

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta lesnická a dřevařská



Katedra ochrany lesa a entomologie

**Vhodnost užití metod preparace a konzervace larev
hmyzu se zohledněním stupně jejich sklerotizace**

Suitability of the use of methods of preparation and preservation of insect larvae
with taking into account their sclerotization level

Bakalářská práce

Autor bakalářské práce: Tereza Beránková

Vedoucí práce: doc. Ing. Oto Nakládal, Ph.D.

Praha 2018

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta lesnická a dřevařská

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Tereza Beránková

Konzervace přírodnin a taxidermie

Název práce

Vhodnost užití metod preparace a konzervace larev hmyzu se zohledněním stupně jejich sklerotizace

Název anglicky

Suitability of the use of methods of preparation and preservation of insect larvae with taking into account their sclerotization level

Cíle práce

- Vypracovat literární rešerši na vybrané téma
- Vybranými metodami vytvořit preparáty modelových zástupců hmyzu
- Vyhodnocení nejvhodnější metody pro každý modelový druh
- Vytvoření preparátů vývojových stádií nejvhodnější metodou pro daný druh

Metodika

Budou zvoleny čtyři modelové druhy hmyzu tak, aby jejich larvy byly slabě až silně sklerotizované (čeleď Muscidae, *Lymantria dispar*, *Cetonia aurata* a *Tenebrio molitor*). Larvy každého druhu budou zpreparovány několika rozdílnými metodami preparace (Invazivní i neinvazivní metody). Každou metodou bude vytvořeno více preparátů pro každý druh pro porovnání. Po šesti měsících bude pro každý druh zvolena nejvhodnější metoda preparace v závislosti na změně tvaru a barvy preparátů. Nejvhodnější metodou budou pro každý druh vytvořeny preparáty všech vývojových stádií.

Doporučený rozsah práce

30-40 stran textové části

Klíčová slova

Preparace hmyzu, konzervace hmyzu, larvy hmyzu, metody preparace

Doporučené zdroje informací

KŘÍSTEK J. & URBAN J. 2013: Lesnická entomologie. Vyd. 2., upr. Praha: Academia, 445 pp.

NOVÁK K. 1969: Metody sběru a preparace hmyzu. 1. vyd. Praha: Academia, 243 pp.

ROSILAWATI, R., BAHARUDIN, O., SYAMSA, R. A., LEE, H. L., NAZNI, W. A. 2014: Effects of preservatives and killing methods on morphological features of a forensic fly, *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) larva. *Tropical Biomedicine*, 31: 785–791.

WEGNER G. S. 2004: A surprising new medium for specimen preservation and display. *American entomologist*, 220–221.

WINKLER J. R. 1974: Sbíráme hmyz a zakládáme entomologickou sbírku. 1. vyd. Praha: SZN, 211

Předběžný termín obhajoby

2016/17 LS – FLD

Vedoucí práce

doc. Ing. Oto Nakládal, Ph.D.

Garantující pracoviště

Katedra ochrany lesa a entomologie

Elektronicky schváleno dne 15. 2. 2018

prof. Ing. Jaroslav Holuša, Ph.D.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 15. 2. 2018

prof. Ing. Marek Turčáni, PhD.

Děkan

V Praze dne 17. 04. 2018

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma: Vhodnost užití metod preparace a konzervace larev hmyzu se zohledněním stupně jejich sklerotizace vypracovala samostatně pod vedením doc. Ing. Oto Nakládala Ph.D. a použila jen prameny, které uvádím v seznamu použitých zdrojů.

Jsem si vědoma, že zveřejněním bakalářské práce souhlasím s jejím zveřejněním dle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách v platném znění, a to bez ohledu na výsledek její obhajoby.

V..... dne.....

Podpis autora

Poděkování

Tímto především děkuji Ing. Jiřímu Synkovi za asistenci a rady při zpracovávání tématu, dále děkuji také svému vedoucímu práce doc. Ing. Otovi Nakládalovi Ph.D. za poskytnutí literárních zdrojů a cenné konzultace, které mi pomohly se psaním práce. Dále děkuji firmě Tropifengl za poskytnutí entomologických potřeb a muzejek. A také svému partnerovi, přátelům a rodině za trpělivost a podporu při psaní práce.

Abstrakt

Bakalářská práce porovnává metody uchovávání larev od slabě sklerotizovaných druhů až po velmi silně sklerotizované. Druh *C. aurata* byl vybrán jako zástupce, jehož larvy mají tenkou kutikulu a sklerotizované pouze kranium a končetiny. Larvy *L. dispar* mají též sklerotizované pouze cranium a končetiny, ale navíc mají četné ochlupení a různorodé zbarvení. Larvy čeledě Muscidae jsou drobné, nejsou sklerotizované, ale oproti *C. aurata* mají silnější pokožku. Larvy druhu *T. molitor* jsou kompletně sklerotizované. Vybrány byly tři fixační tekutiny, a to Kahleův roztok, ethanol (70%), formaldehyd (10%), dále byla zvolena metoda vyfukování a jako poslední zalévání do pryskyřice. Porovnávání metod ukázalo, že líh je nejméně vhodná fixační tekutina a Kahleův roztok nejvhodnější. Metoda vyfukování je nejvýhodnější z cenového hlediska, ale absolutně nevhodná pro ochlupené larvy a také je velice náročná z časového hlediska. Zalévání do pryskyřice se ukázalo jako vhodné pro pozorování jedinců, jelikož pryskyřice exempláře zafixuje a také zde dochází jen k malé změně barev a tvaru u larev, kukel a silně sklerotizovaných dospělců. Nevýhodou u této metody je její vysoká cena. Hodnocení probíhalo na základě změny barvy konzervačního přípravku, larvy a tvaru larvy. A dalšími dvěma kritérii byla časová náročnost a cena materiálu na preparaci.

Klíčová slova: Preparace hmyzu, konzervace hmyzu, larvy hmyzu, metody preparace

Abstract

This bachelor thesis compares methods of preserving larvae ranging from mildly sclerotising species to very sclerotising. The *C. Aurata* species was chosen as a representative whose larvae have a thin cuticle and only caput and limbs are sclerotised. Larvae of *L. Dispar* species also have only caput and limbs sclerotised, but they have numerous hair and a variety of colorings. Muscidae larvae are tiny, not sclerotised, but they have stronger skin compared to *C. aurata*. The larvae of *T. Molitor* species are completely sclerotised. Three fixation fluids were selected, Kahle's solution, ethanol (70%), formaldehyde (10%), followed by the blowing method and then casting into the resin. Comparison of methods showed that alcohol is the least suitable fixation fluid and Kahle's solution most suitable. The blowing method is most advantageous in price terms, but it is absolutely unsuitable for hairy larvae and is also very demanding in terms of time. Casting into the resin has proven to be suitable for specimen observation as resin fixates specimens, and there is only little change of color and shape in larvae, pupae, and sclerotised adults. The disadvantage of this method is its high price. The evaluation was based on the colour change of the preservative, larvae and larva shape. The other two criteria were the time consumption and price of the preparation material.

Key words: insect preparation, insect preservation, insect larvae, methods of preparation

Obsah

| | |
|----------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. Cíle práce | 14 |
| 2. Úvod..... | 15 |
| 3. Literární rešerše..... | 16 |
| 3.1. Obecná morfologie hmyzu | 16 |
| 3.2. Řád Coleoptera – Brouci | 18 |
| 3.2.1. Potemník moučný – <i>Tenebrio molitor</i> (Linnaeus, 1758)..... | 19 |
| 3.2.1. Zlatohlávek zlatý – <i>Cetonia aurata</i> (Linnaeus, 1758)..... | 19 |
| 3.3. Řád Diptera – Dvoukřídli | 20 |
| 3.3.1. Čeleď mouchovití – Muscidae..... | 20 |
| 3.4. Řád Lepidoptera – motýli..... | 21 |
| 3.4.1. Bekyně velkohlavá – <i>Lymantria dispar</i> (Linnaeus, 1758) | 21 |
| 3.6. Preparace a konzervace hmyzu | 22 |
| 3.6.1. Preparace brouků (Coleoptera) | 23 |
| 3.6.2. Preparace motýlů (Lepidoptera) | 23 |
| 3.6.3. Preparace dvoukřídých (Diptera)..... | 24 |
| 3.6.4. Uchovávání hmyzu v konzervačních tekutinách | 24 |
| 3.7. Chemikálie používané k uchovávání živočichů | 25 |
| 3.7.1. Technický líh | 25 |
| 3.7.2. Formaldehyd | 27 |
| 3.7.3. Ledová kyselina octová | 28 |
| 3.7.4. Ethylester kyseliny octové | 29 |
| 4. Metodika | 31 |
| 4.1. Chov, sběr, usmrcení a příprava daných druhů larev na preparaci | 31 |
| 4.1.1. Potemník moučný (<i>Tenebrio molitor</i>) | 31 |
| 4.1.2. Zlatohlávek zlatý (<i>Cetonia aurata</i>)..... | 31 |

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.1.3. Bekyně velkohlavá (<i>Lymantria dispar</i>) | 32 |
| 4.1.4. Dvoukřídlí: moučovití (Diptera: Muscidae) | 32 |
| 4.1.3. Značení a množství jedinců pro tvorbu preparátů | 32 |
| 4.2. Fixační tekutiny (Kahleův roztok, 70% roztok lihu, 10% roztok formaldehydu) | 34 |
| 4.2.1. Kahleův roztok..... | 34 |
| 4.2.2. Roztok lihu (70%)..... | 35 |
| 4.2.3. Roztok formaldehydu (10%) | 35 |
| 4.3. Metoda preparace vyfukováním | 35 |
| 4.4. Zalévání do pryskyřice | 36 |
| 4.5. Vyhodnocování změn preparovaných larev | 36 |
| 5. Výsledky | 38 |
| 5.1. Změna barvy prostředí, ve kterém jsou uchované larvy..... | 38 |
| 5.2. Změna barvy larev | 38 |
| 5.3. Změna tvaru larev..... | 39 |
| 5.4. Časová náročnost preparace | 39 |
| 5.5. Cena pořízení preparátu..... | 40 |
| 5.6. Výsledné porovnání metod..... | 40 |
| 6. Diskuse..... | 42 |
| 7. Závěr | 44 |
| 8. Doporučení pro praxi | 45 |
| 9. Citace – literatura | 46 |
| 10. Tabulkové přílohy | 49 |
| 11. Fotopřílohy..... | 54 |
| 11.1. Fotografie larev před zahájením preparace 6.10.2016 | 54 |
| 11.2. Fotografie vypreparovaných larev určenými metodami 10.2.2017..... | 58 |

| | |
|-----------------------------------------|----|
| 11.2.1. Kahleův roztok..... | 58 |
| 11.2.2. Roztok formaldehydu (10%) | 59 |
| 11.2.3. Roztok lihu (70%)..... | 60 |
| 11.2.4. Metoda vyfukování | 61 |
| 11.2.5. Zalévání do pryskyřice..... | 62 |

Seznam příloh

Tabulkové přílohy **str. 46–50**

Fotopřílohy **str. 51–61**

Seznam tabulek

Tab. č. 1: souhrn kódů pro označení larev **str. 32**

Tab. č. 2: Průměr bodů, který hodnotí změnu barvy prostředí (pro každou kategorii n=8) **str. 37**

Tab. č. 3: Průměr bodů, které hodnotí barvu larvy (pro každou kategorii n=8) **str. 37**

Tab. č. 4: Průměr bodů, které hodnotí změnu tvaru larev (pro každou kategorii n=8) **str. 38**

Tab. č. 5: Průměr bodů, který hodnotil časovou náročnost (pro každou kategorii n=8) **str. 38**

Tab. č. 6: Průměr bodů, který hodnotí cenu daných metod (pro každou kategorii n=8) **str. 39**

Tab. č. 7: Součet průměrů hodnocení vzhledu, času a ceny preparace **str. 39**

Tab. č. 8: Součet průměrů hodnocení pouze změny barvy prostředí, larvy a tvaru larvy **str. 40**

Tab. č. 9: Bodové hodnocení jednotlivých larev se zohledněním barvy prostředí **str. 48**

Tab. č. 10: Bodové hodnocení jednotlivých larev se zohledněním barvy larev **str. 49**

Tab. č. 11: Bodové hodnocení jednotlivých larev se zohledněním tvaru larev **str. 50**

Tab. č. 12: Bodové hodnocení jednotlivých larev se zohledněním času preparace **str. 51**

Tab. č. 13: Bodové hodnocení jednotlivých larev se zohledněním ceny preparace **str. 52**

Seznam obrázků:

Obr. č. 1: Prostorový model ethanolu (Beránková 2018) **str. 24**

Obr. č. 2: Prostorový model formaldehydu (Beránková 2018) **str. 26**

Obr. č. 3: prostorová model kyseliny octové ledové (Beránková 2018) **str. 27**

Obr. č. 4: prostorový model ethylesteru kyseliny octové (Beránková 2018) **str. 28**

