



# **Evoluční strategie v biomineralizaci schránek zástupců kmene Mollusca: Mikromechanické vlastnosti schránek a jejich vztah k prostředí**

autoreferát doktorské disertační práce

PRAHA 2015

**AUTOR: Iva HRABÁNKOVÁ**  
Katedra geoenvironmentálních věd

**FAKULTA ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ**

Doktorská disertační práce **„Evoluční strategie v biomineralizaci schránek zástupců kmene Mollusca: Mikromechanické vlastnosti schránek a jejich vztah k prostředí“** byla vypracována v rámci doktorského studia na katedře geoenvironmentálních věd Fakulty životního prostředí České zemědělské univerzity v Praze.

Uchazeč: Iva Hrabánková

Obor: Aplikovaná a krajinná ekologie

Školitel: prof. RNDr. Jiří Frýda, Dr.

Oponenti:

doc. RNDr. Michal Mergl, CSc. (ZČU v Plzni, FPE)

RNDr. Petr Budil, Ph.D. (ČGS)

Mgr. Marika Polechová, Ph.D. (ČGS)

Obhajoba disertační práce se koná dne 27. srpna 2015 v 11:00 hodin, v místnosti Z 234 Fakulty životního prostředí České zemědělské univerzity v Praze, Kamýcká 129, Praha 6 - Suchbátka.

**ABSTRAKT:**

Předložená disertační práce se zabývá studiem mikromechanických vlastností (mikrotvrdotí a elastickým modulem) vybraných mikrostruktur schránek měkkýšů a jejich vztahem ke krystalografické textuře schránek a k životnímu prostředí. Výsledky studie naznačily, že extrémní hydrostatický tlak má poměrně malý vliv na zkoumané vlastnosti kalcitových i aragonitových vrstev schránek měkkýšů. Nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi mikrotvrdotí a elastickým modulem perleti mlžů žijících v mořském a sladkovodním prostředí. Byla však zjištěna statisticky významná pozitivní korelace mezi těmito mikromechanickými vlastnostmi a tloušťkou aragonitových destiček tvořících perleť. Velmi neočekávaným zjištěním je skutečnost, že míra uspořádání aragonitových destiček negativně koreluje s hodnotami mikrotvrdoti a elastického modulu perleti a vysvětluje zhruba z 80 % variability těchto hodnot. Statisticky významná, ale slabší korelace, byla zjištěna i mezi mikromechanickými vlastnostmi a texturním typem perleti. Mlži s jednoosou texturou perleti mají tvrdší a pružnější perleť, než mlži s quasimonokrystalickou texturou. Tato data naznačují, že primitivnějším stavem perleti mlžů je její větší tvrdost a pružnost a v průběhu další evoluce mlžů se hodnoty těchto veličin snižovaly. Tento trend je však v rozporu s obecně přijímanou hypotézou o růstu predačního tlaku v mořském ekosystému v průběhu paleozoika a mesozoika.

**Klíčová slova:** Mollusca; mikrotvrdot a elastický modul; perleť; mikrostruktura; krystalografická textura; fylogeneze.

**ABSTRACT:**

This thesis deals with the micromechanical properties (microhardness and elastic modulus) of selected molluscan shell microstructures and their relationship to crystallographic textures and environment. Results of the study suggest that extremely high hydrostatic pressure has a relatively weak influence on the mechanical properties of calcitic as well as aragonitic shell layers. No statistically significant difference was found in microhardness and elastic modulus of nacre between bivalvian species living in marine and freshwater environments. On the other hand, the study reveals a statistically significant positive correlation between the micromechanical properties and thickness of aragonitic platelets

forming the nacre. Unexpected result is a negative correlation of the degree of ordering of aragonitic platelets with both elastic modulus as well as microhardness. Thus the degree of ordering explains about 80% of the variability of these micromechanical properties. Statistically significant but weaker correlation was also found between micromechanical properties and textural type of bivalvian nacre. The nacre with uniaxial texture is harder and more elastic than the nacre with quasimonocrystallic texture. The data suggests that higher hardness and elasticity corresponds to a primitive state of nacre and that during the subsequent evolution values of these micromechanical properties were decreasing. This trend contradicts with generally accepted hypothesis of increasing predation pressure in the marine ecosystem during the Paleozoic and Mesozoic.

**Keywords:** Mollusca; microhardness and reduced elastic modulus; nacre; microstructure; crystallographic texture; phylogeny.

## OBSAH

1	ÚVOD .....	5
2	CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE .....	8
3	METODIKA .....	9
4	VÝSLEDKY A DISKUZE .....	12
4.1	Porovnání elastického modulu a mikrotvrdosti dvou odlišných mikrostruktur, kalcitové a aragonitové, u vybraných měkkýšů žijících ve výrazně odlišných fyzikálních podmínkách – <i>modelová studie</i> .....	12
4.2	Porovnání elastického modulu a mikrotvrdosti anorganického aragonitu a perleti mlžů s odlišnou krystalografickou texturou a analýza vlivu anizotropie na měřené mikromechanické veličiny.....	14
4.2.1	Analýza vlivu anizotropie na měřené mikromechanické veličiny.....	14
4.2.2	Porovnání hodnot elastického modulu a mikrotvrdosti perleti a aragonitu .....	17
4.3	Elastický modul a mikrotvrdost perleti mlžů z odlišných životních prostředí a analýza vztahu mikromechanických veličin k mikrostrukturním a texturním charakteristikám perleti.....	20
5	ZÁVĚR .....	25
6	CITOVANÁ LITERATURA.....	28
7	ODBORNÝ ŽIVOTOPIS .....	33
8	PUBLIKAČNÍ ČINNOST .....	34

## 1 ÚVOD

Kmen Mollusca patří k nejvíce diverzifikovaným skupinám živočichů, což platilo již na počátku jejich evoluce před více než 500 miliony lety a stejně tak i po celou dobu jejich existence až do současnosti. Měkkýši jsou druhým nejpočetnějším kmenem živočišné říše (Ruppert a kol. 2004; Bouchet a kol. 2005). V průběhu své dlouhé evoluce kolonizovali měkkýši všechna životní prostředí. Svým vývojem se přizpůsobili zcela rozdílným podmínkám akvatických i terestrických biotů. Výskyt měkkýšů byl zaznamenán od nížin po vysokohorské oblasti, běžně se vyskytují v humidních až aridních oblastech tropů až po subarktické biotopy. Počátek tohoto kmene sahá do kambria, kdy došlo ke vzniku většiny tříd a jejich rychlé radiaci v průběhu počátku ordoviku. Důsledkem dávné a rychlé fylogeneze ve starších prvohorách a následné dlouhé evoluce měkkýšů je zřejmá absence dostatečného fylogenetického signálu v genomu současných měkkýšů. Molekulární data žijících měkkýšů jsou tedy jen těžko použitelná pro studium vyšší fylogeneze kmene Mollusca (Ponder a Lindberg 1997, 2008; Passamaneck a kol. 2004; Giribet a kol. 2006; Giribet 2008; Dreyer a Steiner 2004; Boore a kol. 2004; McArthur a Harasewych 2003). Použití molekulárních dat recentních měkkýšů pro analýzu fylogeneze všech hlavních linií měkkýšů na úrovni řádu značně komplikuje i fakt, že většina těchto skupin je dnes vymřelá (Bouchet a kol. 2005).

Pochopit evoluci a fylogenetické vztahy měkkýšů není tedy možné bez studia fosilních druhů, jejichž schránky jsou cenným zdrojem fylogenetických informací. Schránka je často používána jako jediný zdroj charakteristických znaků pro stanovení jednotlivých taxonomických úrovní (viz *Treatise on Invertebrate Paleontology*, 1953-2015, University of Kansas, online). Řada morfologických znaků je však nesmírně konzervativních a může být použita i pro studium fylogeneze hlavních linií měkkýšů.

Pro pochopení fylogeneze fosilních a žijících měkkýšů je třeba hledat další znaky. Jedním z dosud málo využívaných informačních zdrojů o fylogenezi měkkýšů jsou data o vnitřní struktuře a textuře jejich schránek, přestože tato data poskytují množství cenných informací. Pro fylogenetické studie je důležitá především extrémní časová stabilita strukturních a texturních znaků schránek. Řada mikrostrukturních typů je doložena již od ordoviku a kambria (Vendrasco a kol.

2011; Runnegar 1985). Rovněž extrémní časová stabilita textury schránek je značná. Byla například doložena existence stejného mikrostrukturního a texturního typu perleti u řádu Vetigastropoda po dobu více než 200 milionů let (Frýda a kol. 2009).

Jednou z nejstarších a zároveň velmi rozšířenou strukturou schránek kmene Mollusca je perleť, vyskytující se v několika typech pouze u této skupiny živočichů. Perleť se vyvinula u čtyř z osmi existujících tříd měkkýšů, a to u tříd Gastropoda, Bivalvia, Cephalopoda a Monoplacophora (Ponder a Lindberg 2008).

