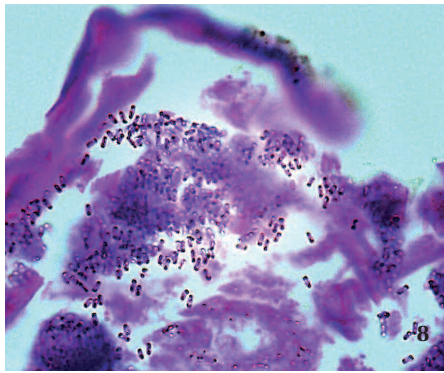
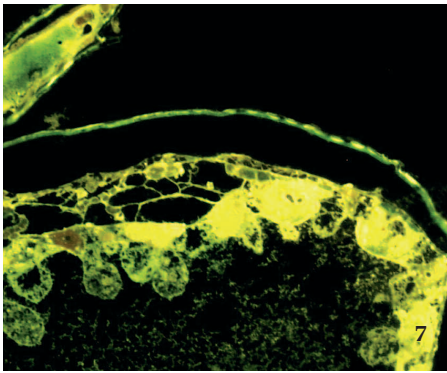
Již základní histologické metody odhalí strukturu potravy v jednotlivých částech střeva, barvením se zdůrazní i natrávení potravy, absence nebo přítomnost obsahu buněk a postupné změny struktury potravy v trávicím traktu. Teprve tehdy můžeme hovořit o skutečném trávení, a tedy získu živin důležitých pro tělo. Ale konzumovaná a trávená potrava se může u daného druhu měnit podle habitatu (stanoviště) a ještě lépe – mikrohabitatů. Pak lze hovořit o specialistovi pro daný mikrohabitat a potravu v něm se vyskytující (obr. 1 a 2), nebo generalistovi, který zdroje také využívá, ale ne vždy důsledně. První se nebude v nepříznivém mikrohabitatě plně rozvíjet a rozmnožovat a dříve či později ho opouští, zejména při změnách některých podmínek. Druhý bude přežívat i za cenu nedůslednosti trávení. Tito generalisté většinou vynikají tolerancí až rezistencí k abiotickým podmínkám. To platí ve velké míře o pomalu se pohybujičích formách (zde třeba roztoči) v kontrastu s rychle migrujícími formami (např. chvostokoci). Existuje ale ještě třetí skupina – silně adaptabilní živočichové. Takoví se „dobře užívají“ i v několika mikrohabitatech s odlišnou nabídkou potravy. Jako příklad si uvedme pancířníka *Achipteria coleoptrata*, který vysoko na stromech konzumuje porosty mechů (obr. 3), zatímco u paty téhož stromu

převládají v jeho střevě silně natrávené mycelium a spory hub dominující v půdě (obr. 4) – obojí se všemi atributy vhodné potravy. Kromě obsahu střeva a jeho prokazatelných změn lze v důsledku trávení registrovat i jeho naplnění ve všech částech, což signalizuje intenzivní konzumaci již na první pohled a rovněž chutnost vhodné potravy. Naplnění jen některých částí střeva, velmi často i různými substráty, svědčí o příležitostném pohlcení, které pochopitelně nemusí vždy vést k důslednému trávení a využívání potravy, především kvůli absenci patřičných enzymů. V tomto ohledu lze využít ke studiu i fluorescenční analýzu exkrementu (obr. 5), v němž se vyskytují strávené, či naopak nestrávené částice.

Pohled do nitra živočicha může přinést i další poznatky. Třeba aktivita stěn střeva projevující se nápadným obsahem enzymových částic a granulí a zejména apokrinní sekrecí stěn. Jde o jeden z typů sekrece, při kterém se odškrtí část buňky s enzymy (nebo obecně s obsahem) a vstoupí do dutiny střeva, kde zmíněný obsah aktivně působí. U potravních specialistů může být tento proces iniciován volně pohyblivými buňkami – hemocyty (obr. 6); u generalistů zatím nezjištěno. Tyto buňky se vyznačují nápadnými vakuolami, v nichž dopravují různé substráty (enzymy, jejich prekurzory), a pak mohou penetrovat mezi buňky střeva a vyvolat jejich aktivitu, např. ve formě sekrece (obr. 7). Podobně jsou hemocyty schopny dopravovat i metabolity.