Obr. č. 5: Vzorník zažloutnutí larev v roztocích (foto autor) **str. 53**

Obr. č. 6: Larvy *C. aurarta* (1–8) (foto autor) **str. 53**

Obr. č. 7: Larvy *C. aurarta* (9–16) (foto autor) **str. 53**

Obr. č. 8: Larvy *C. aurarta* (17–24) (foto autor) **str. 53**

Obr. č. 9: Larvy *C. aurarta* (25–32) (foto autor) **str. 53**

Obr. č. 10: Larvy *C. aurarta* (33–40) (foto autor) **str. 53**

Obr. č. 11: Larvy *L. dispar* (1–8) (foto autor) **str. 54**

Obr. č. 12: Larvy *L. dispar* (9–16) (foto autor) **str. 54**

Obr. č. 13: Larvy *L. dispar* (17–24) (foto autor) **str. 54**

Obr. č. 14: Larvy *L. dispar* (25–32) (foto autor) **str. 54**

Obr. č. 15: Larvy *L. dispar* (33–40) (foto autor) **str. 54**

Obr. č. 16: Larvy *T. molitor* (1–8) (foto autor) **str. 55**

Obr. č. 17: Larvy *T. molitor* (9–16) (foto autor) **str. 55**

Obr. č. 18: Larvy *T. molitor* (17–24) (foto autor) **str. 55**

- Obr. č. 19: Larvy *T. molitor* (25–32) (foto autor) **str. 55**
- Obr. č. 20: Larvy *T. molitor* (33–40) (foto autor) **str. 55**
- Obr. č. 21: Larvy Muscidae (1–8) (foto autor) **str. 56**
- Obr. č. 22: Larvy Muscidae (9–16) (foto autor) **str. 56**
- Obr. č. 23: Larvy Muscidae (17–24) (foto autor) **str. 56**
- Obr. č. 24: Larvy Muscidae (25–32) (foto autor) **str. 56**
- Obr. č. 25: Larvy Muscidae (33–40) (foto autor) **str. 56**
- Obr. č. 26: Larvy *C. aurata* (1–8) Kahl. roztok (foto autor) **str. 57**
- Obr. č. 27: Larvy *L. dispar* (1–8) Kahl. roztok (foto autor) **str. 57**
- Obr. č. 28: Larvy *T. molitor* (1–8) Kahl. roztok (foto autor) **str. 57**
- Obr. č. 29: Larvy Muscidae (1–8) Kahl. roztok (foto autor) **str. 57**
- Obr. č. 30: Larvy *C. aurata* (9–16) Formaldehyd (10%) (foto autor) **str. 58**
- Obr. č. 31: Larvy *L. dispar* (9–16) Formaldehyd (10%) (foto autor) **str. 58**
- Obr. č. 32: Larvy *T. molitor* (9–16) Formaldehyd (10%) (foto autor) **str. 58**
- Obr. č. 33: Larvy Muscidae (9–16) Formaldehyd (10%) (foto autor) **str. 58**
- Obr. č. 34: Larvy *C. aurata* (17–24) Lih (70%) (foto autor) **str. 59**
- Obr. č. 35: Larvy *L. dispar* (17–24) Lih (70%) (foto autor) **str. 59**
- Obr. č. 36: Larvy *T. molitor* (17–24) Lih (70%) (foto autor) **str. 59**
- Obr. č. 37: Larvy Muscidae (17–24) Lih (70%) (foto autor) **str. 59**
- Obr. č. 38: Larvy *C. aurata* (25–32) Vyfukování (foto autor) **str. 59**
- Obr. č. 39: Larvy *L. dispar* (25–32) Vyfukování (foto autor) **str. 59**
- Obr. č. 40: Larvy *T. molitor* (25–32) Vyfukování (foto autor) **str. 59**
- Obr. č. 41: Larvy Muscidae (25–32) Vyfukování (foto autor) **str. 59**
- Obr. č. 42: Larvy *C. aurata* (33–40) Pryskeřice (foto autor) **str. 59**
- Obr. č. 43: Larvy *L. dispar* (33–40) Pryskeřice (foto autor) **str. 59**
- Obr. č. 44: Larvy *T. molitor* (33–40) Pryskeřice (foto autor) **str. 59**
- Obr. č. 45: Larvy Muscidae (33–40) Pryskeřice (foto autor) **str. 59**

Seznam použitých zkratk:

M_r – Molární hmotnost

T_t – Teplota tání

T_v – Teplota varu

ρ^{25} – Hustota při 25°C

W_{vaq} – Rozpustnost ve vodě

CO_2 – Oxid uhličitý

$\text{MJ} \cdot \text{kg}^{-1}$ – MegaJoule na kilogram

CA – *Cetonia aurata*

TM – *Tenebrio molitor*

LD – *Lymantria dispar*

D – Diptera

Dodatek:

Preparáty vývojových řad jsou k práci přiloženy pouze ve fyzické formě.

1. Cíle práce

- I. Vypracovat literární řešerši na vybrané téma
- II. Vybranými metodami vytvořit preparáty modelových zástupců hmyzu
- III. Vyhodnocení nejvhodnější metody pro každý modelový druh
- IV. Vytvoření preparátů vývojových stádií nejvhodnější metodou pro daný druh

2. Úvod

Účelem konzervace hmyzu je zachovat usmrcený hmyz v takovém stavu, aby byl vhodný pro další studium a pokud možno si zachoval svůj původní vzhled. Novák (1969) rozeznává tři základní typy preparace:

1. Preparace na sucho
2. Uchovávání materiálu v konzervačních tekutinách
3. Tvorba mikroskopických preparátů (Novák 1969).

Preparací hmyzu se rozumí úprava hmyzu pro sbírkové, vědecké či výukové účely. Preparace má být provedena tak, aby pozdější determinace a další studium materiálu bylo co nejsnadnější. Přitom se dbá na to, aby jednotlivé exempláře byly preparovány úhledně a uchráněny před poškozením. Metoda preparace se vždy volí tak, aby byla možná determinace a následné zacházení, které vypreparovaný preparát neponičí (Winkler 1974). Sběrka hmyzu slouží nejčastěji pro porovnávání jednotlivých jedinců a zkoumání jejich rozmanitosti či zařazování do taxonů a determinování nových druhů (Hrbáček 1954). Také však například pracovníci lesní správy musí vytvořit sbírku hmyzu na daném území pro dokumentaci ve svěřených porostech, kdy vznikají takzvané faunistické průzkumy, které se zaměřují na ochranu vzácných druhů a biodiverzitu lokality. (Křístek 1978).

3. Literární rešerše

3.1. Obecná morfologie hmyzu

Obecně má hmyz bilaterálně souměrné a článkované tělo. Spojením článků vznikly tři tělní úseky, které se dělí na hlavu, hrud' a zadeček. Na hlavě je umístěn pár tykadel, oči jednoduché a složené a tři páry kusadel. Na hrudi jsou dva páry křídel a tři páry končetin. Na zadečku již žádné končetiny nejsou, protože původní končetinové extremity byly přeměněny na štěty a zevní pohlavní orgány. Zevní kostra hmyzu je tvořena chitinem. Nervová soustava je gangliová, krevní oběh otevřený a dýchací ústrojí vzdušnicové (Křístek 1978). Svalstvo hmyzu je nejvíce vyvinuto v hrudi a končetinách a upíná se na vnitřní stěnu kostry. Křídla jsou spojena s hrudní stěnou. Vývojová stádia obvykle procházejí od vajíčka přes larvu, kuklu a dospělce (Daněk, Černý 1968). Způsob vývoje hmyzu se dělí na ty s proměnou nedokonalou (hemimetabolie) a proměnou dokonalou (holometabolie). Hemimetabolie jsou larvy více či méně podobné dospělému jedinci, rozdíl bývá většinou v počtu končetin, či málo vyvinutých křídel (Heteroptera, Dermaptera). Holometabolie jsou larvy nepodobné jedinci a velice rozmanité (Coleoptera, Lepidoptera, Diptera) (Nakládal 2015).

Povrch těla hmyzu je tvořen pokožkou, která je složena ze tří vrstev, a to z epidermálních buněk (epidermis), z bazální membrány (membrane basalis) a z kutikuly. Nejdůležitější částí pokožky hmyzu je epidermis, která je složena z jedné vrstvy živých buněk, které produkují kutikulu. Kutikula se skládá ze tří vrstev, a to z endokutikuly, což je tlustší vrstva, dále ze střední vrstvy zvané exokutikula a z povrchové vrstvy zvané epikutikula. Chitin ($C_8H_{13}O_5N$) obsahují obě spodní vrstvy kutikuly a vrstva epikutikula neobsahuje chitin. Dále pokožku zpevňuje protein zvaný sklerotin a v některých případech i uhličitan vápenatý ($CaCO_3$). Funkce pokožky hmyzu je ochrana těla před škodlivými vlivy, sekrece, respirace, plní roli zevní kostry, předává podněty z venčí nervovému ústrojí a je součástí regulace vodního režimu těla a svalstva hmyzu. Pokožka je sklerotizována většinou na plochách mezi články, spoj mezi články není zpevněn a totéž i boky těla. Tato modifikace umožňuje vysokou pohyblivost i u méně sklerotizovaných jedinců.

Pokožka u hmyzu má různorodou barvu, zbarvení je způsobeno buď barevnými pigmenty, nebo lomem světla. Barva hmyzu není spolehlivým determinačním znakem, protože je variabilní a podléhá četným vlivům (Křístek 1978).

Hlava je tvořena ze šesti tělních článků. Splynutím hlavových článků vzniká hlavová schránka (cranium) a na ní jsou rozlišeny švy a krajiny, které ale neodpovídají původní segmentaci, protože vznikly sekundárně. Kranium je vyztuženo i zevnitř tzv. tentoriálním můstkem (Nakládal 2015) Na hlavové schránce se nacházejí oči, které jsou buď jednoduché (ocelli) nebo složené (oculi compositi). Jednoduché oči se vyskytují jak u larev, tak i u dospělců v různém počtu a mají primitivnější stavbu. Složené oči se vyskytují pouze u dospělců a jsou tvořeny vždy jen v páru. Tykadla u hmyzu jsou párovým orgánem. Základní stavbou tykadla je, že vyrůstá z tykadlové jamky, bazální článek je delší a silný a opatřen vlastní muskulaturou. Ve druhém tykadlovém článku je umístěn sluchový orgán. Tykadla se dělí do několika typů, například to jsou nitkovitá, štětinovitá, paličkovitá, lomená, vějířovitá a podobně. Ústní ústrojí bylo vytvořeno z končetinových výrůstků původních tří článků hlavy a tak vznikla spodní a horní čelist (maxilla a mandibula). Dále k čelisti patří horní pysk (labrum), který ale není vytvořen z končetinového původu. Rozeznáváme několik typů ústního ústrojí:

1. Kousací, lízací nebo přechodný typ z obou, který se vyskytuje u řádů Coleoptera, Orthoptera aj.
2. Lízací, sací nebo spojení obou typů se vyskytuje u řádů Lepidoptera, Diptera aj.
3. Bodavé, sací a bodavě – sací se vyskytuje u řádů Heteroptera, Diptera aj.

Hruď vzniká srůstem třech tělních článků. Nohy vznikly z koncové části hrudních článků a jsou tvořeny v třech párech. Typy nohou mohou být: Běhavé, skákavé, dravčí, přilnavé, hrabavé aj. Dalším pohybovým orgánem u hmyzu jsou křídla, která se vyvinula jako vychlípenina pokožky a proto jsou dvouvrstvá na průřezu. Zadeček vznik srůstem jedenácti článků (Křístek 1978, Nakládal 2015).

3.2. Řád Coleoptera - Brouci

Název Coleoptera vzniklo složením dvou řeckých slov, koleos což znamená pouzdro a pteron, které znamená křídlo (McGavin 2001). Řád brouci patří do kmene členovců a v současné době je popsáno více než 350 000 druhů, což činí 37 % všech popsaných druhů na planetě, a činí z nich nejen nejpočetnější řád hmyzu, ale také nejpočetnější řád v rámci celé říše živočichů (Hůrka 2005, McGavin 2001).

Coleoptera je druhově nejpočetnější řád hmyzu, známý z fosilních záznamů již od spodního permu (†Protocoleoptera). Je rozdělen do recentních 4 podřádů, a to do Archostemata (prvožraví), který se dělí na 30 recentních druhů, vyvíjejících se v odumřelém dřevě a dále se dělí do 5 čeledí, jehož zástupci nežijí ve střední Evropě. Myxophaga (řasožraví) který má téměř 100 druhů, řazených do 4 čeledí, v ČR se vyskytuje jedna z nich (Shaeriusidae). Adephaga (masožraví) který zahrnuje okolo 36 000 druhů v 9 čeledích, z nichž 6 žije ve vodě a 7 v ČR. A Polyphaga (všežraví) obsahu 325 000 druhů řazených do více než 150 čeledí a v ČR se jich vyskytuje 108 (Hůrka 2005, Nakládal 2015). Velikost brouků se pohybuje od nejmenší čeledě Ptiliidae (pírníkovití) 0,1 mm do největších jedinců z čeledě Cerambycidae (tesaříkovití) 160 mm. Největší zástupci se vyskytují v tropických deštných pralesech Afriky, Jižní Ameriky a Indonésie. Většina druhů, kteří žijí na území České republiky nepřesahuje velikost 2,5 mm. Největším zástupcem na našem území je roháč obecný (*Lucanus cervus*, Linnaeus 1758) s velikostí dosahující 85 mm (Hůrka 2005; Křístek, Urban 2013). Základní stavba těla u brouků je tvořena hlavou, hrudí, zadečkem a třemi páry článkovaných končetin. Zadeček je často kryt krovkami, které jsou silně sklerotizovaným přeměněným párem křídel. Brouci osidlují všechny kontinenty (kromě Antarktidy), někteří i sladkou vodu, díky schopnosti letu, adaptabilitě a sklerotizovanému tělu, které je chrání před predátory a úbytkem vody, proto přežívají i ve velmi suchém a horkém prostředí (McGavin 2001). Dospělci (imaga) brouků a larvy mohou být karnivorní (masožraví), herbivorní (býložraví) nebo saprofagičtí (rozkladači). Larvy mohou být také parazitické (McGavin 2001).