Nejběžnějším a zároveň také prastarým typem mikrostruktury schránek měkkýšů je lamelární mikrostruktura (označovaná jako cross-lamellar structure). Tento mikrostrukturní typ je doložen již od karbonu, stejně jako perleť, tedy zhruba 300 milionů let (Batten 1984; Bandel a kol. 2002). Podobně jako u perleti je i evoluce lamelární mikrostruktury velmi nedostatečně známa. Informace o vlastnostech a vývoji ostatních typů mikrostruktur jsou často téměř nulové.

Každá schránka měkkýšů je dokonale uspořádaným nanokompozitem složeným z mikrokrystallů uhličitanu vápenatého (často aragonitu a kalcitu současně) a menšího množství různých organických látek (Wada 1972; Marin a Luquet 2004; Addadi a kol. 2006; Marin a kol. 2008). Tyto organické látky se podílí na vzniku velmi složité mikrostruktury a krystalografické textury schránek měkkýšů.

Vnitřní stavbu schránek měkkýšů můžeme zkoumat různými způsoby, ale v principu studujeme dvě nezávislé vlastnosti – mikrostrukturu a texturu schránek. Mikrostruktura schránek měkkýšů je zkoumána již téměř sto let (Bøggild 1930), ale intenzivní výzkum je spojen až s použitím elektronové mikroskopie. Mezi měkkýši se mikrostrukturní vzory značně liší a pravděpodobně nejsložitější mikrostrukturní vzory jsou u řádu Patellogastropoda. Vznik určitého typu mikrostruktury a krystalografické textury, na kterém se podílí mikrokrystalky uhličitanu vápenatého (aragonitu nebo kalcitu) a další menší množství organických látek, je řízen genomem (Addadi a kol. 2006; Marin a kol. 2008).

Stavba perleti vede k pozoruhodným mechanickým vlastnostem ve srovnání s monokrystalickým materiálem (Li a kol. 2004; Meyers a kol. 2008; Liang a kol.

2008). Studiu perleti, jako modelového materiálu, byla věnována řada vědeckých prací, které analyzovaly vybrané mechanické vlastnosti u různých zástupců kmene Mollusca (např. Li a kol. 2004; Bruet a kol. 2005; Barthelat a kol. 2006). Heinemann a kol. (2011) ukázali, že periodickým uspořádáním biokrystalků a organické hmoty do specifické struktury vznikají pozoruhodné až dokonalé mechanické vlastnosti schránek měkkýšů. Velmi důležitým faktorem ovlivňujícím vznik vynikajících mechanických vlastností perleti je silné spojení mezi aragonitovými destičkami perleti a organickou hmotou (viz také Meyers a kol. 2008).

Hodnoty mikrotvrdosti a elastického modulu jsou však u naprosté většiny mikrostruktur měkkýších schránek neznámé. První testy nanoindentační metody ukázaly, že hodnoty mikrotvrdosti a elasticity jsou velmi ovlivněny jak mikro, tak nanostrukturou (tj. strukturou vlastních biokrystalků) schránek (Bruet a kol. 2005; Katti a kol. 2006). Navíc naše první data naznačila, že schránky s identickou mikrostrukturou, ale odlišnou krystalografickou texturou mají odlišné hodnoty mikrotvrdosti a elastického modulu (Frýda a kol. 2013).



## 2 CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE

Hlavním cílem disertační práce je určit dvě významné mikromechanické charakteristiky schránek, elastický modul a mikrotvrдость, pomocí nanoindentačních zkoušek u vybraných základních mikrostruktur schránek měkkýšů. Jako modelové mikrostruktury byly vybrány dvě nejrozšířenější a pravděpodobně také nejprimitivnější mikrostruktury tvořené aragonitem, perleť (nacre) a lamelární (crossed lamellar) mikrostruktura, a jedna kalcitová mikrostruktura označovaná v anglosaské literatuře jako „semifoliated mikrostructure“. Další cílem disertační práce je analyzovat vztah elastického modulu a mikrotvrđosti perleti k mikrostrukturním a texturním parametrům a k prostředí života studovaných měkkýšů. Cílem této analýzy je zjistit, které faktory determinují studované mikromechanické vlastnosti perleti.

Pro disertační práci byly stanoveny následující cíle:

- i. Určit a porovnat elastický modul a mikrotvrđost dvou odlišných mikrostruktur, kalcitové a aragonitové, u vybraných měkkýšů žijících ve výrazně odlišných fyzikálních podmínkách.
- ii. Určit a porovnat elastický modul a mikrotvrđost anorganického aragonitu a aragonitové perleti mlžů s odlišnou krystalografickou texturou a analyzovat vliv anizotropie aragonitu na měřené mikromechanické veličiny.
- iii. Určit elastický modul a mikrotvrđost perleti mlžů z odlišných životních prostředí a analyzovat vztah mikromechanických veličin k mikrostrukturním a texturním parametrům perleti.

### 3 METODIKA

Pro studium mikrostruktury byli vybráni zástupci kmene Bivalvia a Gastropoda. Z kmene plžů byli vybráni tři zástupci fylogenetické linie Patellogastropoda: *Limalepeta lima*, *Nipponacmea concinna* a *Pectinodonta orientalis*.

Z kmene Bivalvia bylo vybráno jedenáct druhů, z nichž dva druhy (*Mytilus edulis* a *Pinna nobilis*) byly zastoupeny dvěma jedinci. Celkem tedy třináct zástupců následujících druhů: *Amblema plicata*, *Brachidontes rostratus*, *Leptodea fragilis*, *Modiolus barbatus*, *Mytilus californianus*, *Mytilus edulis*, *Mytilus galloprovincialis*, *Nucula nucleus*, *Pinctada radiata*, *Pinna nobilis*, *Quadrula apiculata*.

Do této studie bylo zařazeno a studováno celkem 16 jedinců.

#### Zástupci kmene Mollusca vybraní pro studii:

zástupci	oblast	vzorek č.
<b>Gastropoda</b>		
<i>Limalepeta lima</i>	Tichý oceán, Japonsko	62
<i>Nipponacmea concinna</i>	Tichý oceán, Japonsko	55
<i>Pectinodonta orientalis</i>	Tichý oceán, Japonsko	63
<b>Bivalvia</b>		
<i>Amblema plicata</i>	Texas, USA	121
<i>Brachidontes rostratus</i>	Tichý oceán, Austrálie	115
<i>Leptodea fragilis</i>	Texas, USA	122
<i>Modiolus barbatus</i>	Jaderské moře, Slovinsko	104
<i>Mytilus californianus</i>	Tichý oceán, USA	116
<i>Mytilus edulis</i>	Severní moře, Norsko	103
<i>Mytilus edulis</i>	Kanál La Manche, Anglie	106
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Jaderské moře, Chorvatsko	105
<i>Nucula nucleus</i>	Středozemní moře, Španělsko	110
<i>Pinctada radiata</i>	Egejské moře, Řecko	101
<i>Pinna nobilis</i>	Středozemní moře, Španělsko	108
<i>Pinna nobilis</i>	Jaderské moře, Slovinsko	109
<i>Quadrula apiculata</i>	Texas, USA	123

- **Příprava vzorků**

Vybrané vzorky schránek plžů a mlžů byly připraveny pro studii jejich vnitřní struktury v laboratoři České geologické služby. Každý orientovaný vzorek schránky byl fixováním do pryskyřice Epofix ve tvaru válce o průměru přibližně 30 mm. Následně byl vzorek broušen postupně jemnějším karborundem, po té také diamantovými spreji o zrnitosti 3 až 0,25  $\mu\text{m}$ . V poslední fázi leštění byla použita zrnitost 0,05  $\mu\text{m}$ . Doba trvání jednotlivých fází se pohybuje v rozmezí několika minut, mezi něž je zařazeno omývání a čištění v ultrazvukové lázni. Celková doba přípravy a leštění vzorku je závislá na náročnosti a kvalitě materiálu.

- **SEM**

Ke studiu mikrostruktury studovaných schránek byla použita metoda skenovací elektronové mikroskopie. Pozorování studovaných vzorků ve skenovacím elektronovém mikroskopu bylo provedeno na SEM japonské firmy JEOL-6380LV na přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy. Při prohlížení preparátů bylo většinou použito urychlovací napětí 15 kV. Pozorované části schránky byly snímkovány a ukládány v digitální podobě.

- **EBSD**

V předložené práci byla metoda EBSD využita pro stanovení krystalografické textury perleti mlžů, kterou tvoří krystaly aragonitu. Tato metoda se využívá ke studiu krystalografické orientace materiálů a objasnění textury krystalického či polykrystalického materiálu či k identifikaci těchto materiálů. Předností metody EBSD je spojení mezi texturou a krystalografií.

- **Nanoindentační zkouška**

Pro určení elastického modulu a mikrotvrdomosti byla použita metoda indentační zkoušky, používaná k mechanickým zkouškám materiálového inženýrství. K výpočtu tvrdosti a elastického modulu z těchto dat se v současnosti nejčastěji používá metoda navržená Oliverem a Pharrm (1992).