Hovoříme-li o enzymech, rozlišujeme dva typy podle místa jejich vzniku. Jednak autochtónní, produkované přímo tkáněmi roztoče, což jsou jednoduché enzymy (proteázy, amylázy). Na druhé straně jsou jako potrava využívány látky, které živočichové sami neumějí trávit, aniž by nevstupovali do asociace s jinými organismy – jde tedy o enzymy alochtónní. K nim patří enzymy, které tráví druhý nejčastější přírodní biopolymer – chitin obsažený v buněčné stěně

1 *Melanozetes mollicomus* (pancířníci – *Oribatida*), mezenteron (střední část střeva) s fragmenty mechu. Barvení Massonův trichrom
 2 Mezenteron pancířníka druhu *Belba pseudocorynopos* se spory houby *Alternaria* sp. Barvení Massonův trichrom
 3 a 4 Zástupce pancířníků *Achipteria coleoptrata* – v mezenteronu převažují fragmenty mechu z koruny stromu (obr. 3), v rektu druhého jedince žijícího v půdě u kořenů stromu jsou spory a fragmenty mycelia hub z půdy u paty stromu (4). Massonův trichrom
 5 Roztlakový preparát exkrementu pancířníka *Damaeus onustus* ve fluorescenčním světle: červené větvené vlákno – strávená houba, svítivě zelené body – živé bakterie. Barvení Orange G
 6 Pancířník *Hermannia gibba* – na obr. hemocyt (volně pohyblivá buňka) s vakuolami. Massonův trichrom
 7 Sekreční aktivita stěny střeva u *Tyrophagus putrescentiae* (zákožkovci – *Acaridida*). Tmavé strukturované buňky jsou vlastní buňky střeva vykazující apokrinní sekreci (blíže v textu), kompaktní žluté buňky penetrující hemocyty. Snímek z konfokálního mikroskopu
 8 Bakterie *Bacillus* sp. v bakteriálním tělese okolo střeva u pancířníka *D. onustus*. Barvení Pianese
 9 a 10 Bakteriální těleso blízko střeva u zákožkovce *T. putrescentiae* s bakteriemi *Serratia marcescens*. Při obarvení: Massonův trichrom (obr. 9) a v prozařovacím (transmisním) elektronovém mikroskopu (TEM, obr. 10)
 11 Pancířník *Achipteria coleoptrata*, mezenteron se sekretujícími buňkami stěny (červené šipky) a tzv. rozetou glykogenu (modrá šipka). Massonův trichrom
 12 Krystalu guaninu u zástupce zákožkovců rodu *Histiostoma*. Nomarského interferenční kontrast



13 Rektum klíštěte obecného (*Ixodes ricinus*): kulovité útvary složené z drobných krystalků guaninu.

Nomarského interferenční kontrast

14 Malpighiho trubice (červená šipka) vycházející z rektálního atria (žlutá šipka) druhu *Hemipteroseius adleri* (čmelíkovci – *Gamasida*) s krystaly guaninu. Nomarského interferenční kontrast. Snímky J. Smrže

hub. Ačkoli existuje mnoho mykofágů, žádní živočichové nedisponují vlastními chitinolytickými enzymy. Proto se říká, že houby nejsou dobře stravitelné, leží v žaludku a neměly by se jíst na noc. Ovšem chitinolytickými enzymy vládnou s přehledem mikroorganismy – hlavně bakterie včetně aktinomycet. A právě tyto organismy mohou vstupovat do asociace se zvířecími mykofágy a vytvářet vnitřní tělesa v blízkosti střeva. Tento jev byl potvrzen mimo jiné u roztočů. Prozatím bylo izolováno z roztočů na 12 druhů bakterií produkujících chitinolytické enzymy, které rozkládají houbovou buněčnou stěnu. Většinou na houbových vláknecích v přírodě i žijí, živí se houbovými exudáty (výpotky) a čekají na příslušné narušení houby.