3.2.1. Potemník moučný – *Tenebrio molitor* (Linnaeus, 1758)

Čeď Tenebrionidae obsahuje v ČR přibližně 60 druhů. Jedinci tohoto druhu jsou velice proměnliví, jejich velikost těla se pohybuje v rozmezí 1,3–31 mm a na konci jejich zadečku ústí žlázy, které produkují páchnoucí sekret. Převážně se jedinci vyskytují na pouštích a ve stepích, ale také obývají stromové houby, trouchnivějící dřevo a hnízda ptáků a savců. Larvy i dospělci se živí suchými a rozkládajícími se rostlinami či houbami. Některé synantropní druhy škodí na starších zásobách potravin (Nakládal 2015). Jedním z těchto druhů je *T. molitor*, který škodí na zásobách mouky a je jedním z nejběžnějších zástupců této čeledi na území ČR. Tento druh má 12–18 mm velké, černohnědé, protáhlé tělo s příčným štítem, rovnoběžnými, rýhovanými krovkami a zřetelně zakřivenými holeněmi předních nohou. Mastně lesklý, hnědočerný potemník moučný je kosmopolitně rozšířený, převážně synantropní a v larválním (mouční červi) i dospělém stádiu škodí na obilí, mouce a moučných produktech. Ve volné přírodě se vyskytuje v trouchu starých listnatých stromů a v ptačích hnízdech (Hůrka 2006). Imaga létají večer. Akvaristé a chovatelé exotů jej chovají a larvami krmí ryby a ptáky (Krejča a kol. 2001).

3.2.1. Zlatohlávek zlatý – *Cetonia aurata* (Linnaeus, 1758)

Čeď Scarabaeidae patří mezi druhově nejpočetnější na světě. V české republice se nachází 12 podčeledí. Jednou z podčeledí je Scarabaeinae, u této podčeledě je vyvinuta péče o potomstvo, kdy se larvy vyvíjejí v půdě v hrudce trusu, kterou jim nachystali rodiče. Další podčeledí jsou chrousti (Melolonthinae), dospělci této podčeledě se krmí na živých rostlinách a larvy se krmí kořeny (Nakládal 2015). Další podčeledí jsou zlatohlávci (Cetoniinae), do které se řadí i *C. aurata*. Jedná se o tropickou podčeď. Druh je v ČR hojný, barevně proměnlivý, často kovově zelený se světlou příčnou kresbou vzadu na krovkách, 14–20 mm velký druh, vyskytující se od dubna do října v květech různých bylin, keřů i stromů, občas i na vytékající míze. Larvy se vyvíjejí v trouchu starých listnatých stromů a v humosní půdě. Kuklí se v pozdním létě a na podzim v kokonu, v němž vylíhlý brouk přezimuje (Hůrka 2005).

3.3. Řád Diptera – Dvoukřídlí

Početný řád dělí se na dva podřády, a to na Nematocera (dlouhorozí), který je vývojově primitivnější, a Brachycera (krátkorozí). Řád Diptera obsahuje jedince různorodé velikosti (0,5–32 mm). Tělo jedinců tohoto řádu je často slabě sklerotizované. Zbarvení bývá často pestré, kovově zbarvené a různorodé. Dospělý jedinci přijímají tekutou stravu nejrozličnějšího druhu. Larvy se dělí na saprofágní, sekundárně fytofágní, predátory, parazity nebo parazitoidy. Hlava je ve většině případech volně pohyblivá, oči na hlavě jsou velké, většinou spojené a u samečků větší než u samic. Tykadla jsou různě článkovaná a nejčastěji nitkovitá až růžencovitá. Ústní ústrojí je u primitivnějších druhů bodavě savé a u vývojově pokročilejších druhů lízavě savé, ale dochází i k dalším modifikacím. Hruď jedinců má nejvíce vyvinutou středohruď, která je velice ochlupená, což napomáhá k determinaci. Nohy jsou rozmanité, dlouhé, dravé, silně ochlupené, či s přichytnými polštářky. První pár křídel je dobře vyvinutý, druhý pár je přeměněn v tzv. kyvadélka (halterae), které pomáhají k udržování rovnováhy, ale mohou se vyskytovat jedinci se zakrnělými křídly. Zadeček je zřetelně oddělen od hrudi, výjimkou jsou ale parazitické nebo bezkřídle jedinci (Nakládal 2015, Gregor 2002).

3.3.1. Čeleď mouchovití – Muscidae

Čeleď Muscidae obsahuje okolo 4 000 popsaných druhů, některé druhy jsou synantropní a tyto druhy bývají často pasivní přenašeči různých onemocnění. Dospělci mohou být draví, hematofágní či saprofágní, nebo se živí na zbytcích rostlinného či živočišného původu (Skidmore 1985). Čeleď Muscidae má vyvinutý pouze první pár křídel, který je blanitý s nečetnou žilnatinou, druhý pár je zakrnělý a přeměněný v paličkovité útvary, které se nazývají kyvadélka. Hlava je u čeledi Muscidae orthognátí a ústním ústrojím je sací chobot, jeho přední část je rozšířena a je prostoupena sítí vzdušnic. Štěty jsou zakrnělé a kladélko nepravé. Larvy této čeledi se vyskytují převážně v rostlinném materiálu či na hnoji, bývají bez končetin a někdy i bez hlavy (Daněk, Černý 1968, Křístek 1978). V roce 2011–2013 byla ověřována možnost využití této čeledi ve forenzní praxi a výsledky ukázaly, že na dvou kadaverech prasete domácího bylo nalezeno 20 144 zástupců čeledi Muscidae

a z nich bylo 38 druhů. Kromě typických nekrofágních druhů byly odchyceny i druhy, které jsou dravé, a jeden druh z červeného seznamu (Klimešová a kol. 2014).

3.4. Řád Lepidoptera – motýli

Řád Lepidoptera je třetím nejpočetnějším řádem po řádu Coleoptera (brouci) a Hymenoptera (blanokřídli). Typické pro tento řád jsou dva páry křídel s žilnatinou a šupinami, které tvoří na křídlech kresbu. Rozpětí křídel je od 3,5 mm do 33 cm. Hlava je ortognátní, volně pohyblivá a nese dobře vyvinuté oči. U jedinců s noční aktivitou často oči zabírají téměř celou hlavovou část. Ústním ustrojem je savý sosák, který je spirálovitě složen pod hlavou. Tykadla jsou rozmanitá, nejčastěji štětinovitá nebo nitkovitá, občas mají na konci paličky a počet článků tykadel se pohybuje od 7–100. Hrud' má u jedinců tohoto řádu slabě vyvinutou předohrud' oproti silně vyvinuté středohrudí a zadohrudí, které jsou mohutné. Křídla mají dobře vyvinutá oba páry, ale u samic mohou být zakrnělá či žádná. Šupiny na křídlech jsou ploché, široké a duté chloupky s velmi specifickou strukturou a barvou. Šupiny pokrývají membránu křídel a jsou překládané přes sebe někdy i ve více vrstvách. Počet žilek na křídlech je větší u původnějších druhů, což je významné pro systematiku. Oba páry křídel jsou spojeny a tvoří tím synchronizovaný pohyb. V klidu jsou křídla u jedinců složena střechovitě. Nohy jsou kráčivé, článkované a zakončeny dvěma drápkami. Zadeček je u samic mohutnější než u samců a je deseti článkový a pokryt šupinkami (Nakládal 2015).

3.4.1. Bekyně velkohlavá – *Lymantria dispar* (Linnaeus, 1758)

L. dispar patří do řádu motýli (Lepidoptera), na světě žije přibližně 150 000 druhů tohoto řádu. Typické pro tento řád jsou velká a různorodě zbarvená křídla (Bruins 2005). Vývoj u motýlů je holometabolický a larvy mají dobře vyvinuté kousací ústrojí a živí se listy, lodyhami dřevem apod. Housenky se pohybují pomocí třech párů končetin a napomáhají si panožkami, které jsou umístěny na zadních člancích. *L. dispar* patří mezi noční motýly a má velký význam v lesním hospodářství, jelikož housenky tohoto motýla jsou škůdci listnatých porostů (Daněk, Černý 1968). Samička je špinavě bílá s jemnou černou klikatou kresbou a zadeček má

žlutohnědý, sameček je hnědý a má černou klikatou kresbu. Housenka má žlutou hlavu a tělo bývá šedožluté se šesti řadami obrvených bradavek, které jsou na prvních pěti člancích modré a na dalších červené. Kukla je hnědá matná s četným ochlupením (Křístek 1978). Byl doložen i jedinec, který byl bilaterálně gynandromorfní (pravá strana jedince byla samičí a levá samčí), dále se v oblasti dnešní Ukrajiny vyskytovali černí jedinci (Shaefer a kol., 1984).

3.6. Preparace a konzervace hmyzu

Většinu entomologických sbírek tvoří hmyz preparovaný na sucho. Pokud je dobře vypreparovaný, vysušený a chráněný před škůdci a světlem, může vydržet neomezeně dlouhou dobu a ke všemu si zachová správný tvar a barvu. Při této konzervaci záleží ovšem na správném usmrcení a vybrání vhodné preparační metody. U jednotlivých druhů se musí při volbě smrtících prostředků přihlížet nejen k barvám hmyzu a jejich stálosti a reakci na smrtící prostředek, ale i k tomu zda jedinec nemá jemné chloupky, které by se k sobě mohly slepit nevhodným smrcením, a tím exemplář znehodnotily. Správně usmrcený hmyz je dlouho vláčný a po vysušení zůstává v požadované poloze. Navíc lze takovýto materiál rozvlhčit i po několika letech a preparaci opravit či polohu změnit. Naopak hmyz, který je smrcený nesprávným prostředkem (sirný ether, benzín apod.) dostane křeč a je možné ho jen zřídka rozvlhčit a preparovat (Novák 1969).

Nejpoužívanějším prostředkem pro smrcení hmyzu je etylacetát (ethyl ester kyseliny octové), v entomologii se však používá jeho starší název a to octan etylnatý. Tímto způsobem lze usmrcovat hmyz z většiny řádů, který bude preparován na sucho, což jsou především brouci (Coleoptera), dvoukřídlý hmyz (Diptera), ploštice (Heteroptera) apod, ale také lze tímto způsobem usmrtit mnoho druhů hmyzu, který nelze preparovat nasucho a který musí být uložen trvale do fixační kapaliny, jako je například alkohol. Vzorek může být i na krátkou dobu uložen jen ve smrtiničce s octanem, jelikož octan brání vysychání a zpomaluje proces rozkladu (Winkler 1974).

3.6.1. Preparace brouků (Coleoptera)

Brouci se až na výjimky smrtí octanem ethylnatým v entomologických smrtičkách se širokým hrdlem (Novák 1969). Smrtící láhve neboli smrtičky se naplní před usmrcováním hmyzu přibližně z jedné třetiny, vypranými pilinami, které zabraňují spolu s octanem vysychání, ale také uvolňují vlhkost, pokud dojde k přílišnému vysušení materiálu (rosný bod) (Winkler 1974). Menší brouci (většinou pod 1 cm) se preparují tak, že se lepí na štítky určené pro entomologii, ve většině případů břišní stranou. Poté se u jedince upraví a přilepí tykadla a končetiny v požadovaném přirozeném tvaru. Větší jedinci se propichují entomologickým špendlíkem v horní pravé části krovek a končetiny s tykadly se fixují špendlíky na podložce, po vyschnutí jsou špendlíky odebrány a jedinec se vloží do muzejky s případnými determinačními a lokálními štítky (Křístek 1978).

Preparace larev brouků

Larvy brouků lze preparovat jak ve fixačních tekutinách (viz. str. 22), tak i na sucho. Suché preparáty se vytvoří tak, že se usmrcené larvy nařiznou na ventrální straně nebo boční straně a zbaví se trávicí trubice. Poté se zformované do požadovaného tvaru vloží do acetonu přibližně na půl hodiny a nechají se vyschnout. Lze také velké larvy brouků po vyjmutí všech vnitřností vycpat vatou, zformovat do náležitého tvaru a nechat uschnout (Novák 1961).

3.6.2. Preparace motýlů (Lepidoptera)

Smrcení motýlů může být octanem a etherem sirným, ale musí se do smrtičky vložit savý papír po obvodu ne piliny, aby se nasákla přebytečná vlhkost a peří motýla se nelepilo ke stěnám smrtičky a nebylo poničeno. Velké motýly lze smrtit nikotinovou, etherovou nebo čpavkovou injekcí, která se zavádí do hrudi (Novák 1961).

Preparace housenek motýlů

Housenky se usmrcují ve smrtičce, ve které je vložen proužek savého papíru. Usmrcená housenka se položí mezi dva savé papíry a mírným tlakem (prsty či kulatou preparační jehlou) na přední polovinu těla se vytlačí tělní obsah.

Špendlíkem se zatočenou špičkou do háčku lze většinu tělního obsahu vytáhnout. Při vytlačování larev je ale nutné dbát na to, aby tlak nebyl příliš veliký a larva se nepotrhalá. Vtlačena čistá kutikula larvy se navlékne na zúženou skleněnou trubičku, či kapátko. Do trubičky či kapátka se napojí kaučuková hadička zakončená exhaustorem nebo foukacím balónkem. Larva se nafukuje a suší nad kahanem. Larva se vloží do kulaté baňky tak aby se nedotýkala stěn a až poté se kutikula nafukuje a suší nad kahanem. Díky ochranné baňce nedochází ke spálení kutikuly. Larva je vysušená tehdy, když do ní není potřeba vhnět vzduch, aby držela tvar. Z usušené larvy se vyndá kapátko či trubička a vloží se do ní proužek celofánu, který se na konci propíchne entomologickým špendlíkem a larva se vloží do muzejky. Malé larvy lze preparovat tzv. expandováním. Prázdna kutikula larvy se vloží do papírové krabičky a suší na plotně, kutikula by se měla nafouknout teplem a zůstat v požadovaném tvaru po vysušení, může zde ale docházet k přehřátí larvy a larva praskne. Poté se opět do larvy vloží celofánový proužek, který se probodne entomologickým špendlíkem. Tato metoda je méně dokonalá než metoda vyfukování, ale je pohodlnější (Winkler 1974, Novák 1961).

3.6.3. Preparace dvoukřídlí (Diptera)

Preparace tohoto řádu je obdobná jako u řádu Coleoptera. Dospělý jedinci tohoto řádu se preparují tak, že se jejich tělo probodne uprostřed hrudi a poté se vkládají s determinačními a lokalitními štítky do muzejek. Pokud jsou jedinci velice malí, nalepují se na štítek (Winkler 1974).