Vlastní měření byla prováděna na zařízení Hysitron IT 950 TriboIndenter kvazi-statickou nanoindentací operátorem tohoto zařízení dle parametrů, které byly vybrány na základě studia literatury. Pro studium anizotropie byl naplánován

experiment, který vyžaduje měření úhlů rotace vzorku podle osy kolmé k povrchu vzorku.

Topografie povrchu vzorků sledované oblasti o velikosti  $20 \times 20 \mu\text{m}$  byla naskenována pomocí *in-situ* SPM. Následně byla na naskenovaném snímku zvolena a označena místa pro indexaci pomocí tzv. „click skript“ a aplikována funkce piezo automatického módu, která umístí indenty s chybou  $< 10 \text{ nm}$ . U všech experimentů byla tloušťka testované vrstvy  $1 \mu\text{m}$  a maximální zatěžovací síla stanovena na  $1\,000 \mu\text{N}$ , která dle normy odpovídala hloubce vpichu ( $h_{\text{max}} < 100 \text{ nm}$ ). Zatěžovací funkce (zatěžování, konstantní síla a odlehčování) byly stanoveny na  $5 \times 2 \times 5$  sekund. V těchto časových intervalech byl zatěžován testovaný materiál. Při vytahování hrotu z materiálu se v důsledku elasticity vrací zpět, tím tlačí do hrotu silou, která je přístrojem zaznamenána. Mikrotvrdost  $H$  [GPa] a elastický modul  $E$  [GPa] se pak vyhodnocuje dle metody Olivera a Pharra (1992).

## 4 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 4.1 Porovnání elastického modulu a mikrotvrdosti dvou odlišných mikrostruktur, kalcitové a aragonitové, u vybraných měkkýšů žijících ve výrazně odlišných fyzikálních podmínkách – *modelová studie*

Cílem modelové studie bylo použít takové druhy, které mají stejnou mikrostrukturu studovaných kalcitových či aragonitových vrstev tvořících jejich schránku. Struktura vzácných (tj. těžko dostupných) hlubokovodních druhů tedy omezila výběr možných druhů z mělkovodního prostředí. Do experimentu byly zařazeny následující druhy (tab. 1).

**Tabulka 1** – Vybraní zástupci skupiny Patellogastropoda.

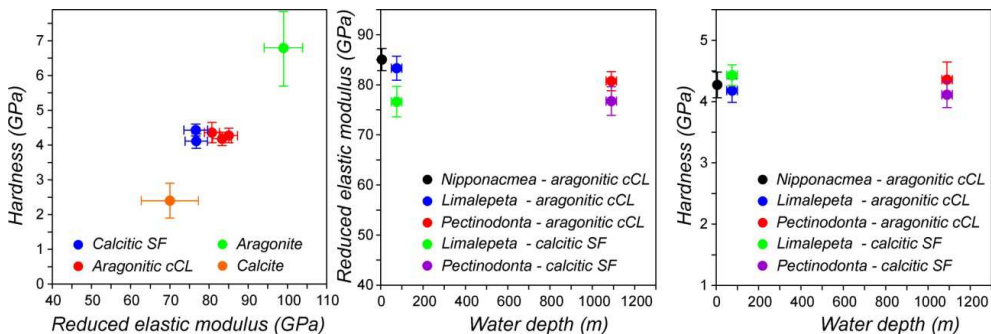
Studovaný druh	Hloubka	Studovaná vrstva
<i>Nipponacmea concinna</i> (Lischke, 1870)	5 m	aragonitová cCL
<i>Limalepeta lima</i> (Dall, 1918)	50 - 100 m	aragonitová cCL
<i>Limalepeta lima</i> (Dall, 1918)	50 - 100 m	kalcitová SF
<i>Pectinodonta orientalis</i> Schepman, 1908	1 092 - 1 094 m	kalcitová SF
<i>Pectinodonta orientalis</i> Schepman, 1908	1 092 - 1 094 m	aragonitová cCL

Nanoindentační zkoušky byly podrobeny tři vzorky schránek druhů *Nipponacmea concinna*, *Limalepeta lima* a *Pectinodonta orientalis* s identickou aragonitovou cCL strukturou – označovanou v anglicky psaných publikacích jako “concentric Crossed Lamellar structure”, která je první vrstvou nad myostrakem (Fuchigami a Sasaki 2005).

K výzkumu kalcitové vrstvy mohly být použity pouze dva vzorky, *Limalepeta lima* a *Pectinodonta orientalis*, s kalcitovou SF mikrostrukturou – označovanou v anglicky psaných publikacích jako “semifoliated structure”, která se nachází v pozici druhé vrstvy nad myostrakem (Fuchigami a Sasaki 2005). U třetího zkoumaného druhu, *Nipponacmea concinna*, se tato vrstva nevyskytuje.

Na základě provedených měření a následné analýzy výsledků studie bylo zjištěno, že aragonitové vrstvy schránek vybraných druhů mají významně nižší hodnoty tvrdosti (H) a elasticity (E), než jsou naměřené hodnoty anorganického

aragonitu. Naopak v porovnání s mikromechanickými vlastnostmi anorganického kalcitu, vykazují kalcitové vrstvy biogenního materiálu zřetelně vyšší hodnoty elasticity (E) a téměř dvojnásobné hodnoty tvrdosti (H). Obdobná pozorování již byla publikována (viz Merkel a kol. 2009).



**Obrázek 1** – Vztah mechanických vlastností (mikrotvrdość a elastický modul) biogenního aragonitu a kalcitu, a vztah těchto vlastností k hloubce vody (Hrabánková a kol. 2013).

Výsledky studie vlivu prostředí na mikromechanické vlastnosti schránek měkkýřů ukázaly, že hloubka vody nemá žádný nebo má jen minimální vliv na mechanické vlastnosti biogenních karbonátů hlubokomořského druhu *Pectinodonta orientalis*. Toto zjištění potvrzuje hypotézu o raném osídlení hlubokomořského prostředí tímto druhem (Nakano a Ozawa 2004).

Výsledky modelové studie vlivu prostředí na mikromechanické vlastnosti schránek měkkýřů byly již publikovány v časopise (*Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering* (IF pro rok 2013: 1.793):

**HRABÁNKOVÁ, I.; FRÝDA, J.; ŠEPITKA, J.; SASAKI, T.; FRÝDOVÁ, B.; LUKEŠ, J.** (2013). Mechanical properties of deep-sea molluscan shell. *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, Vol. 16, No. S1: pp 287 - 289.

## 4.2 Porovnání elastického modulu a mikrotvrlosti anorganického aragonitu a perleti mlžů s odlišnou krystalografickou texturou a analýza vlivu anizotropie na měřené mikromechanické veličiny

Mlži (Bivalvia) byli vybráni jako modelová skupina pro plánovaný výzkum, protože jsou jedinou skupinou s perletí se zástupci ze dvou odlišných prostředích, v moři a ve sladkých vodách. Žádný sladkovodní ani suchozemský gastropod nemá vyvinutou perleť.

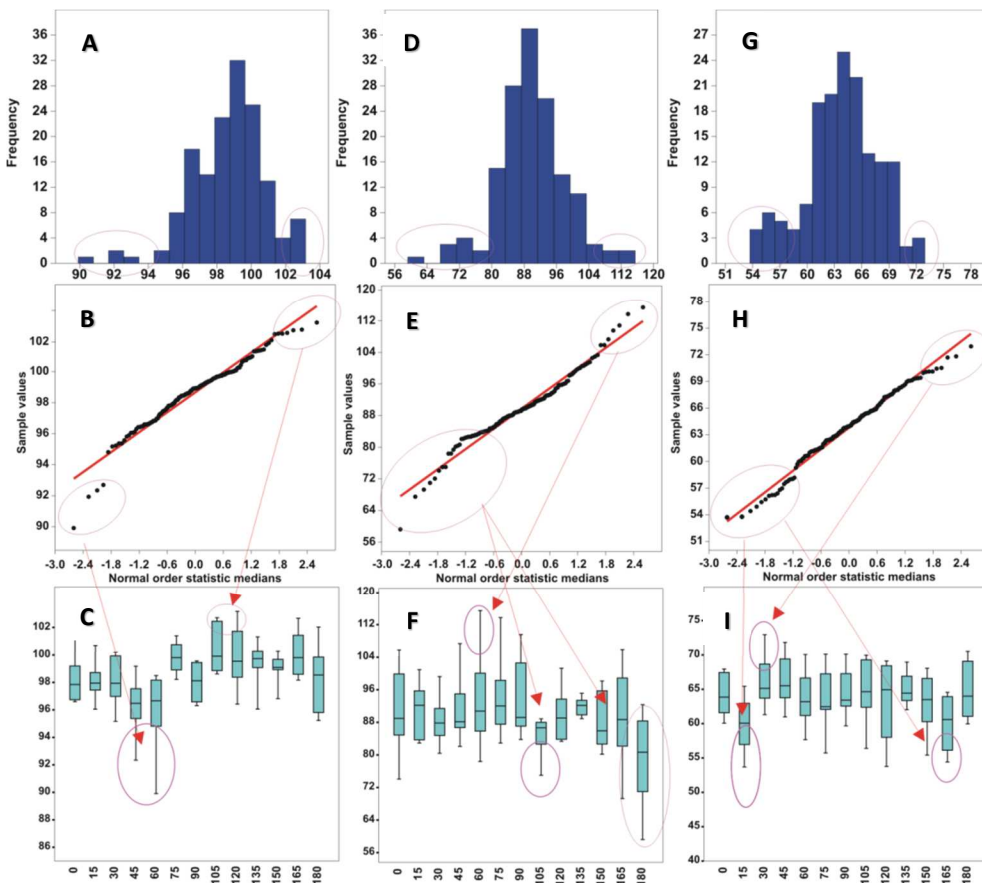
Před měřením hodnot elastického modulu a mikrotvrlosti perleti u různých měkkýšů bylo třeba testovat, jak je měření těchto mikromechanických hodnot ovlivněno anizotropií aragonitu a krystalografickým uspořádáním (tj. texturou) perleti. Byly stanoveny dva dílčí cíle:

- A. testovat vliv anizotropie aragonitu vzorku na měřené hodnoty elastického modulu a mikrotvrlosti;
- B. porovnat hodnoty elastického modulu a mikrotvrlosti perleti a aragonitu.