Patří mezi ně rody *Bacillus*, *Serratia*, *Pseudomonas* a jeho příbuzní (obr. 8 až 10). Jejich enzymy jsou dopravovány zmíněnými hemocyty na místo určené – do střeva. S těmito bakteriálními tělesy se však setkáváme hlavně u specializovaných mykofágů. Nepřímým důkazem aktivity trávicí soustavy a vhodnosti potravy může být i výskyt zásobních látek, v případě roztočů glykogenu (obr. 11), který svědčí nejen o trávení, vhodnosti potravy, ale také o jejím dostatku a využití získaných živin pro tvorbu zásob.

Jinou skupinu látek využitelných při detekci potravy představují metabolity, jinak exkrety, které vznikají trávicími, biochemickými procesy v těle. Pro třídu pavoukoců platí, že jejich konečným metabolitem (na rozdíl třeba od savců, charakterizovaných v tomto ohledu močovinou) je guanin. Tento rozpadový produkt purinů tedy známe nejen z genetiky (jeden z pěti základních kamenů nukleových kyselin), ale i z fyziologie. Guanin má značnou výhodu – může se ukládat v těle jako velké (obr. 12) či drobné (obr. 13) nerozpustné krystaly, a tak tělo ušetřit toxického, případně extrémně zásaditého působení odpadních látek dusíkaté povahy. Naopak

v případě depozice nezpůsobuje ztráty vody z těla. To představuje pro pavoukocce včetně roztočů značnou výhodu pro život v prostředí s kolísající vlhkostí. Uloženiny guaninu známe u pavouků křížáků (čeleď *Araneidae*) ve formě charakteristického obrazce na hřbetě. U jednotlivých skupin roztočů ukládání guaninu probíhá různě – jako „bílá podkova“ u čmelíkovců (*Gamasida* neboli *Mesostigmata*, obr. 14) a u klíšťat (*Ixodida*), „bílá osa“ na hřbetě u sametkovců (*Actinedida*), krystaly ve střešní stěně u pancířníků (*Oribatida*) a vyplnění prostorů mezi vnitřními orgány u zákožkovců (*Acaridida*). Jakmile nastanou vhodné vlhkostní podmínky, guanin je z těla vypuzen.

V laboratorním prostředí při konzumaci látek bohatých dusíkem může nahromaděné množství krystalů dokonce mechanicky poškodit vnitřní orgány roztočů („syndrom bílého těla“) a způsobit tak kolaps celé chované populace. Nepřirozená konzumace látek bohatých dusíkem v laboratoři tak vede ke katastrofě. U roztočů v přírodě k těmto jevům nedochází. Podobný příklad nepřijemnosti spojených s ukládáním odpadních látek známe i z historie člověka – vzpomeňme si na obávanou dnu, nemoc častou především ve středověku, postihující feudály a mnichy živící se nadbytkem masité potravy. I zde působí v kloubech nahromaděné krystaly jiného rozkladného purinového produktu – xanthinu – bolestivou a následně sníženou pohyblivost.

Je zřejmé, že pro skutečně důkladné studium potravní biologie se musíme zabývat detaily. Samozřejmě, některé laboratoře používají další náročné metody (např. analýzu stabilních izotopů nebo mastných kyselin), ale i tyto metody mají své specifické chyby. Uzavřeme tedy problém celkem logickým tvrzením: každá metoda přináší své výsledky, má výhody i nevýhody a pouze jejich syntézou se dopravujeme hlubšího poznání.