Preparace larev dvoukřídlých

Nejvhodnější metodou u malých larev je ukládání do fixačních tekutin, jelikož metoda vyfukování se na menších larvách provádí hůře, ale je stále možná (Winkler 1974).

3.6.4. Uchovávání hmyzu v konzervačních tekutinách

Živé larvy se vloží do horké vody (90 °C) a ponechají se v ní, dokud nevychladnou, či se mohou vložit do horkého Kahleova roztoku. Larvy se v Kahl. roztoku ponechají 24–48 hodin a poté se přendají do 70–75% roztoku ethanolu (Winkler,

1974). Podle studie publikované v MSPTM (Malaysian Society of Parasitology & Tropical Medicine), kde hlavním cílem bylo porovnat uchovávání larev hmyzu pro pozdější determinaci v několika roztocích, působil larvám nejmenší změny jak v barvě, tak ve tvaru Kahleův roztok. Ten se skládá ze 16 dílů destilované vody, 6 dílů 96% lihu, 3 dílů formalínu a 1 dílů kyseliny octové ledové (Rosilawati, Baharudin, 2014). Kyselina octová se používá v roztocích hlavně z důvodu, že v kombinaci s ethanolem zabraňuje černání tkání (Winkler 1974). Další možností je, že povařená larva se vloží do 96% ethanolu. Jelikož se ethanol lehce zředí vodou v larvě, není potřeba ethanol ředit další vodou. Lze i larvy nevařit a provést přechod alkoholovou řadou, přes 50% ethanol, poté přes 60% a následně larvu vložit do 75% alkoholu. Pokud se larvy vkládají do 5–10% formaldehydu, je lepší je opět převařit (Novák 1961).

3.7. Chemikálie používané k uchovávání živočichů

3.7.1. Technický líh

Systematický název: ethanol

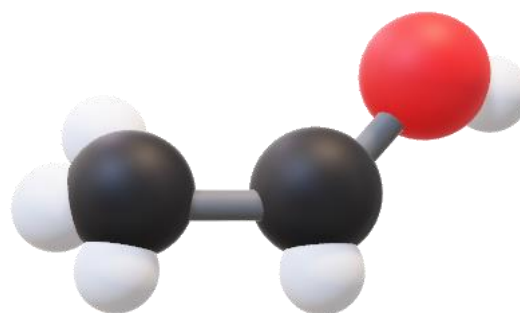
Funkční vzorec: C₂H₅OH

M_r: 46,070 g/mol

T_i: -114,1 °C

T_v: 78,29 °C

ρ²⁵: 0,7850 g/cm³ (Severochema 2017)



Obr. č. 1: Prostorový model ethanolu

Popis

Alkoholy jsou deriváty uhlovodíků, které mají v molekule vázanou hydroxylovou skupinu -OH. Lze je formálně považovat za první stupeň oxidační řady uhlovodíků. Běžně se vyskytují alifatické, alicyklické, aromatické a heterocyklické alkoholy, alkoholy primární, sekundární a terciární. Alkoholy jsou primárními i sekundárními vonnými a chuťovými látkami potravin rostlinného a také živočišného původu. Jako aromatické látky se uplatňují, hlavně volné primární alkoholy a jejich estery, zejména u ovoce a alkoholických nápojů. Z alkoholů se uplatňují methanol, ethanol,

vyšší alkoholy, z aminokyselin vznikají rovněž některé aromatické a heterocyklické alkoholy. (Flemer, Dušek 2005).

Etanol je vysoce hodnotné ekologické palivo pro spalovací motory, má antidektonační vlastnosti. Jeho nedostatkem je schopnost vázat vodu a působit tak korozi motoru, což lze odstranit přidáním vhodných aditiv (Flemer, Dušek 2005). Syntetický líh je získán čistě chemickým postupem. Pro průmyslovou produkci je nejspolehlivější a také nejvíce užívána technologie hydratace etylénu. Syntetický líh má využití pro účely lékařské, farmaceutické a průmyslové (Boríšek, Svatoň 1953).

Pokyny pro první pomoc: Při vdechnutí je nutné ukončit další vystavování této látky. Vyjít na čerstvý vzduch a při dalších nevolnostech vyhledat lékařskou pomoc. Při zasažení očí je nutné vyplachovat oko tekoucí vodou a zajistit následné vyšetření. Při zasažení pokožky se musí postižené místo oplachovat vodou i s mýdlem. Při požití je nutno nevyvolávat zvracení, pokud je to možné podá se aktivní uhlík a dále je nutné kontaktovat toxikologické středisko pro další konzultaci (Severochema 2017).

Hasiva: Vhodným hasícím prostředkem je pěna odolná alkoholu, oxid uhličitý, prášek a tříštěný vodní proud, nevhodným prostředkem je plný proud vody (Severochema 2017).

Zacházení a skladování: Je nutné zabránit tvorbě plynů a par v zápalných nebo výbušných koncentracích. Směs se smí používat jen v místech, kde není možné, aby přišla do styku s otevřeným plamenem nebo jakýmkoliv jiným zdrojem ohně. Látka se skladuje v suchých a chladných prostorech. Ochranné pomůcky jsou brýle nebo obličejový štít, rukavice a ve špatně větrané místnosti je nutno použít masku s filtrem proti organickým parám (Severochema 2017).

3.7.2. Formaldehyd

Systematický název: methanal

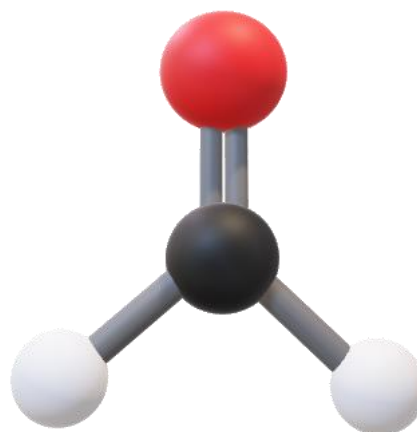
Funkční vzorec: HCHO

M_r: 30,03 g/mol

T_i: -117 °C

T_v: -19,3 °C

ρ²⁵: 0,815 g/cm³ (PENTA s.r.o. 2018a)



Obr. č. 2: Prostorový model formaldehydu

Popis

Kapalný roztok formaldehydu 36–38 % (formalín) je bezbarvý, štiplavě zapáchá a je jedovatý. Je to bezbarvá až bíle zakalená kapalina, která se vyrábí z methanolu. Používá se jako desinfekční a konzervační prostředek, také je surovinou pro výrobu plastů (Beneš a kol 1995).

Pokyny pro první pomoc: Nutná lékařská pomoc je potřeba v případném požití látky. Při vdechnutí je nutné postiženého vynést na čerstvý vzduch a položit ho do polohy na boku, aby nedošlo k udušení při zvracení, a ihned zajistit odbornou pomoc. Při polížení kůže je nutné postižené místo polévat velkým množstvím vody. Při zasažení očí se musí oko vyplachovat proudem vody a vyhledat odbornou pomoc (PENTA s.r.o. 2018).

Hasiva: Vhodným hasivem je voda, pěna prášek, nevhodná hasiva nejsou známa (PENTA s.r.o. 2018).

Zacházení a skladování: Látka se musí skladovat v těsně uzavřených nádobách na suchém a chladném místě, chráněném před světlem a teplem, nádoba nesmí být z kovu. Při manipulaci jsou nutné ochranné prostředky a je nutno zabránit opakovanému nebo dlouhodobému styku s látkou. S látkou manipulovat v digestoři, aby nedocházelo k vdechování par. Přípustný expoziční limit je maximálně 1 mg/m³ (PENTA s.r.o. 2018).

3.7.3. Ledová kyselina octová

Systematický název: ethylacetát

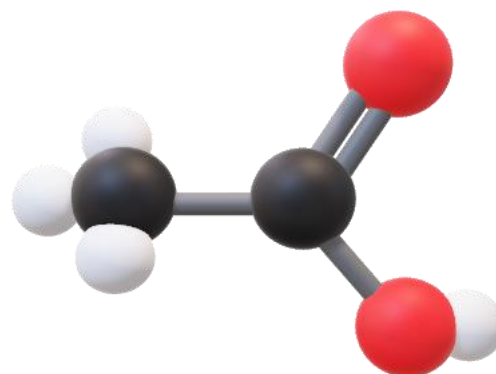
Funkční vzorec: CH₃COOH

M_r : 60,05 g/mol

T_i : 17 °C

T_v : 116 °C

ρ^{25} : 1,266 g/cm³ (PENTA s.r.o. 2018)



Obr. č. 3: prostorová model kyseliny octové ledové

Popis

Tato kyselina patří mezi karboxylové kyseliny. Čistá kyselina octová je kapalná látka štiplavého zápachu, hořlavá. Vyrábí se převážně z acetaldehydu a ethylenu. Její vodný roztok se používá ke konzervaci potravin. Vdechování par acetonu může způsobit nekrózu tkání (Beneš 1995). Kyselina octová je hořlavá kapalina a to i její páry a způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí (PENTA s.r.o. 2018a).

Pokyny pro první pomoc

Při zasažení očí je nutné okamžitě vypláchnout velkým množstvím vody při otevřeném očním víčku po dobu 15–20 minut a vyhledat lékařskou pomoc. Při vdechnutí je nutné přejít na čerstvý vzduch, pokud dojde k zástavě dýchání musí se provádět umělé dýchání nebo zajistit mechanickou ventilaci. Při styku s kůží se musí odstranit kontaminované součásti oděvu a kontaminovaná obuv a zasažené místo se musí omývat vodou (PENTA s.r.o. 2018a).

Hasiva: tříštěná voda, pěna, prášek, CO₂ (PENTA s.r.o. 2018a).

Zacházení a skladování: Je nutné při manipulaci s látkou používat ochranné prostředky. Omezení přímé expozice je na 35 mg/m³. Látka se musí skladovat v těsně uzavřených obalech v suchých, větraných a chladných prostorech. Látka se skladuje mimo tepelné a zážehové zdroje (PENTA s.r.o. 2018a).

3.7.4. Ethylester kyseliny octové

Systematický název: ethylacetát

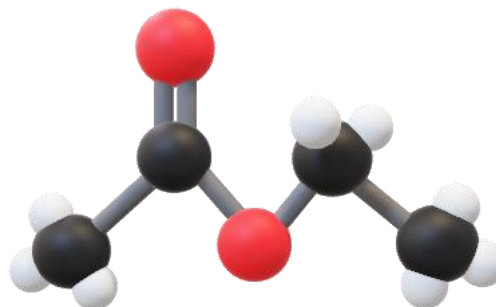
Funkční vzorec: CH₃COOCH₂CH₃

M_r: 88,11 g/mol

T_i: -83,6 °C

T_v: 77,1 °C

ρ²⁵: 0,897 g/cm³ (PENTA s.r.o. 2017b)



Obr. č. 4: prostorový model ethylesteru kyseliny octové

Popis

Je to čirá kapalina příjemné hruškové vůně, která se velice rychle vypařuje (Winkler 1974). Za běžných skladovacích podmínek je látka stabilní, ale je vysoce hořlavá a to i její páry a hrozí nebezpečí vznícení nebo vzniku hořlavých plynů nebo výparů s fluorem nebo silnými oxidačními činidly. Látka způsobuje podráždění očí a může způsobit ospalost nebo závratě, musí se zamezit vdechování par. Opakované vystavování látce způsobuje popraskání a vysušení kůže. Látka se musí chránit před teplem/jiskrou/otevřeným požárem a horkými povrchy. Látka se nejčastěji používá jako rozpouštědlo. Při práci s látkou je nutné používat dýchací maska či digestoř (PENTA s.r.o. 2017b)

Pokyny pro první pomoc

Při zasažení očí je potřeba několik minut opatrně vyplachovat vodou, popřípadě vyjmout čočky a vyplachovat vodou 15–20 minut. Při vdechnutí je zapotřebí přejít na čerstvý vzduch, v případě potřeby je nutné vyhledat lékařskou pomoc, pokud dojde k zástavě dýchání je nutné poskytnout umělé dýchání nebo zajistit mechanickou ventilaci. Pokud dojde k zasažení kůže je nutné odstranit kontaminovaný oděv a postižené místo omývat velkým množstvím vody. Při požití látky je nutné ústa vypláchnout a vypít velké množství vody a následně podat aktivní uhlí 20–40 g v suspenzi a vyhledat lékařskou pomoc a nevyvolávat zvracení (PENTA s.r.o. 2017b).

Hasiva: Vhodným hasivem je prášek CO₂, pěna (PENTA s.r.o. 2017b).

Zacházení a skladování: Při manipulaci s látkou je nutno používat ochranné pomůcky očí a rukou. Látka se musí skladovat mimo tepelné a zážehové zdroje a skladuje se na suchých a chladných místech a musí být chráněna před světlem. (PENTA s.r.o. 2017b).

4. Metodika

4.1. Chov, sběr, usmrcení a příprava daných druhů larev na preparaci

4.1.1. Potemník moučný (*Tenebrio molitor*)

Larvy použité pro bakalářskou práci byly pořízeny z komerčních chovů, tudíž se pravděpodobně bude jednat o inbrední jedince, ale na použité metody preparace nemá prokřížení žádný vliv, pokud se neprojevuje anatomicky nebo morfologicky. Larvy byly umístěny do hlubší plastové nádoby o rozměrech 12x25 cm, nádoba byla naplněna jemným substrátem (např. kukuřičné šustí) přibližně 4 cm pod okraj, aby nedocházelo k útěku jedinců. Nádoba byla vložena do klimaboxu se stálou teplotou 22 °C a s odklopeným víkem, aby docházelo k větrání, ale substrát musel sahat maximálně do výšky 4 centimetrů pod okraj nádoby, aby larvy neunikaly. Larvy byly krmeny převážně ovesnými vločkami a jablky. Vývojový cyklus trvá přibližně 2–3 měsíce. Vyndány byly především larvy v konečném stádiu před zakuklením, množství larev použitých k preparaci bylo 40. Dále bylo vybráno několik vajíček, larev v několika stádiích vývoje, kukla a dospělec, kteří byli použiti k tvorbě preparátu, vývojové řady. Larvy, kukla i dospělý jedinec (imago) byli smrceni octanem etylnatým, který zajistil rychlé usmrcení a zanechal jedince vláčné, což napomohlo k lepší manipulaci a přípravě k preparování a také bylo zajištěno nepolámání končetin u dospělých jedinců. Všichni usmrcení jedinci byli uloženi do mrazícího boxu a vyndání byli až v den preparace.