### 4.2.1 Analýza vlivu anizotropie na měřené mikromechanické veličiny

Test vlivu orientace Berkovichovy pyramidy na měřené hodnoty elastického modulu a mikrotvrlosti byl navržen tak, že měřený vzorek byl po každé provedené nanoindentační zkoušce otočen o  $15^\circ$  podle osy kolmé k povrchu vzorku pomocí goniometrického stolku. Tyto kroky byly provedeny v rozmezí  $0^\circ$  až  $180^\circ$ . Tím bylo provedeno 13 nanoindentačních zkoušek na každém vzorku.

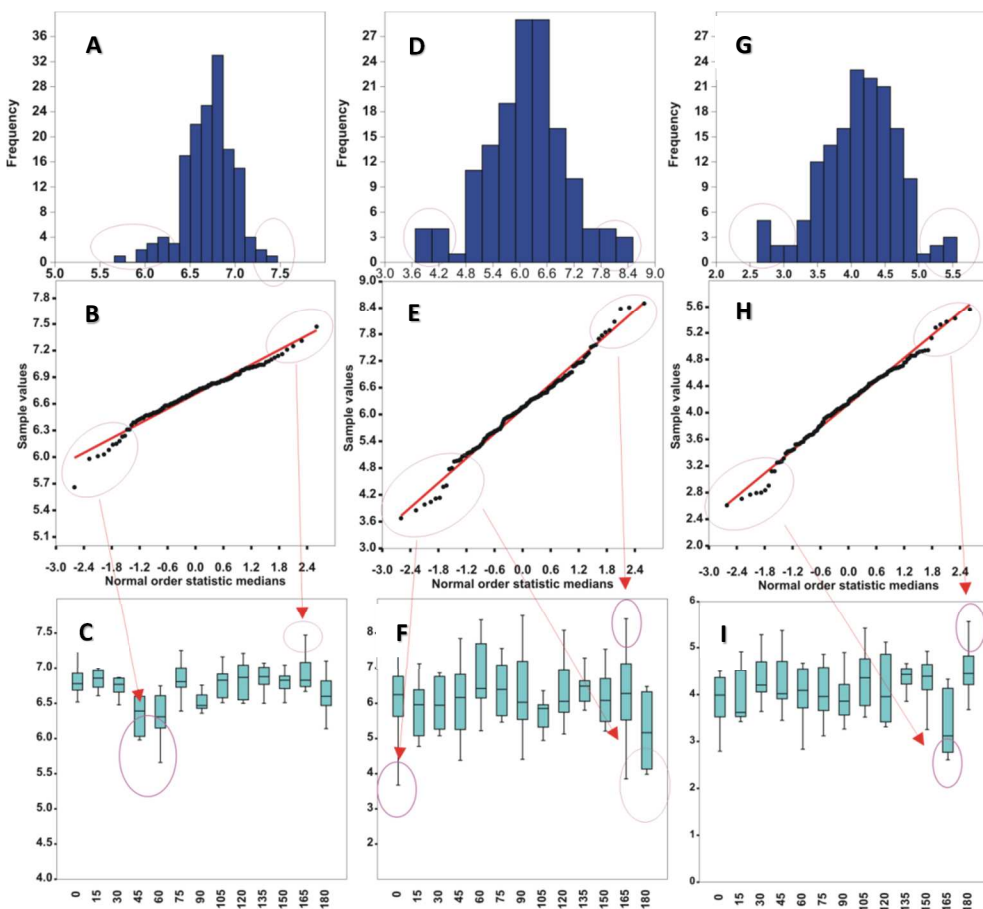
Výsledky měření vykazují značný rozptyl hodnot elastického modulu a mikrotvrlosti u všech měřených vzorků (viz obrázky 2 a 3).



**Obrázek 2** - Měření hodnoty elastického modulu aragonitu (A-C) a perleti druhů *Nucula nucleus* (D-F) a *Pinctada radiata* (G-I) zobrazené v histogramu (A, D a G), v pravděpodobnostním diagramu (Q - Q plot) pro normální rozdělení (B, E a H) a v krabicovém diagramu (C, F a I).

Provedená analýza vlivu orientace vzorku na měřené hodnoty ukázala, že soubory měření pro některé rotace se statisticky významně liší od hodnot ostatních rotací. Detailní rozbor důvodů těchto rozdílů ve středních hodnotách (průměru či mediánu) ukázal, že důvodem jsou extrémní hodnoty, pro které nebyl nalezen jednoznačný důvod pro jejich vyloučení, například z důvodu silného pop-in efektu.





**Obrázek 3** - Měřené hodnoty mikrotvrlosti aragonitu (A-C) a perleti druhů *Nucula nuculus* (D-F) a *Pinctada radiata* (G-I) zobrazené v histogramu (A, D a G), v pravděpodobnostním diagramu (Q - Q plot) pro normální rozdělení (B, E a H) a v krabicovém diagramu (C, F a I).

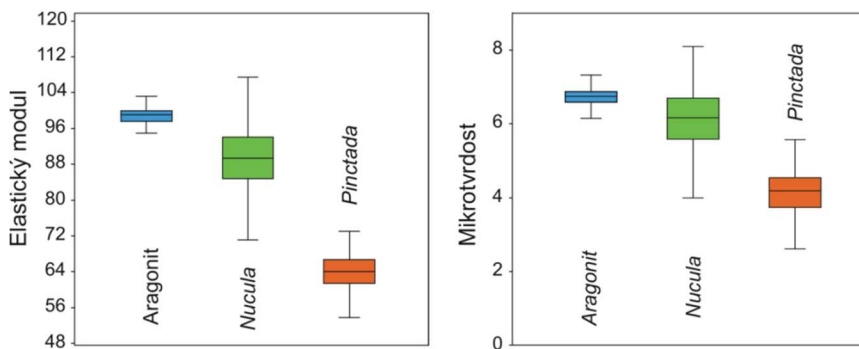
Například pro měření mikrotvrlosti aragonitu (obrázek 3) je z histogramu zřejmá (obrázek 3 A) poměrně početná skupina měření s hodnotami okolo 6 GPa. Tyto hodnoty se zřetelně odchylojí v pravděpodobnostním diagramu (Q - Q plotu) od očekávaného normálního rozdělení (obrázek 3 B). Z krabicového diagramu (obrázek 2 C) je vidět, že tyto hodnoty jsou ze souborů pro rotaci 45° a 60°. Podobně i v ostatních případech lze doložit, že příčiny neshody ve středních hodnotách mezi měřeními soubory mají na svědomí extrémní hodnoty, které jsou i z hlediska teoretického normálního rozdělení anomální (viz obrázky 2 B, E a H a 3

B, E a H). Po vyloučení těchto extrémních hodnot a následném opakování testů shody středních hodnot, můžeme konstatovat, že neexistuje statisticky významné ovlivnění měřených hodnot rotací vzorku (tj. anizotropií). Všechny vyloučené extrémní hodnoty (tj. hodnoty ovlivněné pop-in efektem či extrémní hodnoty ležící mimo přímkou v Q-Q diagramu) reprezentují méně než 5 % všech měřených hodnot.

Po vyloučení všech extrémních hodnot elastického modulu či mikrotvrlosti u aragonitu a perleti druhů *Nucula nucleus* a *Pinctada radiata* prokázala následná analýza neexistenci závislosti hodnoty měření na rotaci vzorku vůči Berkovichově pyramidě. Důvody pro vznik extrémních hodnot nejsou dosud objasněny a společně s pracovníky nanoindentační laboratoře plánují publikaci metodické práce zaměřené na toto téma. Je třeba si uvědomit, že nanoindentační zkouška je časově i finančně náročná a z tohoto důvodu je obvykle prováděno jen několik málo indentů pro charakteristiku různých materiálů. Provedený experiment na aragonitu a perleti dvou druhů (celkově reprezentující 156 indentů na vzorek) je naprosto anomální vysokým počtem měření. Tento výsledek ovlivnil i další plánovaná měření perleti. Každý vzorek byl pro jistotu měřen 2 x 16 indenty a ve dvou orientacích 0° a 30°.

#### 4.2.2 Porovnání hodnot elastického modulu a mikrotvrlosti perleti a aragonitu

Výše popsaný experiment poskytl rovněž data pro porovnání hodnot elastického modulu a mikrotvrlosti perleti a aragonitu (obrázek 4).

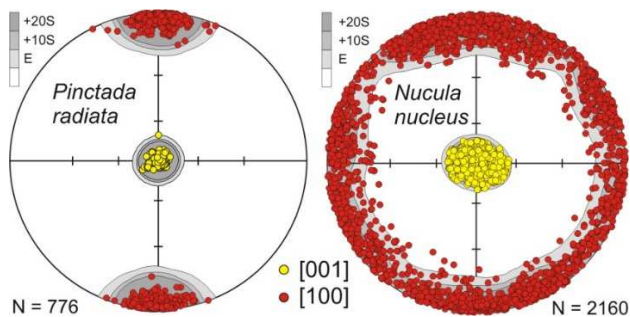


**Obrázek 4** - Měření hodnoty elastického modulu a mikrotvrlosti aragonitu a perleti druhů *Nucula nucleus* a *Pinctada radiata* zobrazené v krabicovém diagramu.

Perleť druhů *Nucula nucleus* a *Pinctada radiata* má stejnou mikrostrukturu (tj. tvar krystalků aragonitu). Jak ale ukázalo předchozí studium metodou difrakce zpět odražených elektronů (EBSD), perleť druhů *Nucula nucleus* a *Pinctada radiata* je velice odlišná v krystalografické orientaci jednotlivých destiček (krystalků) aragonitu v perleti (Frýda a kol. 2010).

U druhu *Nucula nucleus* jsou jednotlivé krystalky aragonitu v perleti orientovány tak, že jejich krystalografické osy **c** (tj. směr [001] jsou rovnoběžné a kolmé k povrchu schránky (žluté body v obrázku 2) a krystalografické osy **a** (tj. směr [100] červené body v obrázku 5) a **b** jsou orientovány náhodně. Krystalografická textura perleti u druhu *Nucula nucleus* může být označena jako jednoosá textura. U druhu *Pinctada radiata* jsou jednotlivé krystalky aragonitu v perleti orientovány rovněž tak, že jejich krystalografické osy **c** (tj. směr [001] jsou rovnoběžné a kolmé k povrchu schránky (žluté body v obrázku 5), avšak i orientace krystalografických os **a** (tj. směr [100] červené body v obrázku 5) a **b** je uspořádána (viz obrázek 5). Všechny osy jednotlivých krystalků aragonitu v perleti druhu *Pinctada radiata* jsou rovnoběžné a krystalografická textura této perleti může být označena jako „quasimonokrystal“. Tato textura je tedy nejbližší monokrystalu aragonitu, který je jako každý přírodní krystal tvořen malými doménami s identickou orientací krystalografických os.

Uskutečněná měření hodnot elastického modulu a mikrotvrdosti aragonitu a perleti druhů *Nucula nucleus* a *Pinctada radiata* (obr. 4 a 5), naznačila, že aragonit má vyšší elastický modul a mikrotvrdost než perleť (obr. 4).



**Obrázek 5** - Orientace jednotlivých destiček (krystalků) aragonitu v perleti u druhů *Nucula nucleus* a *Pinctada radiata* promítnutá ve sférické projekci (Frýda a kol. 2013).

Výsledky statistického šetření prokázaly statisticky významný rozdíl mezi středními hodnotami elastického modulu i mikrotvrdosti aragonitu a perleti druhů *Nucula nucleus* a *Pinctada radiata*. Významným výsledkem je zjištění velkého rozdílu v hodnotách elastického modulu i mikrotvrdosti perleti s odlišnou krystalografickou texturou.

Výsledky tohoto dílčího experimentu byly již publikovány v časopise (*Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering* (IF pro rok 2013: 1.793):

FRÝDA, J.; ŠEPITKA, J.; FRÝDOVÁ, B.; **HRABÁNKOVÁ, I.**; LUKEŠ, J.; KLICNAROVÁ, M. (2013). Crystallographic texture determines mechanical properties of molluscan nacre. *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, 16: pp. 292 - 293.

### 4.3 Elastický modul a mikrotvrdość perleti mlžů z odlišných životních prostředí a analýza vztahu mikromechanických veličin k mikrostrukturním a texturním charakteristikám perleti

Pro studium mikromechanických vlastností perleti bylo vybráno jedenáct druhů mlžů, z nichž dva druhy (*Mytilus edulis* a *Pinna nobilis*) byly zastoupeny dvěma jedinci z rozdílných lokalit.

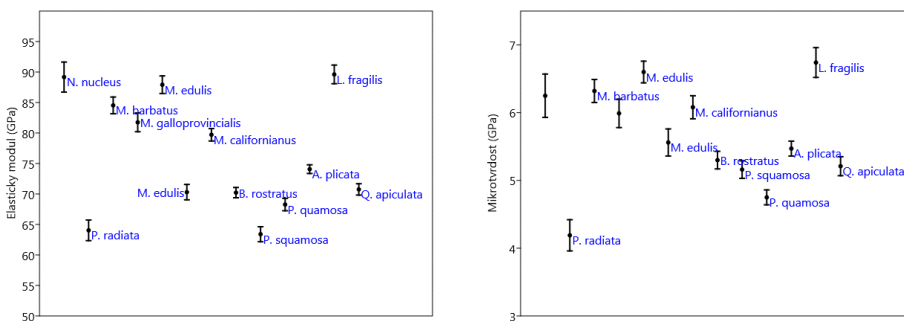
Cílem této práce je určit, jaká je variabilita hodnot mikrotvrdości a elastického modulu pružnosti perleti mlžů, jak tyto mikromechanické vlastnosti souvisí s mikrostrukturou a krystalografickou texturou perleti, a zda životní prostředí či fylogenetická pozice mlžů ovlivňují hodnoty mikrotvrdości a elastického modulu pružnosti jejich perleti.

**Tabulka 2** – Výsledky elastického modulu a mikrotvrdości.

Vzorek	Druh	Mikrotvrdość (GPa)	Směr odchyľka mikrotvrdości (GPa)	Elastický modul (GPa)	Směr odchyľka el. modulu (GPa)
vz110	<i>Nucula nucleus</i>	6,25	0,16	89,17	1,23
vz101	<i>Pinctada radiata</i>	4,19	0,11	64,04	0,84
vz104	<i>Modiolus barbatus</i>	6,32	0,09	84,53	0,68
vz105	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	5,99	0,11	81,75	0,77
vz106	<i>Mytilus edulis</i>	6,60	0,08	87,92	0,72
vz103	<i>Mytilus edulis</i>	5,56	0,10	70,30	0,63
vz116	<i>Mytilus californianus</i>	6,08	0,08	79,71	0,51
vz115	<i>Brachidontes rostratus</i>	5,30	0,07	70,22	0,42
vz108	<i>Pinna nobilis</i>	5,16	0,06	63,40	0,62
vz109	<i>Pinna nobilis</i>	4,75	0,06	68,27	0,51
vz121	<i>Amblema plicata</i>	5,47	0,06	74,07	0,35
vz122	<i>Leptodea fragilis</i>	6,74	0,11	89,61	0,76
vz123	<i>Quadrula apiculata</i>	5,21	0,07	70,75	0,47

Vypočtené hodnoty elastického modulu a mikrotvrdości perleti mlžů jsou značně variabilní mezi jednotlivými druhy (tab. 2 a obr. 6 a 7) a dokonce jsou statisticky významně odlišné mezi jedinci stejného druhu z odlišných geografických populací *Mytilus edulis*: Severního moře (Oslo) x pobřeží u města Brighton (Anglie); *Pinna nobilis*: Středozevního moře (Valencie, Španělsko) x

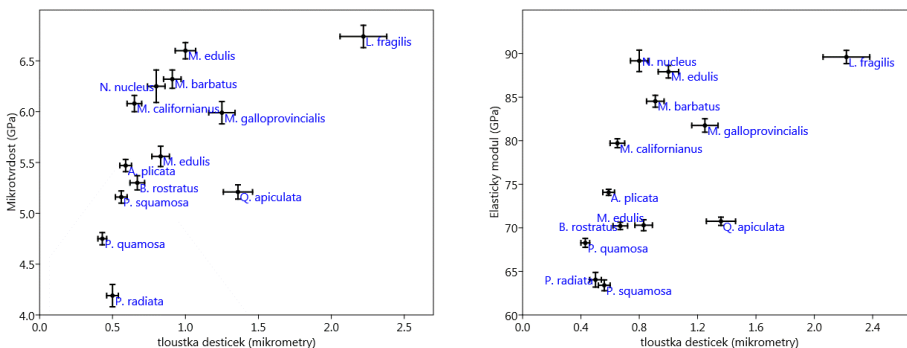
pobřeží Jaderského moře (Slovinsko). V obou případech se studovaní jedinci mírně liší v tloušťce destiček perleti a významně v krystalografické textuře. Nicméně toto zjištění je založeno pouze na porovnání velmi omezených dat (tj. dva druhy a každý jen ze dvou odlišných populací), proto je třeba ho brát jako velmi předběžné.