4.1.2. Zlatohlávek zlatý (*Cetonia aurata*)

V přírodě byli odchyceni dospělí brouci na ořešáku královském na závěsnou návnadu z tlejícího ovoce v období mezi červnem a srpnem. Dospělí brouci byli vloženi do uzavíratelné nádoby s lehce tlejícím substrátem rašelinou, hrabankou směsí buku a dubu a bílého trouchu. Dospělci byli dokrmováni ovocem. Postupně byla odebírána nakladená vajíčka, která byla umístěna do nové nádoby s lehce vlhkým substrátem a trouchem. Díky odebírání vajíček od dospělých brouků, došlo k většímu množství kladených vajíček. Z vajíček se v nové nádobě líhly larvy, které byly v několika stádiích smrceny octanem etylnatým stejně jako dospělí jedinci

(imaga). Poslední larvální stádium bylo z časové náročnosti na vývoj zlatohlávka pořízeno na entomologické burze a potřebných 40 kusů bylo usmrceno též octanem etylnatým a stejnou metodou byla usmrcena i kukla pro tvorbu preparátu vývojové řady. Jedinci byli po usmrcení uloženi do mrazícího boxu a vyndání byli až v den preparace.

4.1.3. Bekyně velkohlavá (*Lymantria dispar*)

Pro vývoj Bekyně byla využita vajíčka z fakultního chovu. Vajíčka, ve kterých je ukryta již housenka, která ve vajíčku přezimuje, byla vyndána z chladících boxu do pokojové teploty v období začátku rašení dubového listí. Vajíčka byla nejdříve vložena do Petriho misky s větvičkou dubu omotaného vlhou vatou, aby nedocházelo k vadnutí větvičky. Poté co se housenky vylíhly, byly dále krmeny dubovým listím a vloženy do většího a vyššího boxu s vlhkým substrátem. Larvy byly smrceny octanem v jednotlivých instarech, dále byla usmrcena jedna kukla a dospělec pro výslednou preparaci vývojové řady. Pro porovnávání metod preparace bylo vybráno 40 larev v posledním instaru vývoje.

4.1.4. Dvoukřídlí: moučoví (Diptera: Muscidae)

Larvy čeledi muscidae byly získány tak, že v období května byla nastražena past z plastové krabičky o rozměrech 10x15x8 cm s návnadou, kterou bylo syrové vepřové maso. Na hniající maso na slunci při teplotě okolo 25 °C přilétali dospělí zástupci této čeledě a kladli do návnady svá vajíčka. Larvy se vyvíjely během několika hodin, proto bylo nutné past často navštěvovat. Byla odebrána vajíčka a larvy v několika stádiích vývoje. Pro získání kukly bylo nutné do krabičky přidat suchý substrát z pilin, aby se larvy zakuklily, kukla byla také odebrána a usmrcena. Jedinci byli smrceni též octanem ethylnatým a larev v posledním stádiu bylo odebráno opět 40 pro porovnávání metod preparace.

4.1.3. Značení a množství jedinců pro tvorbu preparátů

Počet larev použitých pro porovnávání metod preparace bylo 40 jedinců od každého druhu. Poté byla použita ještě vajíčka, larvy v několika stupních vývoje, kukla a dospělý jedinec pro závěrečné preparáty vývojové řady. Larev pro porovnávání

druhů preparace bylo použito 8 kusů od každého druhu na každou metodu. To znamená, že larev od každého druhu bylo 40 a celkový počet larev použitých pro porovnávání bylo 160. V tabulce níže jsou vypsány kódy, kterými byly označeny larvy v daném postupu preparace.

| | <i>Cetonia aurata</i> | <i>Tenebrio molitor</i> | <i>Lymantria dispar</i> | Diptera |
|-----------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------|
| Kahleův roztok | CA 1 – 8 | TM 1 – 8 | LD 1 – 8 | D 1 – 8 |
| 10% Formaldehyd | CA 9 – 16 | TM 9 – 16 | LD 9 – 16 | D 9 – 16 |
| 70% líh | CA 17 – 24 | TM 17 – 24 | LD 17 – 24 | D 17 – 24 |
| Vyfukování | CA 25 – 32 | TM 25 – 32 | LD 25 – 32 | D 25 – 32 |
| Pryskyřice | CA 33 – 40 | TM 33 – 40 | LD 33 – 40 | D 33 – 40 |

Tabulka č. 1.: souhrn kódů pro označení larev

Pro zápis a bodové vyhodnocování byla použita tabulka, ve které byla v prvním sloupci rozepsána jednotlivá čísla larev (1–40), která značí vždy po 8 daný roztok. Znamená to, že čísla 1–8 značila pro všechny 4 druhy larev to, že jsou uchovávány v Kahleově roztoku, čísla 9–16 jsou larvy uchovávány v 10% roztoku formaldehydu, 17–24 je označení pro 70% roztok lihu, 25–32 je označení pro larvy které byly preparovány metodou vyfukování a čísla 33–40 značí larvy zalévané do pryskyřice. V prvním řádku tabulky pro zápis bodů hodnocení jsou vepsány zkratky (CA, TM, LD, D), které značí daný druh larvy. Do takto připravené tabulky se zapisovaly body od 1–5 podle níže uvedených parametrů (kapitola 4.5.) a do výsledků se udával průměr (zaokrouhlený na dvě desetiny) z každých 8 vzorků stejné metody pro každý druh larvy. Tabulka s jednotlivými body pro každý parametr je uvedena v tabulkových přílohách (tab. č. 9–13).

4.2. Fixační tekutiny (Kahleův roztok, 70% roztok lihu, 10% roztok formaldehydu)

Vybrané larvy pro vkládání do roztoků byly vyndány z mrazících boxů na papírový ubrousek, aby larvy rozmrzly a oschly. Všechny larvy byly narovnané a umístěny na milimetrový papír kde byly očíslovány a nafoceny pro pozdější porovnávání. Jako první byly ukládány do roztoků larvy *C. aurata*, jelikož díky jejich tenké pokožce a velkému obsahu odpadu metabolismu dochází k hnědnutí celé larvy a ztrácejí se jednotlivé vnitřní znaky. Před ukládáním larev do fixačních tekutiny byly vytvořeny jejich fotografie na milimetrovém papíře. Poté byly larvy vloženy přibližně na 10 sekund do vařící destilované vody (95–100 °C), učiněno tak bylo proto, aby se bílkoviny uvnitř larvy varem zpevnily a v roztocích byly larvy stabilnější. Poté byly larvy vkládány pinzetou do připravených skleněných lahviček o obsahu 30 ml s daným roztokem. Všechny roztoky byly připravovány za pomoci pipety a kádinek v digestoři s odvětráváním v laboratoři a také byly použity ochranné rukavice. Skleněné lahvičky s roztokem a larvami byly utěsněny gumovým víčkem, které zajistilo, že se látky z lahviček neodpařovaly. Lahvičky byly označeny pomocí vytištěných čísel a zkratk daného druhu larvy. Množství každého roztoku muselo být 960 ml, aby se naplnily všechny lahvičky. Počet lahviček bylo 8x4 pro každý roztok a množství v lahvičkách bylo 30 ml.

4.2.1. Kahleův roztok

Pro namíchání Kahleova roztoku byl použit 95% líh (C_2H_6O), 36% formaldehyd (CH_2O), ledová kyselina octová ($C_2H_4O_2$) a destilovaná voda (8 dílů 95% lihu, 3 díly 38% formaldehydu, 1 díl kyseliny octové ledové a 16 dílů destilované vody). Do kádinky s 548,64 ml destilované vody bylo nalito pomocí odměrného válce 274,32 ml technického lihu, 102,87 ml formaldehydu a poté 34,29 ml kyseliny octové ledové, to vystačilo na naplnění skleněných lahviček. Celkové množství bylo 960 ml do všech 32 lahviček. Poté, co byl roztok namíchán, byl nalit pomocí pipety do skleněných lahviček, které byly označeny čísly a zkratkami (1–8 CA, 1–8 TM, 1–8 LD, 1–8 D). Po naplnění lahviček do nich byly vkládány pomocí pinzety larvy. Lahvičky byly uzavírány gumovým víčkem a ukládány do plastové krabice.

4.2.2. Roztok lihu (70%)

Do kádinky s destilovanou vodou byl nalit technický líh pomocí odměrného válce v poměru 3:7, roztok 70%. V tomto případě bylo nalito 672 ml lihu do 288 ml destilované vody. Roztok byl zamíchán a pomocí pipety byly naplněny připravené lahvičky opět v počtu 32 kusů. Po naplnění lahviček do nich byly vkládány larvy pinzetou a následně byly lahvičky utěšňovány gumovým víčkem a uloženy do krabičky.

4.2.3. Roztok formaldehydu (10%)

Do kádinky s 707,37 ml destilované vody bylo nalito pomocí odměrného válce 252,63 ml 38% formaldehydu (CH_2O) a tímto byl vytvořen 10% roztok formaldehydu. Roztok byl nalit do 32 skleněných lahviček, do kterých se opět vložili pinzetou larvy a lahvička se utěšnila gumovým víčkem.

4.3. Metoda preparace vyfukováním

Larvy, které byly vyndány z mrazícího boxu (8 kusů od každého druhu), byli opláchnuty a osušeny na ubrousku. Larvy byly pomocí preparační jehly v zadní části propíchnuté a poté byl obsah larev opatrně vymačkán tak, aby nebyl poničen jejich povrch, zvýšená opatrnost byla potřeba u larev druhu *Lymantria dispar* kvůli jejich četnému ochlupení. Larvy se vymačkávaly od hlavové části dál směrem dozadu a za pomoci pinzety se případně vytahovaly zbylé vnitřnosti. Po vymačkání obsahu z larev do nich bylo vloženo plastové kapátko, které bylo na vrchní části ustříhnuto a nasazeno na trubici exhaustoru. Larvy byly pomocí exhaustoru nafukovány a zároveň zahřívány nad petrolejovým kahanem tak, že se larva umístila do titrační baňky, která byla držákem připevněna ve vodorovné poloze vůči kahanu a na dno baňky se umístil kousek papíru, který zhnědnul, když byla v baňce příliš vysoká teplota, která by způsobila spálení larvy. Do otvoru baňky byla umístěna larva, která se nafukovala exhaustorem. Díky teplu se larvy vysušily a zachovaly si plný tvar díky nafukování. Larva byla plně vysušena tehdy, kdy bez pomoci vzduchu, který byl do larvy foukán pomocí exhaustoru, držela plný tvar. Po vysušení larev byl dovnitř vložil tenký proužek prokladového papíru s mikrovlnou

(používá se například jako ochrana bonboniér pod papírovým víkem) a na druhém konci byl propíchnut entomologickým špendlíkem a vložen do muzejky.

4.4. Zalévání do pryskyřice

Byla použita dvousložková bezbarvá polyesterová pryskyřice speciálně vyvinutá pro zapouštění hmyzu a rostlin. Je to pryskyřice, která je kompatibilní s vlhkými objekty a nezanechává při zalití takového materiálu kapky ani bublinky. Pryskyřice byla nalévána v několika vrstvách. Do silikonových forem v kruhovém tvaru byla nalita první, přibližně 4 mm vrstva, která se nechala 60 minut vytvrdnout, a poté do ní byly vloženy larvy. Na tuto první vrstvu se nalila další vrstva pryskyřice, která byla přibližně 2 mm vysoká a nechala se dalších 100 minut vytvrdnout nakonec se nalila do formy poslední vrstva a celý preparát tvrdnul ve formě dva dny. Po vyjmutí vytvrzených preparátů ze silikonové formy byly nedostatky na pryskyřici obroušeny brusným papírem a celý preparát byl vyleštěn speciálním pískem na leštění pryskyřice. Větší nedostatky se obrousily přímou bruskou, která značně urychlila zarovnání a vybroušení pryskyřice.

4.5. Vyhodnocování změn preparovaných larev

Výsledky byly vypočítány průměrem obodovaných změn. Jednotlivé body, kterými byly ohodnoceny larvy, jsou uvedeny v tabulkových přílohách (str. 48–52). Body se zprůměrovaly pro jednotlivou metodu. Výsledná metoda, která měla nejméně bodů, se považuje za nejvýhodnější jak z hlediska nejmenší změny v barvě a tvaru, ale také se zde zohledňuje i časová a finanční náročnost. Jsou zde uvedeny výsledky všech pěti parametrů, ale také i parametrů, které hodnotí jen změnu barvy prostředí, larvy a tvaru.

Barva prostředí

Změna barvy prostředí, ve kterém byla larva uchovávána, se vyhodnocovala pomocí bodové stupnicí 1–5. Jeden bod značil žádnou změnu barvy prostředí a pět bodů značilo největší změnu barvy prostředí. Body 2–3 byly rozděleny mezi zbylé změny podle předem připraveného vzorníku (viz obr. 5. ve fotopřílohách).

Barva larvy

Barva vypreparovaných larev byla porovnávána s fotografiemi larev na milimetrovém papíře, které byly pořízené před zahájením preparace. Změna barvy se hodnotila pomocí bodové stupnice 1–5, kdy jeden bod znamenal žádnou změnu barvy a pět velice jasnou změnu barvy, a to buď ztmavnutí larvy či vyblednutí.