**Obrázek 6** - Taxonomická variabilita hodnot elastického modulu a mikrotvrlosti perleti mlžů.

Taxonomická variabilita elastického modulu a mikrotvrlosti perleti je rovněž značná (obr. 6). Například variabilita hodnot elastického modulu a mikrotvrlosti perleti u zástupců čeledi Mytilidae, zastoupené druhy rodů *Modiolus*, *Mytilus* a *Brachidontes*, se pohybuje v rozmezí 70 - 88 GPa pro elastický modul a 5.3 - 6.6 GPa pro mikrotvrdot. Podobně je tomu i u čeledi Unionidae, zastoupené 3 druhy rodů *Amblema*, *Leptodea* a *Quadrula* (obr. 6). Přestože bylo studováno jen omezené množství mlžů (11 druhů z 5 čeledí), provedená studie naznačuje, že mikromechanické vlastnosti perleti nejsou determinovány fylogenetickou pozicí mlžů. Hodnoty elastického modulu a mikrotvrlosti perleti u čeledi Unionidae, zastoupené sladkovodními druhy rodů *Amblema*, *Leptodea* a *Quadrula*, se pohybují v rozmezí 70 - 90 GPa pro elastický modul a 5.2 - 6.7 GPa pro mikrotvrdot. Rozsah hodnot elastického modulu i mikrotvrlosti perleti těchto sladkovodních druhů je téměř identický s hodnotami zjištěnými u mořských zástupců čeledi Mytilidae (Obr. 6).

Jediným výrazným parametrem, kterým se liší mikrostruktura perleti u studovaných druhů, je tloušťka jednotlivých destiček perleti

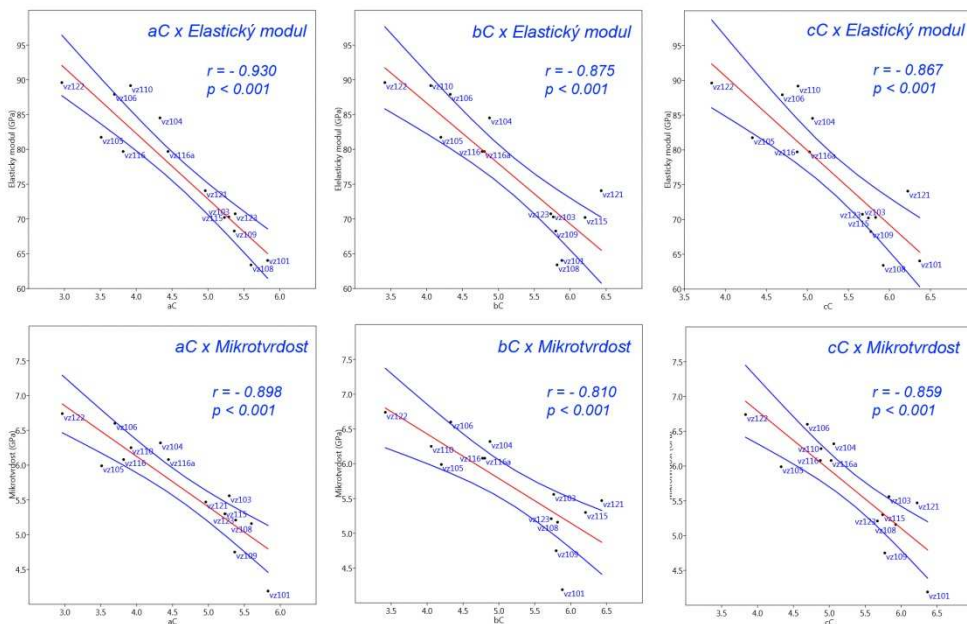


**Obrázek 7** - Závislost hodnot elastického modulu a mikrotvrlosti na tloušťce destiček perleti.

Analýza odhalila statisticky významnou korelaci mezi tloušťkou aragonitových destiček perleti a hodnotami jak elastického modulu, tak i mikrotvrlosti (Spearmanův koeficient  $r = 0.71$ ,  $p < 0.05$ , pro elastický modul,  $r = 0.68$ ,  $p < 0.05$ , pro mikrotvrlost). Přestože tato korelace není velmi těsná, je zřejmé, že perleť mlžů, kteří mají silnější destičky perleti, má větší mikrotvrlost i elastický modul. Nicméně, hodnotami tloušťky destiček perleti můžeme vysvětlit jen zhruba polovinu variability hodnot elastického modulu a mikrotvrlosti.

Tvar, velikost a uspořádání jednotlivých aragonitových destiček perleti (tj. mikrostruktura) nejsou jedinými vlastnostmi, kterými můžeme charakterizovat stavbu perleti. Protože destičky perleti jsou tvořeny krystalky aragonitu, lze analyzovat rovněž vzájemnou orientaci krystalografických mřížek těchto krystalků (tj. krystalografickou texturu).

Pro potřeby této studie byly výše zmíněné kvalitativní texturní vlastnosti perleti kvantifikovány pomocí Woodcockových parametrů K a C



**Obrázek 8** - Korelace mezi mikrotvrdostí a elastickým modulem a Woodcockovými parametry.

Vztah mikromechanických vlastností a krystalografické textury perleti můžeme tedy analyzovat posouzením míry korelace mezi mikrotvrdostí a elastickým modulem na jedné straně, a šesti Woodcockovými parametry (tj. parametry K a C pro krystalografické osy **a**, **b** a **c**).

Výsledky analýzy jsou velmi překvapivé, neboť ukazují silnou korelaci mezi mikrotvrdostí a elastickým modulem na jedné straně, a Woodcockovým parametrem C (obr. 8). Statisticky významná korelace mezi mikromechanickými vlastnostmi a Woodcockovým parametrem K byla zjištěna jen pro krystalografické osy **b** aragonitových destiček a to jak pro elastický modul, tak i pro mikrotvrdość.

Tato analýza dokládá, že 75 – 86 % variability elastického modulu a 65 – 81 % variability mikrotvrdosti je možno vysvětlit variabilitou Woodcockova parametru C.

Porovnání variability hodnot mikrotvrdosti a elastického modulu perleti mlžů s hodnotami anorganického aragonitu (Frýda a kol. 2010, Hrabánková, v přípravě),



který byl měřen v identickém směru (tj. paralelně s osou  $c$ ) a stejnou metodikou, ukazuje na neobvyklou skutečnost. Mlži, kteří mají méně uspořádané aragonitové destičky perleti (tj. nižší Woodcockův parametr C), mají tvrdší a pružnější perleť. Hodnoty mikrotvrdomosti a elastického modulu perleti u této skupiny mlžů se blíží hodnotám anorganického aragonitu [mikrotvrdomost (6,7 GPa) a elastický modul (98 GPa), Hrabánková, v přípravě]. Je zajímavé, že existující data pro kalcitové vrstvy měkkýších schránek dokazují opačný trend. Například Hrabánková a kol. (2013) doložila, že kalcitová vrstva patellogastropodů má vyšší tvrdost a téměř dvojnásobný elastický modul, než anorganický kalcit.

Důvody neočekávaně silné negativní korelace mezi mikromechanickými vlastnostmi a Woodcockovým parametrem C, která dokáže vysvětlit 75 – 86 % variability elastického modulu a 65 - 81 % variability mikrotvrdomosti, jsou zatím neznámé. Jedním z možných důvodů by mohlo být množství organické hmoty v perleti. Dá se očekávat, že při vzrůstu obsahu organické hmoty v perleti by se uspořádání aragonitových destiček méně řídilo krystalografickými zákony (viz model růstu perleti – Checa a kol. 2006, 2008), a Woodcockův parametr C by rostl a hodnoty mikrotvrdomosti a elastického modulu by klesaly. Tuto a některé další pracovní hypotézy však bude nutno podrobit dalším testům.

## 5 ZÁVĚR

Dosažení zadaných cílů disertační práce (viz kapitola 2) je doloženo dvěma publikovanými pracemi a jedním dosud nepředloženým manuskriptem, který je součástí dizertační práce. V následující části jsou shrnuty nejdůležitější výsledky a nové poznatky předložené dizertační práce:

**A)** V případě řádu Patellogastropoda bylo doloženo, že nejrozšířenější aragonitová mikrostruktura (crossed lamellar microstructure) má statisticky významně nižší mikrotvrdot a elastický modul než anorganický aragonit (viz kapitola 4.1). Ke stejnému závěru vedla i analýza mikrotvrdoti a elastického modulu aragonitové perleti mlžů (viz kapitola 4.2). Lamelární mikrostruktura a perleť jsou dvě nejrozšířenější a pravděpodobně také nejprimitivnější mikrostruktury tvořené aragonitem. Naopak v případě kalcitu bylo doloženo, že studovaná mikrostruktura (semifoliated microstructure) má statisticky významně vyšší mikrotvrdot a elastický modul než anorganický kalcit (viz kapitola 4.1). Dosud publikovaná data o mikrotvrdoti a elastickém modulu mikrostruktur měkkýších schránek jsou značně omezená, nejsou však v rozporu s tímto závěrem. Předložená studie o perleti mlžů reprezentuje nejucelenější soubor dat, který byl dosud vytvořen. Pokud se dalšími studiemi mikrostruktur schránek měkkýšů různých tříd potvrdí, že biokompozity (tj. mikrostruktury schránek) tvořené aragonitem mají nižší mikrotvrdot a elastický modul než anorganický aragonit, a obráceně v případě kalcitu, pak bude třeba hlouběji analyzovat příčiny tohoto makroevolučního trendu v biomineralizaci schránek. Tyto skutečnosti mohou být příčinou vzniku složitého biochemického mechanismu, který vedl ke schopnosti vytvářet kalcitové i aragonitové mikrostruktury současně v jedné schránce, tak, jak to je doloženo u řady specializovaných skupin plžů (např. u řádu Patellogastropoda, který se adaptoval na život ve vodách s vysokou energií, tj. v přílivoodlivové zóně). Předložená dizertační práce tedy přinesla nejen nové informace o mikrotvrdoti a elastickém modulu nejběžnějších mikrostruktur měkkýších schránek, ale umožnila vytvořit základ testovatelné hypotézy o příčinách vzniku složitého biomineralizačního mechanismu kmene měkkýšů, do kterého patří zhruba 20 % všech žijících mnohobuněčných druhů v mořském ekosystému.

**B)** Bylo doloženo, že extrémní hydrostatický tlak má poměrně malý vliv na mikrotvrdost a elastický modul zkoumaných kalcitových i aragonitových mikrostruktur měkkýších schránek. Tento předběžný závěr je však třeba potvrdit studiem i jiných mikrostruktur a vzorků měkkýšů z jiných tříd. V případě perleti mlžů nebyl zjištěn jednoduchý vztah mezi mikrotvrdostí a elastickým modulem perleti mlžů žijících v mořském a sladkovodním prostředí. Rozsah hodnot mikrotvrdosti a elastického modulu perleti sladkovodních mlžů je uvnitř intervalu hodnot pro mořské mlže. Podobný závěr lze vyslovit pro vztah taxonomické pozice mlžů a hodnot mikrotvrdosti a elastického modulu perleti. Oba předchozí závěry je však nutno ověřit na vzorcích měkkýšů z jiných tříd. Byla zjištěna statisticky významná pozitivní korelace mezi hodnotami mikrotvrdosti i elastického modulu perleti a tloušťkou aragonitových destiček tvořících perleť.

**C)** Hodnoty mikrotvrdosti a elastického modulu perleti mlžů jsou značně variabilní mezi různými druhy (zjištěné hodnoty se odlišují v řádu desítek procent). Byla zjištěna silná negativní korelace mezi hodnotami mikrotvrdosti a elastického modulu na jedné straně, a mírou uspořádání aragonitových destiček perleti mlžů. Pokud se dalšími studii tyto závěry potvrdí, pak bude možno poměrně přesně odhadovat hodnoty mikrotvrdosti a elastického modulu perleti fosilních měkkýšů, které z důvodu absence organické hmoty schránek není možno přesně rekonstruovat z přímých měření. Statisticky významná, ale slabší korelace byla zjištěna i mezi mikromechanickými vlastnostmi a texturním typem perleti. Mlži s jednoosou texturou perleti mají tvrdší a pružnější perleť, než mlži s quasimonokrystalickou texturou perleti. Přijmeme-li fylogenetickou hypotézu, že jednoosá textura perleti je primitivní a quasimonokrystalová odvozená (pro což svědčí dosud veškerá známá data – viz např. Hedegaard a Wenk 1998; Chateigner a kol. 2000; Frýda a kol. 2010; Frýda 2012), pak ale data této studie naznačují, že primitivnějším stavem perleti mlžů je její větší tvrdost a pružnost a v průběhu další evoluce mlžů se hodnoty těchto veličin snižovaly. Toto je však opačný trend, než by logicky vyplýval ze skutečnosti vzrůstajícího predačního tlaku v mořském ekosystému v průběhu paleozoika a mesozoika (např. Vermeij 1977; Klug a kol. 2010).

**D)** Metodický postup pro účely studia mikromechanických vlastností měkkých schránek vytvořený a prověřený touto dizertační prací lze použít pro testování nových výše zmíněných hypotéz, ale i pro studium biomineralizace jiných skupin organismů, např. brachiopodů, korálů a členovců. Dodržování stejného metodického protokolu (tj. stejných podmínek měření) umožní porovnání mikromechanických vlastností schránek mezi různými skupinami organismů. Absence standardizovaného protokolu měření (tj. použití různých tvarů indentorů, odlišných časových i silových schémat, etc.) je hlavním důvodem, proč nelze použít již publikovaná data k vzájemnému porovnání hodnot různých taxonů.

## 6 CITOVANÁ LITERATURA

- ADDADI, L.; JOESTER, D.; NUDELMAN, F.; WEINER, S. (2006). Mollusk Shell Formations: A Source of New Concepts for Understanding Biomineralization Processes. *Chemistry - A European Journal*, 12: pp. 980 - 987.
- BANDEL, K.; NÜTZEL, A.; YANCEY, T. E. (2002). Larval Shells and Shell Microstructures of exceptionally well - preserved Late Carboniferous Gastropods from the Buckhorn Asphalt Deposit (USA). *Senckenbergiana lathaea*, 82(2): pp. 639 - 689.
- BARTHELAT, F.; LI, C. M.; COMI, C.; ESPINOSA, H. D. (2006). Mechanical properties of nacre constituents and their impact on mechanical performance. *Journal of Materials Research*, 21(08): pp. 1977- 1986.
- BATTEN, R. L. (1984). The calcitic wall in the Paleozoic families Euomphalidae and Platyceratidae (Archeogastropoda). *Journal of Paleontology*, 58 (5): pp. 1186 - 1192.
- BØGGILD, O. B. (1930). The shell structure of the mollusks. *Det Kongelige Danske Videnskabernes Selskabs Skrifter, Naturvidenskabelige og Matematiske Afdeling*, 9 (II.2): pp. 231 – 325.
- BOORE, J. L.; MEDINA, M.; ROSENBERG, L. A. (2004). Complete sequences of the highly rearranged molluscan mitochondrial genomes of the scaphopod *Graptacme eborea* and the bivalve *Mytilus edulis*. *Molecular Biology and Evolution*, 21: pp. 1492 – 1503.
- BOUCHET, P.; ROCROI, J. P.; FRÝDA, J.; HAUSDORF, B.; PONDER, W.; VALDES, A.; WARÉN, A. (2005). Classification and nomenclator of gastropod families. *Malacologia*, 47, 1-2: pp. 1 - 368.
- BRUET, B. J.; PANAS, R.; TAI, K.; ORITZ, C.; QI, H. H.; BOYCE, M. C. (2005). Nanoscale morphology and indentation of individual nacre tablets from

the gastropod mollusc *Trochus niloticus*. *Journal of Materials Research*, 20 (9): pp. 2400 - 2419.

DREYER, H.; STEINER, G. (2004). The complete sequence and gene organization of the mitochondrial genome of the gadilid scaphopod *Siphonodontalium lobatum* (Mollusca). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 31: pp. 605 – 617.

FRÝDA, J. (2012). Phylogeny of Paleozoic gastropods inferred from their ontogeny. *Earth and Life - Global Biodiversity, Extinction Intervals and Biogeographic Perturbations Through Time, John A. Talent (Ed.), Series: International Year of Planet Earth, Springer*: pp. 395 - 435.

FRÝDA, J.; BANDEL, K.; FRÝDOVÁ, B. (2009). Crystallographic texture of Late Triassic gastropod nacre: evidence of long-term stability of the mechanism controlling its formation. *Bulletin of Geosciences*, 84 ( 4): pp. 747 - 756.

FRÝDA, J.; KLICNAROVÁ, M.; FRÝDOVÁ, B.; MERGL, M. (2010). Variability in the crystallographic texture of bivalve nacre. *Bulletin of Geosciences*, 85: pp. 645 - 662.

FRÝDA, J.; ŠEPITKA, J.; FRÝDOVÁ, B.; HRABÁNKOVÁ, I.; LUKEŠ, J.; KLICNAROVÁ, M. (2013). Crystallographic texture determines mechanical properties of molluscan nacre. *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, 16: pp. 292 - 293.

FUCHIGAMI, T.; SASAKI, T. (2005). The shell structure of the recent Patellogastropoda (Mollusca: Gastropoda). *Paleontological Research*, 9 (2): pp. 143 - 168.

GIRIBET, G. (2008). Bivalvia. *Phylogeny and Evolution of the Mollusca*, 6: pp. 105 - 141.