Změna tvaru larvy

Tvar larvy se opět hodnotil body 1–5, kdy jeden bod znamenal žádnou změnu ve tvaru larvy porovnané s fotografiemi pořízenými před preparací. Pět bodů dostaly larvy, které změnilly nejvíce svůj tvar z pozorovaných larev. Dva, tři a čtyři body byly udělovány larvám, které měly nepatrnou až větší změnu ve tvaru.

Časová náročnost

U preparace larev se hodnotila také časová náročnost vypreparování larvy danou metodou. Bodové hodnocení bylo opět 1–5. Jeden bod označoval preparáty, které nebyly časově nijak náročné, což v tomto případě nebyla žádná metoda, tudíž metody dostaly minimálně 2 body. Preparace, které trvaly do 20 minut, dostaly 2 body, ty, které trvaly do 30 minut 3 body, do 40 minut 4 body a do 50 minut 5 bodů. Přičemž čas se počítal na jednu vypreparovanou larvu, jelikož zalévání larev do pryskyřice či ukládání do fixačních tekutin jde provádět i pro více kusů larev najednou, ale u vyfukování nelze vypreparovat několik larev zároveň.

Cena pořízení preparátu

Cena preparátů byla počítána na množství jednoho litru dané fixační tekutiny a pryskyřice. Jediná metoda vyfukování má nulové náklady, a proto bylo obodováno jedním bodem, ostatní body (2–5) byly udělovány metodám vždy v rozmezí 250 Kč, Takže 2 body byly udělovány metodám, u kterých náklady nepřekročily 250 Kč, 3 body dostaly metody, jejichž cena byla do 500 Kč, 4 body do 750 Kč a 5 bodů do 1000 Kč. Do nákladů se počítaly pouze chemikálie a pryskyřice. Jelikož lahvičky, špendlíky, muzejky a podobné materiály se mohou typově, tudíž cenově lišit, ale chemikálie se pro danou metodu musí používat stejné. Do ceny preparátu se nepočítaly náklady na práci a veškeré ceny ve výsledcích jsou uvedeny bez DPH.

5. Výsledky

Obrázky ve fotopřílohách na straně 56–60, jsou fotografie podle kterých, byly vyhodnocovány výsledky (obr. č. 26 – 45).

5.1. Změna barvy prostředí, ve kterém jsou uchované larvy

| Barva prostředí | <i>Cetonia aurata</i> | <i>Tenebrio molitor</i> | <i>Lymantria dispar</i> | Diptera | Průměr bodů |
|-----------------|-----------------------|-------------------------|-------------------------|---------|-------------|
| Kahleův roztok | 1,5 | 1 | 2,88 | 1 | 1,60 |
| 10% Formaldehyd | 1 | 2,13 | 2,11 | 1 | 1,56 |
| 70% líh | 2,88 | 1,38 | 3,5 | 1 | 2,19 |
| Vyfukování | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Pryskyřice | 1 | 2 | 1 | 2 | 1,5 |

Tabulka č. 2: Průměr bodů, který hodnotí změnu barvy prostředí (pro každou kategorii n=8)

Fixační tekutiny líh s průměrem bodování 2,19 nejvíce ovlivňuje barvu prostředí. Především u larev *L. dispar*, kde průměr bodování je 3,5. Metoda vyfukování má jeden bod, protože jako jediná neuchovává larvu v konzervačním roztoku. Nejlépe vycházející metodou, která lehce mění barvu prostředí je zalévání do pryskyřice s průměrem 1,5 bodů.

5.2. Změna barvy larev

| Barva larvy | <i>Cetonia aurata</i> | <i>Tenebrio molitor</i> | <i>Lymantria dispar</i> | Diptera | Průměr bodů |
|-----------------|-----------------------|-------------------------|-------------------------|---------|-------------|
| Kahleův roztok | 1 | 2 | 1,63 | 1 | 1,41 |
| 10% Formaldehyd | 1,75 | 2,75 | 1,5 | 1 | 1,75 |
| 70% líh | 3,88 | 3,75 | 2 | 2,75 | 3,10 |
| Vyfukování | 1 | 1 | 1 | 1,28 | 1,07 |
| Pryskyřice | 1 | 1 | 1 | 1 | 1,20 |

Tabulka č. 3: Průměr bodů, které hodnotí barvu larvy (pro každou kategorii n=8)

Výsledkem je, že metoda zalévání do pryskyřice nemění barvu larev (průměr 1 bod) vyfukování je metoda, která jako druhá ovlivňuje barvu larev minimálně s průměrem 1,07. Třetí metodou je Kahleův roztok s průměrem 1,41. Čtvrtou

metodou je 10% roztok formaldehydu a nejhůře hodnocenou metodou je roztok lihu (70%) s průměrem 3,10.

5.3. Změna tvaru larev

| změna tvaru | <i>Cetonia aurata</i> | <i>Tenebrio molitor</i> | <i>Lymantria dispar</i> | Diptera | Průměr bodů |
|-----------------|-----------------------|-------------------------|-------------------------|---------|-------------|
| Kahleův roztok | 1,16 | 1 | 1 | 1 | 1,04 |
| 10% Formaldehyd | 1,63 | 1 | 1,75 | 2,55 | 1,73 |
| 70% líh | 1,38 | 1 | 1,86 | 2,63 | 1,72 |
| Vyfukování | 1,86 | 1 | 3,71 | 1,63 | 2,05 |
| Pryskyřice | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |

Tabulka č. 4: Průměr bodů, které hodnotí změnu tvaru larev (pro každou kategorii n=8)

Tvar larev neměnila metoda zalévání do pryskyřice (průměr 1 bod). Druhá nejhodnější metoda z hlediska změn tvaru larev je Kahleův roztok s průměrem 1,04, kde vycházely nejhůře larvy *C. aurata* s průměrem 1,16. Třetí metodou je líh s průměrem 1,72. Čtvrtou metodou je uchovávání larev v 10% roztoku formaldehydu s průměrem 1,73 a poslední metodou je vyfukování s průměrem 2,05, kde nejhůře dopadly larvy *L. dispar* s průměrem 3,75.

5.4. Časová náročnost preparace

| časová náročnost | <i>Cetonia aurata</i> (min/body) | <i>Tenebrio molitor</i> (min/body) | <i>Lymantria dispar</i> (min/body) | Diptera (min/body) | Průměr bodů |
|------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------|-------------|
| Kahleův roztok | 15/2 | 15/2 | 15/2 | 15/2 | 2 |
| 10% Formaldehyd | 10/2 | 10/2 | 10/2 | 10/2 | 2 |
| 70% líh | 10/2 | 10/2 | 10/2 | 10/2 | 2 |
| Vyfukování | 40/4 | 40/4 | 40/4 | 40/4 | 4 |
| Pryskyřice | 20/2 | 20/2 | 20/2 | 20/2 | 2 |

Tabulka č. 5: Průměr bodů, který hodnotil časovou náročnost (pro každou kategorii n=8)

Nejnáročnější metodou z hlediska času je metoda vyfukování s průměrem 4 bodů, což znamená, že preparace trvá okolo 40 minut. Ostatní metody mají průměr 2 body, tudíž jsou preparáty těmito metodami zhotoveny do 20 minut.

5.5. Cena pořízení preparátu

| Cena | <i>Cetonia aurata</i> | <i>Tenebrio molitor</i> | <i>Lymantria dispar</i> | Diptera | Průměr bodů |
|-----------------|-----------------------|-------------------------|-------------------------|----------|-------------|
| Kahleův roztok | 37,7/2 | 37,7/2 | 37,7/2 | 37,7/2 | 37,7/2 |
| 10% Formaldehyd | 32,22/2 | 32,22/2 | 32,22/2 | 32,22/2 | 32,22/2 |
| 70% líh | 42,94/2 | 42,94/2 | 42,94/2 | 42,94/2 | 42,94/2 |
| Vyfukování | 0/1 | 0/1 | 0/1 | 0/1 | 0/1 |
| Pryskyřice | 707,05/4 | 707,05/4 | 707,05/4 | 707,05/4 | 707,05/4 |

Tabulka č. 6: Průměr bodů, který hodnotí cenu daných metod (pro každou kategorii n=8)

Metoda vyfukování není finančně nijak náročná, proto má nejnižší průměr 1. Nejdražší metodou je zalévání pryskyřice s průměrem 4 body a cenou bez DPH 707,02. Zbylé metody ukládání do fixačních tekutin (70% roztok lihu, 10% roztok formaldehydu a Kahleův roztok) mají průměr 2 body v cenovém rozmezí 32,22–42,94 Kč bez DPH.

5.6. Výsledné porovnání metod

Následující dvě tabulky ukazují celkový průměr bodů u jednotlivých metod.

Celkové výsledky bodového hodnocení vzhledu, ceny a časové náročnosti

| SOUČET | |
|-----------------|-------|
| Kahleův roztok | 8,04 |
| 10% Formaldehyd | 9,07 |
| 70% líh | 11,09 |
| Vyfukování | 10,09 |
| Pryskyřice | 10,55 |

Tabulka č. 7: Součet průměrů hodnocení vzhledu, času a ceny preparace

Nejmenší bodový průměr měl Kahleův roztok s celkovým průměrem 8,04. Druhou metodou je ukládání do 10% roztoku formaldehydu s průměrem bodů 9,07, třetí je metoda vyfukování s průměrem 10,09, čtvrtá je zalévání do pryskyřice s průměrem 10,55 a nejméně vhodnou metodou je ukládání larev do fixační tekutiny 70% roztoku lihu s průměrem 11,09.

Výsledky bodového hodnocení pouze vzhledu preparátů

Zde je uveden průměr bodů, které hodnotily pouze změnu barvy prostředí, změnu tvaru a barvy larev. Časová ani cenová stránka nebyla brána v potaz, jelikož ta jako taková nemá vliv na kvalitu preparátu.

| SOUČET | |
|-----------------|------|
| Kahleův roztok | 6,04 |
| 10% Formaldehyd | 7,07 |
| 70% líh | 9,09 |
| Vyfukování | 8,09 |
| Pryskyřice | 5,55 |

Tabulka č. 8: Součet průměrů hodnocení pouze změny barvy prostředí, larvy a tvaru larvy

Pryskyřice s průměrem 5,55 bodů vychází jako nejlepší metoda bez hodnocení ceny a časové náročnosti. Kahleův roztok s průměrem 6,04 bodů je druhou nejvhodnější metodou. Třetí metodou je 10% roztok formaldehydu s průměrem 7,07, čtvrtou metodou vychází s průměrem 8,09 vyfukování a poslední metodou je opět 70% roztok lihu s průměrem 9,09

6. Diskuse

Výsledky ukázali, že pokud se hodnotí vzhled preparátu, časová náročnost a cena pořízení preparátu, tak nejlépe vychází ukládání larev do Kahleova roztoku. Cena pro namíchání tohoto roztoku je v průměru 37,7 korun bez DPH a čas pro namíchání tohoto roztoku se pohybuje mezi 10–15 minutami. Barvu larev tento roztok mění u druhů *L. dispar*, kde dochází k částečnému vyblednutí červených a modrých bradavek na dorzální straně housenky a larvy *T. molitor* lehce tmavnou. U druhů *C. aurata* je velice dobře vidět i vnitřní vak, u ostatních roztoků už tak patrný není. Tento roztok byl vybrán z několika používaných fixačních tekutin z práce, která se přímo zabývala výběrem fixačních tekutin pro uchovávání larvy (Rosilawati, Baharudin 2014). Zmínky o Kahleova roztok byl již od 20. století v entomologických knihách (Winkler 1974, Novák 1969). Roztok žloutnul v případech, kdy do něj byly ukládány larvy *L. dispar*. Tento roztok nemění tvar larev, kromě druhu *C. aurata*, kde docházelo k občasným lehkým změnám ve tvaru larvy. Roztok formaldehydu (10%) se již tolik nepoužívá pro uchovávání biologického materiálu hlavně z důvodu velice nízké doporučené expoziční dávky a karcinogenity (PENTA s.r.o. 2017), přesto ale jeho výsledný průměr byl 9,07 bodů, a tak je druhou nejvhodnější fixační tekutinou. Poslední fixační tekutinou byl líh (70%), který dopadl jako nejhorší konzervační tekutina. Přesto, že byly larvy před ukládáním povařeny, jak se doporučuje postupovat u všech fixačních tekutin (Winkler 1974, Novák 1969), velice ztmavly. Vyfukování je druhou nejčastější používanou metodou pro uchovávání larev po vkládání do fixačních tekutin (Novák 1969, Winkler 1974). Vyfukování je velice výhodné, pokud jde o cenu, avšak je to metoda velice náročná z časového hlediska a také je nutný trénink této metody, jelikož je složitější na provedení. Zalévání larev do pryskyřice vyšlo jako nejlepší metoda, pokud se nepočítala časová náročnost a cena. Tato metoda byla vyzkoušena v této práci jako možná alternativa pro uchovávání larev. Byla pořízena dvousložková německá pryskyřice od firmy EfkoXOR, která je přímo určena k zalévání vlhkých a biologických materiálů. Larvy zalité touto pryskyřicí nemění barvu ani tvar. Vývojové řady byly vytvořeny podle toho, které metody byly nejvhodnější pro vybrané druhy larev. Vývojová řada druhu *C. aurata* byla uložena do Kahleova roztoku, jelikož larvy v tomto porovnávání měly nejvhodnější

výsledky a imago tohoto druhu je silně sklerotizované proto by nemělo docházet k zažloutnutí roztoku. Vývojové řady druhů *T. molitor* a čeledě Muscidae byly vypreparovány metodou vyfukování, jelikož larvy těchto druhů vyšly velice dobře metodou vyfukování a imago brouka i mouchy jde velice dobře vypreparovat nasucho. Druh *L. dispar* je pro preparaci velice náročný, jelikož imago je díky šupinkám velice náchylné na tekutiny, ztrácí barvu a šupinky se k sobě lepí. Tento druh byl vypreparován metodou zalévání do pryskyřice, jelikož ochlupené larvy v pryskyřici nemění barvu a pryskyřice nežloutne, ale dospělec barvu ztrácí a v kombinaci s pryskyřicí bledne, proto je nejlepší imago tohoto druhu preparovat na sucho.