- GIRIBET, G.; OKUSU, A.; LINDGREN, A.; HUFF, S.; SCHRÖDL, M.; NISHIGUCHI, M. (2006). Evidence for a clade composed of molluscs with serially repeated structures: Monoplacophorans are related to chitons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.*, 103: pp. 7723 – 7728.
- HEDEGAARD, C.; WENK, H. R. (1998). Microstructure and texture patterns of mollusc shells. *Journal of Molluscan Studies*, 64 (1): pp. 133 - 136.
- CHATEIGNER, D.; HEDEGAARD, C.; WENK, H. R. (2000). Mollusc shell microstructures and crystallographic textures. *Journal of Structural Geology*, 22: pp. 1723 - 1735.
- HEINEMANN, F.; LAUNSPACH, M.; GRIES, K.; FRITZ, M. (2011). Gastropod nacre: Structure, properties and growth - Biological, chemical and physical basis. *Biophysical Chemistry*, 153: pp. 126 - 153.
- HRABÁNKOVÁ, I.; FRÝDA, J.; ŠEPITKA, J.; SASAKI, T.; FRÝDOVÁ, B.; LUKEŠ, J. (2013). Mechanical properties of deep-sea molluscan shell. *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, 16 (S1): pp 287 - 289.
- KATTI, K. S.; MOHANTY, B.; KATTI, D. R. (2006). Nanomechanical properties of nacre. *Journal of Materials Research*, 21 (05): pp. 1237 - 1242.
- KLUG, C.; KROEGER, B.; KIESSLING, W.; MULLINS, G. L.; SERVAIS, T.; FRÝDA, J.; KORN, D.; TURNER, S. (2010). The Devonian Nekton Revolution. *Lethaia*, 43 (4): pp. 465 - 477.
- LI, X.; CHANG, W.; CHAO, Y.J.; WANG, R.; CHANG, M. (2004). Nanoscale structural and mechanical characterization of a natural nanocomposite material: the shell of red abalone. *Nano Letters*, 4 (4): pp. 613 - 617.
- LIANG, Y.; ZHAO, J.; WANG, L.; LI, F.M. (2008). The relationship between mechanical properties and crossed-lamellar structure of mollusk shells. *Materials Science and Engineering: A* 483: pp. 309 - 312.

- MARIN, F.; LUQUET, G. (2004). Molluscan shell proteins. *Comptes Rendus, Paris* 3: pp. 469 - 492.
- MARIN, F.; LUQUET, G.; MARIE, B.; MEDAKOVIC, D. (2008). Molluscan shell proteins: primary structure, origin, and evolution. *Current topics in developmental biology*, 80: pp. 209-276.
- MCARTHUR, A. G.; HARASEWYCH, M. G. (2003). Molecular systematics of the major lineages of the Gastropoda. *Molecular Systematics and Phylogeny of Mollusks*. pp. 140 - 160.
- MERKEL, C.; DEUSCHLE, J.; GRIESSHABER, E.; ENDERS, S.; STEINHAUSER, E.; HOCHLEITNER, R.; BRAND, U.; SCHMAHL, W. (2009). Mechanical properties of modern calcite-(*Mergerlia truncata*) and phosphate-shelled brachiopods (*Discradisca stella* and *Lingula anatina*) determined by nanoindentation. *Journal of structural biology*, 168(3): pp. 396 - 408.
- MEYERS, M. A., CHEN, P.Y., LIN, A.Y.M., SEKI, Y. 2008. Biological materials: Structure and mechanical properties, *Prog Mater Sci* 53, 1–206
- MORRIS, R. H.; ABBOTT, D. P.; HADERLIE, E. C. (1980). Intertidal invertebrates of California. Redwood City, CA: Stanford University Press: pp. 690.
- NAKANO, T.; OZAWA, T. 2004. Phylogeny and historical biogeography of limpets of the order Patellogastropoda based on mitochondrial DNA sequences. *Journal of Molluscan Studies*, 2004, 70.1: 31-41.
- OLIVER, W. C.; PHARR, G. M. (1992). An improved technique for determining hardness and elastic modulus using load and displacement sensing indentation experiments. *Journal of materials research*, 7 (6): pp. 1564 - 1583.
- PASSAMANECK, Y. J.; SCHANDER, C.; HALANYCH, K. M. (2004). Passamaneck, Y. J., Schander, C., & Halanych, K. M. (2004). Investigation of molluscan phylogeny using large-subunit and small-subunit nuclear rRNA sequences. *Molecular phylogenetics and evolution*, 32 (1): pp. 25 - 38.



- PONDER, W. F.; LINDBERG, D. R. (1997). Towards a phylogeny of gastropod molluscs: an analysis using morphological characters. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 119 (2): pp. 83 - 265.
- PONDER, W.; LINDBERG, D. R. (2008). A phylogeny of gastropod molluscs; an analysis using morphological characters. *Zoological journal of the Linnean Society*, 119; pp. 86 - 265.
- RUNNEGAR, B. (1985). Shell microstructures of Cambrian molluscs replicated by phosphate. *Alcheringa*, 9 (4), pp. 245 - 257.
- RUPPERT, S. D.; PETERS, W. S. (2004). Autotomy of the posterior foot in Agaronia (Caenogastropoda: Olividae) occurs in animals that are fully withdrawn into their shells. *Journal of Molluscan Studies*, 2011, eyr019.
- VENDRASCO, M. J.; CHECA, A. G.; KOCHINSKY, A. V. (2011). Shell microstructure of the early bivalve *Pojetaia* and the independent origin of nacre within the Mollusca. *Palaeontology*, 54 (4): pp. 825 - 850.
- VERMEIJ, G. J. (1977). The Mesozoic marine revolution: evidence from snails, predators and grazers. *Paleobiology*, 3: pp. 245 - 258.
- WADA, K. (1972). Nucleation and growth of aragonite crystals in the nacre of some bivalve molluscs. *Biom mineralization*, 4: pp. 141 - 159.

## 7 ODBORNÝ ŽIVOTOPIS

### *Osobní údaje:*

Jméno: Iva Hrabánková  
Datum a místo narození: 6.1.1975 Praha 4  
Bydliště: Wassermannova 930/24, Praha 5 - Hlubočepy  
e-mail: [hrabankovai@fzp.czu.cz](mailto:hrabankovai@fzp.czu.cz)

---

### *Vzdělání:*

2010 - trvá Česká zemědělská univerzita v Praze,  
Fakulta životního prostředí, doktorské studium;  
obor: Aplikovaná a krajinná ekologie

2009 - 2011 Česká zemědělská univerzita v Praze,  
Institut vzdělávání a poradenství, bakalářské  
studium; obor: Učitelství odborných předmětů

2008 - 2010 Česká zemědělská univerzita v Praze  
Fakulta životního prostředí, magisterské studium;  
obor: Regionální environmentální správa

2005 - 2008 Česká zemědělská univerzita v Praze  
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních  
zdrojů, bakalářské studium;  
obor: Zahradnictví

---

### *Zaměstnání:*

2010 - trvá Česká zemědělská univerzita v Praze,  
Fakulta životního prostředí; pozice:  
odborný pracovník - technik VŠ

## 8 PUBLIKAČNÍ ČINNOST

### *Příspěvky v databázi Web of Science*

**HRABÁNKOVÁ, I.**; FRÝDA, J.; ŠEPITKA, J.; FRÝDOVÁ, B.; LUKEŠ, J.; 2013: Mechanical properties of deep-sea molluscan shell. *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, Vol. 16, No. 1: 287-289. ISSN: 1025-5842. (IF pro rok 2013: 1,793).

FRÝDA, J.; ŠEPITKA, J.; FRÝDOVÁ, B.; **HRABÁNKOVÁ, I.**; LUKEŠ, J.; KLICNAROVÁ, M.; 2013. Crystallographic texture determines mechanical properties of molluscan nacre. *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, Vol. 16, No. 1: 292-293. ISSN: 1025-5842. (IF pro rok 2013: 1,793).

### *Příspěvky ve sbornících*

**HRABÁNKOVÁ, I.**; 2011: Evoluční strategie v biomineralizaci schránek u recentních a fosilních zástupců třídy Gastropoda: Vztah mechanických vlastností schránek a životní strategie. In *Konference environmentálního inženýrství a geoenvironmentálních věd 2011*. vyd. Praha ČZU: 18 s. ISBN 978-80-213-2223-3.

**HRABÁNKOVÁ, I.**; 2012: Mikrostruktura a mechanické vlastnosti schránek u vybraných zástupců třídy Gastropoda. In *Konference environmentálního inženýrství a geoenvironmentálních věd 2012*. vyd. Praha ČZU: 16 s. ISBN 978-80-213-2333-9.

**HRABÁNKOVÁ, I.**; 2013: Mechanické vlastnosti schránek populací hlubinných měkkýšů. In *Konference environmentálního inženýrství a geoenvironmentálních věd 2013*. vyd. Praha ČZU: 21 s. ISBN 978-80-213-2407-7.