7. Závěr

Výsledek porovnávání metod preparace ukázal, že roztok lihu (70%) je nevhodnou fixační tekutinou, vyšší koncentrace ethanolu velice vysuší larvy, které se stávají velice fragilními. Roztok formaldehydu je přijatelný, ale formaldehyd samotný je nevhodný ze zdravotního hlediska, což platí i pro Kahleův roztok kde se formaldehyd vyskytuje přibližně ve 3 %. Kahleův roztok je však nejvhodnější fixační tekutinou, hlavně z toho důvodu, že ethanol a kyselina octová ledová zabraňují černání tkání. Metoda vyfukování je vhodná pro zkušenější preparátory, protože je nutná praxe, aby byly preparáty kvalitní a u této metody se jako u jediné musí řešit ochrana sbírky. Pryskeřice je dlouhodobě neozkoušená a oproti ostatním metodám drahá, ale pro ochlupené a barevné larvy, by mohla být velice vhodná, avšak není záznam o nějakém dlouhodobém účinku pryskeřice na larvu (déle jak 2 roky). Larvy po zalití a vytvrzení pryskeřice již nijak nemění barvu ani tvar. Pokud je tedy potřeba vypreparovat larvy bez ohledu na cenu, je nejvhodnější zalévání do pryskeřice. Nejvhodnější a cenově a časově nejméně náročnou metodou je ukládání do Kahleova roztoku.

8. Doporučení pro praxi

- Metoda vyfukování je náročná a je nutná praxe před preparováním do muzejních sbírek
- Zalévání do pryskyřice je vhodné pro barevné i ochlupené larvy, nikoliv však pro dospělé řádu Lepidoptera
- Fixační tekutina líh není zdravý škodlivá na rozdíl od dalších dvou chemikálií a je lépe dostupná, proto lze líh zvolit jako konzervant pokud nezáleží na změně vzhledu larev nebo při terénních výjezdech
- Metoda zalévání larev do pryskyřice se jeví jako nejlepší pro výukové účely, ale nikoliv pro výzkum
- Dalšími teoreticky vhodnými metodami by mohla být lyofilizace nebo plastinace, tyto metody budou pravděpodobně velice finančně náročné

9. Citace – literatura

BENEŠ, P., BANÝR, J., PUMPR, V. *Základy chemie pro 2. stupeň základní školy, nižší ročníky víceletých gymnázií a střední školy*. Díl 2. 1. vydání. Praha: Fortuna, 1995. 96 stran. ISBN 80-7168-205-5.

BORÍŠEK, R., SVATOŇ, M., ŠÁLA, J. *Sulfitové výluhy a jejich využití*. 1. vydání. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1953. 362 stran.

BRUINS, E. *Teraristika: encyklopedie*. 2. upravené vydání. Encyklopedie. Čestlice: Rebo, 2005. 317 stran. ISBN 80-7234-477-3.

DANĚK, G., ČERNÝ, W. *Zoologie pro I. a II. ročník středních všeobecně vzdělávacích škol*. Učebnice pro střední všeobecně vzdělávací školy. 3. upravené vydání. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1968. 287 stran.

FLEMR, V., DUŠEK, B. *Chemie I: (obecná a anorganická): pro gymnázia*. 2. vydání. Praha: SPN–pedagogické nakladatelství, 2007. 120 stran. ISBN 978-80-7235-369-9.

GREGOR, F a kol. *The Muscidae (Diptera) of Central Europe*. Brno, Folia Biologica, 2002. 208 stran. ISBN 80-210-2773-8.

HŮRKA, K. *Brouci České a Slovenské republiky = Beetles of the Czech and Slovak Republics*. 1. upravené vydání. Zlín: Kabourek, 2005. 390 stran. ISBN 80-86447-11-1.

KLIMEŠOVÁ, V., SLOBODOVÁ, M., ŠULÁKOVÁ, H., BARTÁK, M. *Využití čeledi Muscidae (Diptera) ve forenzní praxi* [Use of the family Muscidae (Diptera) in forensic practice]. July 2014, Conference: 6th Workshop on biodiversity, Jevany.

KŘÍSTEK, J., VÁVRA, J. *Zoologie s entomologií a ochrana lesů*. Svazek 1. Cvičení. 1. vydání. Brno: Vysoká škola zemědělská, 1978. 123 stran.

KŘÍSTEK, J., URBAN, J. *Lesnická entomologie*. 2. upravené vydání. Praha: Academia, 2013. 445 stran., [32] stran. obr. příl. ISBN 978-80-200-2237-0.

MCGAVIN G. *Essential Entomology: an order by order introduction*. 1. vydání. Oxford University Press, 2001. 318 stran. ISBN: 9780198500025

NAKLÁDAL, O. *Entomologie obecná a systematická*. Vydání: první. V Praze: Česká zemědělská univerzita, Fakulta lesnická a dřevařská, 2015. 256 stran. ISBN 978-80-213-2602-6.

NOVÁK, K. a kol. *Metody sběru a preparace hmyzu*. 2. vydání. Praha: Academia, 1969. 243 stran.

PELIKÁN, M., SÁKOVÁ, L. *Jakost a zpracování rostlinných produktů*. 1. vyd. České Budějovice, 2001. 233 stran. ISBN 80-7040-502-3.

a) PENTA s.r.o. *Bezpečnostní list – kyselina octová ledová 99,8%*. 2. revidované vydání. Praha 10, 25.8.2017. 7 stran.

b) PENTA s.r.o. *Bezpečnostní list – Ethylester kyseliny octové*. 2. revidované vydání. Praha 10, 21.12.2017. 6 stran

PENTA s.r.o. *Bezpečnostní list – Formaldehyd 36–38% vodný roztok*. 2. revidované vydání. Praha 10, 11.1.2018. 7 stran

ROSILAWATI, R., BAHARUDIN, O., SYAMSA, R. A., LEE, H. L., NAZNI, W. A. *Effects of preservatives and killing methods on morphological features of a forensic fly, Chrysomya megacephala (Fabricius, 1794) larva*. Tropical Biomedicine, 2014. 31: 785–791.

SCHAEFER, P.W., WALLNER, W.E., TICEHURST., M. T. 1. *Incidence of the black-backed larval mutant of Lymantria dispar (L.) (Lepidoptera: Lymantriidae) in Ukrainian SSR*. Journal of Research on Lepidoptera, 1984. 23(1):103-104.

SEVEROCHEMA. *Bezpečnostní list – Lih technický*. 2. revidované vydání. Liberec, 26.5.2017. 14 stran.

SKIDMORE, P. *The Biology of the Muscidae of the World*. Dordrecht: W. Junk publisher, 1985. 550 stran. ISBN 90-6193-139-8

WINKLER, J. R. *Sbíráme hmyz a zakládáme entomologickou sbírku*. 1. vydání. Praha: SZN, 1974. 211 stran.

10. Tabulkové přílohy

| Barva prostředí | CA | TM | LD | D |
|-----------------|----|----|----|---|
| 1 | 2 | 1 | 2 | 1 |
| 2 | 2 | 1 | 4 | 1 |
| 3 | 1 | 1 | 3 | 1 |
| 4 | 2 | 1 | 3 | 1 |
| 5 | 1 | 1 | 2 | 1 |
| 6 | 1 | 1 | 2 | 1 |
| 7 | 2 | 1 | 4 | 1 |
| 8 | 1 | 1 | 3 | 1 |
| 9 | 1 | 1 | 4 | 1 |
| 10 | 1 | 1 | 2 | 1 |
| 11 | 1 | 2 | 2 | 1 |
| 12 | 1 | 4 | 3 | 1 |
| 13 | 1 | 2 | 2 | 1 |
| 14 | 1 | 2 | 1 | 1 |
| 15 | 1 | 3 | 2 | 1 |
| 16 | 1 | 2 | 1 | 1 |
| 17 | 2 | 1 | 2 | 1 |
| 18 | 4 | 1 | 3 | 1 |
| 19 | 1 | 1 | 5 | 1 |
| 20 | 3 | 2 | 4 | 1 |
| 21 | 4 | 1 | 4 | 1 |
| 22 | 4 | 2 | 4 | 1 |
| 23 | 3 | 2 | 3 | 1 |
| 24 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 25 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 26 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 27 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 28 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 29 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 30 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 31 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 32 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 33 | 1 | 2 | 1 | 2 |
| 34 | 1 | 2 | 1 | 2 |
| 35 | 1 | 2 | 1 | 2 |
| 36 | 1 | 2 | 1 | 2 |
| 37 | 1 | 2 | 1 | 2 |
| 38 | 1 | 2 | 1 | 2 |
| 39 | 1 | 2 | 1 | 2 |
| 40 | 1 | 2 | 1 | 2 |

Tab. č. 9: Bodové hodnocení jednotlivých larev se zohledněním barvy prostředí

| Barva larev | CA | TM | LD | D |
|-------------|----|----|----|---|
| 1 | 1 | 2 | 2 | 1 |
| 2 | 1 | 2 | 2 | 1 |
| 3 | 1 | 2 | 2 | 1 |
| 4 | 1 | 2 | 1 | 1 |
| 5 | 1 | 2 | 2 | 1 |
| 6 | 1 | 2 | 2 | 1 |
| 7 | 1 | 2 | 1 | 1 |
| 8 | 1 | 2 | 1 | 1 |
| 9 | 1 | 3 | 1 | 1 |
| 10 | 2 | 2 | 2 | 1 |
| 11 | 3 | 3 | 2 | 1 |
| 12 | 1 | 3 | 1 | 1 |
| 13 | 2 | 2 | 1 | 1 |
| 14 | 1 | 3 | 2 | 1 |
| 15 | 3 | 3 | 1 | 1 |
| 16 | 1 | 3 | 2 | 1 |
| 17 | 4 | 2 | 2 | 2 |
| 18 | 5 | 5 | 2 | 2 |
| 19 | 4 | 4 | 2 | 3 |
| 20 | 4 | 5 | 2 | 2 |
| 21 | 4 | 4 | 2 | 4 |
| 22 | 5 | 3 | 2 | 4 |
| 23 | 2 | 3 | 2 | 3 |
| 24 | 2 | 4 | 2 | 4 |
| 25 | 1 | 1 | 1 | 2 |
| 26 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 27 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 28 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 29 | 1 | 1 | 1 | 2 |
| 30 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 31 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 32 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 33 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 34 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 35 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 36 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 37 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 38 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 39 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 40 | 1 | 1 | 1 | 1 |

Tab. č. 10: Bodové hodnocení jednotlivých larev se zohledněním barvy larev

| Tvar larev | CA | TM | LD | D |
|------------|----|----|----|---|
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 2 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 3 | 2 | 1 | 1 | 1 |
| 4 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 5 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 6 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 7 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 8 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 9 | 2 | 1 | 3 | 3 |
| 10 | 2 | 1 | 1 | 2 |
| 11 | 2 | 1 | 1 | 1 |
| 12 | 1 | 1 | 2 | 3 |
| 13 | 2 | 1 | 3 | 2 |
| 14 | 2 | 1 | 2 | 2 |
| 15 | 1 | 1 | 1 | 3 |
| 16 | 1 | 1 | 2 | 3 |
| 17 | 1 | 1 | 2 | 4 |
| 18 | 2 | 1 | 3 | 3 |
| 19 | 1 | 1 | 1 | 3 |
| 20 | 2 | 1 | 2 | 2 |
| 21 | 1 | 1 | 2 | 2 |
| 22 | 1 | 1 | 1 | 2 |
| 23 | 1 | 1 | 2 | 3 |
| 24 | 2 | 1 | 2 | 2 |
| 25 | 1 | 1 | 3 | 1 |
| 26 | 1 | 1 | 4 | 2 |
| 27 | 1 | 1 | 3 | 1 |
| 28 | 1 | 1 | 5 | 2 |
| 29 | 3 | 1 | 4 | 1 |
| 30 | 2 | 1 | 3 | 1 |
| 31 | 4 | 1 | 4 | 1 |
| 32 | 1 | 1 | 2 | 1 |
| 33 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 34 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 35 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 36 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 37 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 38 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 39 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 40 | 1 | 1 | 1 | 1 |

Tab. č. 11: Bodové hodnocení jednotlivých larev se zohledněním tvaru larev

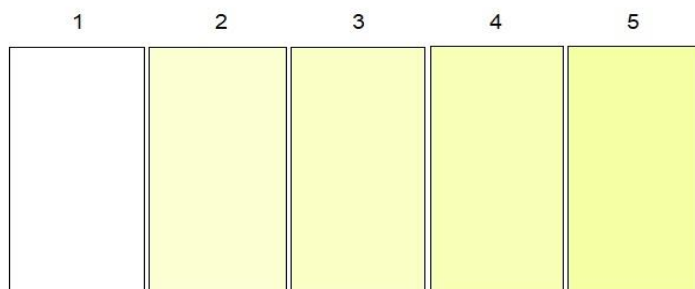
| Čas preparace | CA | TM | LD | D |
|---------------|----|----|----|----|
| 1 | 15 | 15 | 15 | 15 |
| 2 | 15 | 15 | 15 | 15 |
| 3 | 15 | 15 | 15 | 15 |
| 4 | 15 | 15 | 15 | 15 |
| 5 | 15 | 15 | 15 | 15 |
| 6 | 15 | 15 | 15 | 15 |
| 7 | 15 | 15 | 15 | 15 |
| 8 | 15 | 15 | 15 | 15 |
| 9 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 11 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 12 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 13 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 14 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 15 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 16 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 17 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 18 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 19 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 20 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 21 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 22 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 23 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 24 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 25 | 40 | 40 | 40 | 40 |
| 26 | 40 | 40 | 40 | 40 |
| 27 | 40 | 40 | 40 | 40 |
| 28 | 40 | 40 | 40 | 40 |
| 29 | 40 | 40 | 40 | 40 |
| 30 | 40 | 40 | 40 | 40 |
| 31 | 40 | 40 | 40 | 40 |
| 32 | 40 | 40 | 40 | 40 |
| 33 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| 34 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| 35 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| 36 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| 37 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| 38 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| 39 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| 40 | 20 | 20 | 20 | 20 |

Tab. č. 12: Bodové hodnocení jednotlivých larev se zohledněním času preparace

| Cena preparace | CA | TM | LD | D |
|----------------|--------|--------|--------|--------|
| 1 | 37,7 | 37,7 | 37,7 | 37,7 |
| 2 | 37,7 | 37,7 | 37,7 | 37,7 |
| 3 | 37,7 | 37,7 | 37,7 | 37,7 |
| 4 | 37,7 | 37,7 | 37,7 | 37,7 |
| 5 | 37,7 | 37,7 | 37,7 | 37,7 |
| 6 | 37,7 | 37,7 | 37,7 | 37,7 |
| 7 | 37,7 | 37,7 | 37,7 | 37,7 |
| 8 | 37,7 | 37,7 | 37,7 | 37,7 |
| 9 | 32,22 | 32,22 | 32,22 | 32,22 |
| 10 | 32,22 | 32,22 | 32,22 | 32,22 |
| 11 | 32,22 | 32,22 | 32,22 | 32,22 |
| 12 | 32,22 | 32,22 | 32,22 | 32,22 |
| 13 | 32,22 | 32,22 | 32,22 | 32,22 |
| 14 | 32,22 | 32,22 | 32,22 | 32,22 |
| 15 | 32,22 | 32,22 | 32,22 | 32,22 |
| 16 | 32,22 | 32,22 | 32,22 | 32,22 |
| 17 | 42,94 | 42,94 | 42,94 | 42,94 |
| 18 | 42,94 | 42,94 | 42,94 | 42,94 |
| 19 | 42,94 | 42,94 | 42,94 | 42,94 |
| 20 | 42,94 | 42,94 | 42,94 | 42,94 |
| 21 | 42,94 | 42,94 | 42,94 | 42,94 |
| 22 | 42,94 | 42,94 | 42,94 | 42,94 |
| 23 | 42,94 | 42,94 | 42,94 | 42,94 |
| 24 | 42,94 | 42,94 | 42,94 | 42,94 |
| 25 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 26 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 27 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 28 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 29 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 30 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 31 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 32 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 33 | 707,05 | 707,05 | 707,05 | 707,05 |
| 34 | 707,05 | 707,05 | 707,05 | 707,05 |
| 35 | 707,05 | 707,05 | 707,05 | 707,05 |
| 36 | 707,05 | 707,05 | 707,05 | 707,05 |
| 37 | 707,05 | 707,05 | 707,05 | 707,05 |
| 38 | 707,05 | 707,05 | 707,05 | 707,05 |
| 39 | 707,05 | 707,05 | 707,05 | 707,05 |
| 40 | 707,05 | 707,05 | 707,05 | 707,05 |

Tab. č. 13: Bodové hodnocení jednotlivých larev se zohledněním ceny preparace

11. Fotopřílohy



Obr. č. 5: Vzorník
zažloutnutí roztoku
(foto autor)

11.1. Fotografie larev před zahájením preparace 6.10.2016



Obr. č. 6: Larvy
C. aurarta (1–8)
(foto autor)



Obr. č. 7: Larvy
C. aurarta (9–16)
(foto autor)



Obr. č. 8: Larvy *C. aurarta* (17–24)
(foto autor)



Obr. č. 9: Larvy *C. aurarta* (25–32)
(foto autor)



Obr. č. 10: Larvy
C. aurarta (33–40)
(foto autor)



Obr. č. 11: Larvy
L. dispar (1–8)
(foto autor)



Obr. č. 12: Larvy
L. dispar (9–16)
(foto autor)



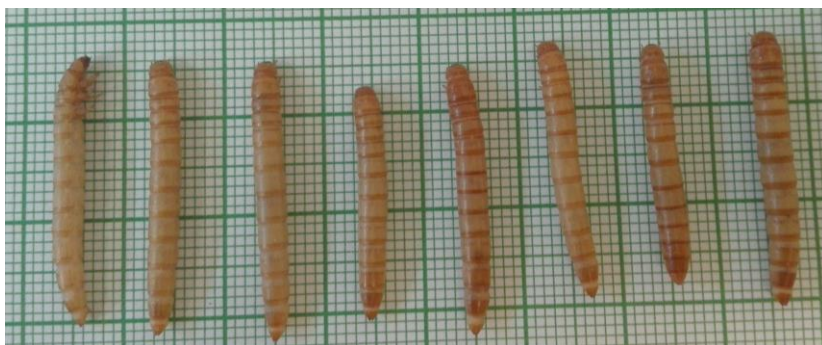
Obr. č. 13: Larvy
L. dispar (17–24)
(foto autor)



Obr. č. 14: Larvy
L. dispar (25–32)
(foto autor)



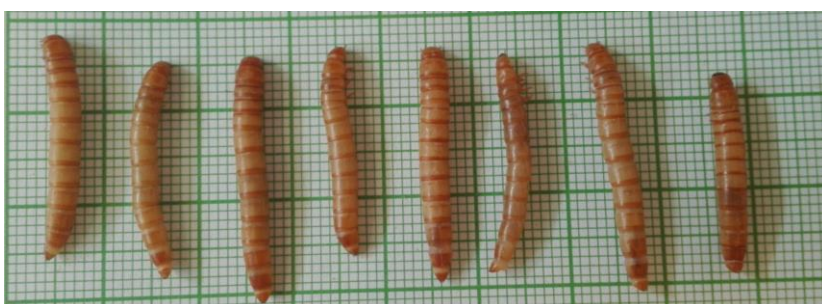
Obr. č. 15: Larvy
L. dispar (33–40)
(foto autor)



Obr. č. 16: Larvy
T. molitor (1–8)
(foto autor)



Obr. č. 17: Larvy
T. molitor (9–16)
(foto autor)



Obr. č. 18: Larvy
T. molitor (17–24)
(foto autor)



Obr. č. 19: Larvy
T. molitor (25–32)
(foto autor)



Obr. č. 20: Larvy
T. molitor (33–40)
(foto autor)



Obr. č. 21: Larvy
Muscidae (1–8)
(foto autor)



Obr. č. 22: Larvy
Muscidae (9–16)
(foto autor)



Obr. č. 23: Larvy
Muscidae (17–24)
(foto autor)



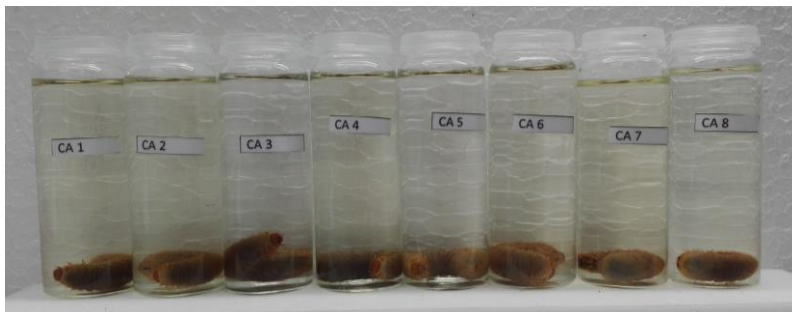
Obr. č. 24: Larvy
Muscidae (25–32)
(foto autor)



Obr. č. 25: Larvy
Muscidae (33–40)
(foto autor)

11.2. Fotografie vypreparovaných larev určenými metodami 10.2.2017

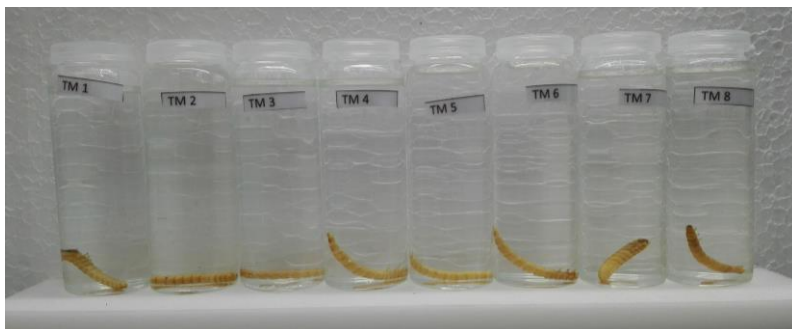
11.2.1. Kahleův roztok



Obr. č. 26: Larvy
C. aurata (1–8)
Kahl. Roztok
(foto autor)



Obr. č. 27: Larvy
L. dispar (1–8)
Kahl. Roztok (foto
autor)

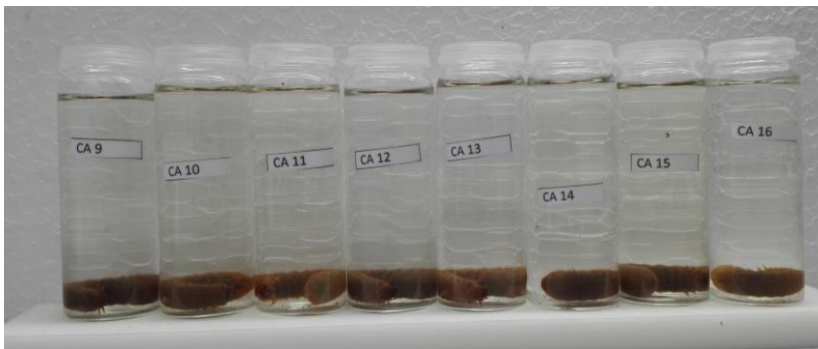


Obr. č. 28: Larvy
T. molitor (1–8)
Kahl. Roztok
(foto autor)



Obr. č. 29: Larvy
Muscidae (1–8)
Kahl. Roztok
(foto autor)

11.2.2. Roztok formaldehydu (10%)



Obr. č. 30: Larvy
C. aurata (9–16)
Formaldehyd
(10%)
(foto autor)



Obr. č. 31: Larvy
L. dispar (9–16)
Formaldehyd
(10%)
(foto autor)

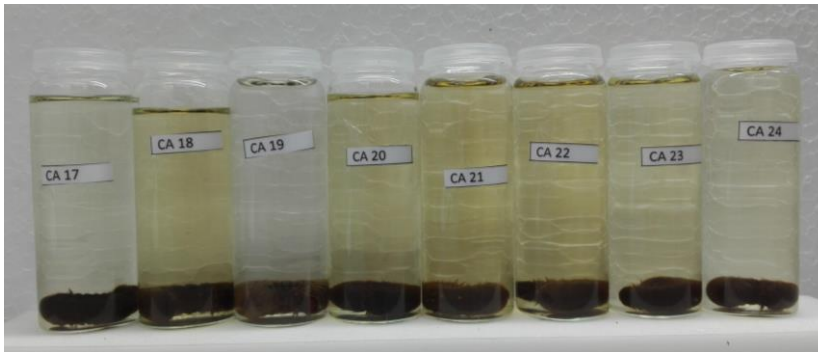


Obr. č. 32: Larvy
T. molitor (9–16)
Formaldehyd
(10%)
(foto autor)



Obr. č. 33: Larvy
Muscidae (9–16)
Formaldehyd
(10%)
(foto autor)

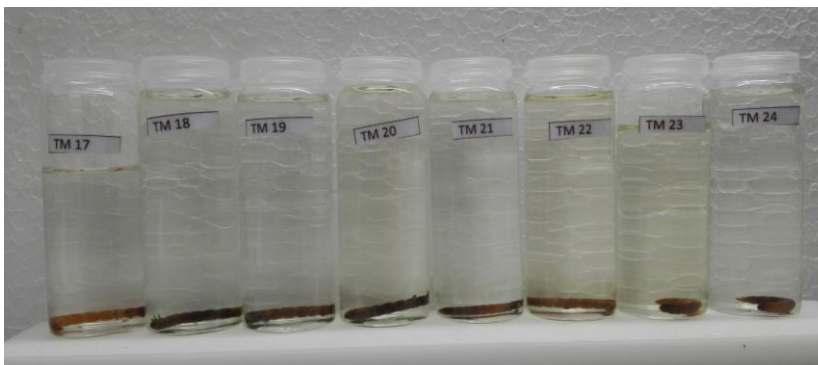
11.2.3. Roztok lihu (70%)



Obr. č. 34: Larvy
C. aurata (17–24)
Lih (70%)
(foto autor)



Obr. č. 35: Larvy
L. dispar (17–24)
Lih (70%)
(foto autor)



Obr. č. 36: Larvy
T. molitor (17–24)
Lih (70%)
(foto autor)



Obr. č. 37: Larvy
Muscidae (17–24)
Lih (70%)
(foto autor)

11.2.4. Metoda vyfukování



Obr. č. 38: Larvy
C. aurata (25–32)
Vyfukování
(foto autor)



Obr. č. 39: Larvy
L. dispar (25–32)
Vyfukování
(foto autor)



Obr. č. 40: Larvy
T. molitor (25–32)
Vyfukování
(foto autor)



Obr. č. 41: Larvy
Muscidae (25–32)
Vyfukování
(foto autor)

11.2.5. Zalévání do pryskyřice



Obr. č. 42: Larvy
C. aurata (33–40)
Pryskyřice
(foto autor)



Obr. č. 43: Larvy
L. dispar (33–40)
Pryskyřice
(foto autor)



Obr. č. 44: Larvy
T. molitor (33–40)
Pryskyřice
(foto autor)



Obr. č. 45: Larvy
Muscidae (33–40)
Pryskyřice
(foto autor)