

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
Pedagogická fakulta  
Katedra biologie

**Oogeneze u dlouhověkého druhu vodních ploštic  
hladinatky člunohřbeté (*Velia caprai*)  
(Heteroptera: Gerromorpha: Veliidae)**

KAROLÍNA MÁLKOVÁ

**Diplomová práce**

Vedoucí diplomové práce: prof. RNDr. Miroslav Papáček, CSc.

České Budějovice  
2011

## **Abstrakt:**

**MÁLKOVÁ K. 2011: Oogeneze u dlouhověkého druhu vodních ploštic hladinatky člunohřbeté (*Velia caprai*) (Heteroptera: Gerromorpha: Veliidae).**

Magisterská diplomová práce, PF JU, České Budějovice. 60 s.

V této práci byla studována oogeneze histologickými metodami u nymf 5. instaru, dospělých samic přesně definovaného stáří a u dospělých samic *Velia caprai* (Heteroptera: Gerromorpha: Veliidae) neznámého stáří odchycených v terénu.

U nymf 5. instaru byly zjištěny nejen oogonie v germariu, ale i první formující se oocyty I v previtellariu. Vitellarium je v této fázi vývoje prázdné. První vitellogenetické oocyty ve vitellariu ovariol se objevují u 7 denních dospělých samic. U 25 denních dospělých samic byly pozorovány oocyty v pokročilém stupni vitellogeneze. Sekrece chorionu vajíček začíná u dospělých samic starých 42 dní. U 60 denních dospělých samic, u dospělých samic sbíraných v terénu v období září až listopadu (2009) i u dospělých samic po přezimování byla zjištěna pokročilá stádia oogeneze – vajíčka s chorionem. Dospělé samice *Velia caprai* dosahují pohlavní zralosti před přezimováním, jejich vajíčka jsou schopna oplození spermii z vlastní spermatéky. Samice jsou připraveny ke kladení vajíček od podzimu do jara. Po dosažení pohlavní zralosti probíhá oogeneze u dospělých samic průběžně.

**Klíčová slova:** Oogeneze, *Velia caprai*, Heteroptera, Veliidae, střední Evropa

**Vedoucí diplomové práce:** prof. RNDr. Miroslav Papáček, CSc.

Diplomová práce byla řešena v rámci výzkumného záměru MSM 6007665801.

## **Abstract:**

**MÁLKOVÁ K. 2011: Oogenesis in long-lived water bug *Velia caprai* (Heteroptera: Gerromorpha: Veliidae).** MSc. Thesis, University of South Bohemia, Faculty of Education, České Budějovice. 60 pp.

This thesis presents results of the histological study of oogenesis in the nymphs of 5th instar, variously aged adult females of known age and adult females of *Velia caprai* ((Heteroptera: Gerromorpha: Veliidae) of unknown age that were collected in the field.

Oogonia in the germarium and the first oocytes that are forming in previtellarium were observed in the nymphs of the 5th instar. Their vitellarium is empty. The first vitellogenic oocytes appear in vitellarium of ovarioles at 7 days old adult females. Oocytes in advanced stage of vitellogenesis were observed at 25 days old adult females. The secretion of chorion starts at 42 days old adult females. Advanced stage of oogenesis (fully chorionated eggs) was found at 60 days old adult females, at adult females collected in the field, during the period September – November (2009), and at adult females after overwintering. Females of *Velia caprai* reach sexual maturity before overwintering, their eggs can be fertilized by spermatozoa from own spermatheca. These females can lay eggs from autumn to the spring. After reaching sexual maturity of adult females, oogenesis of this species seems to be continual.

**Keywords:** Oogenesis, *Velia caprai*, Heteroptera, Veliidae, Central Europe

**Supervisor:** Prof. RNDr. Miroslav Papáček, CSc.

This project was supported by the grant of The Czech Ministry of Education, Youth and Sports No. 6007665801.

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci na téma „**Oogeneze u dlouhověkého druhu vodních ploštic hladinatky člunohřbeté (*Velia caprai*) (Heteroptera: Gerromorpha: Veliidae)**“ jsem vypracovala samostatně pod vedením a s využitím konzultací vedoucího diplomové práce. Veškerou použitou literaturu a prameny cituji a uvádím v seznamu literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě fakultou elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Blatné 13. 4. 2011

.....

Děkuji prof. RNDr. Miroslavu Papáčkovi, CSc. za odborné vedení mé diplomové práce, za zájem a čas, který mi po celou dobu mé práce věnoval,

PaedDr. Radce Závodské, Ph.D. za odborné vedení a pomoc při přípravě trvalých histologických preparátů,

RNDr. Tomáši Ditrichovi, Ph.D. za cenné rady a pomoc při vedení chovů a preparaci,

paní Mirce Krovové za pomoc, ochotu, trpělivost a poskytnutí technických prostředků,

Mgr. Janu Petrovi, Ph.D. za ochotu, pomoc a cenné rady při úpravě fotografií a dalším zaměstnancům katedry, kteří přispěli v jakékoli míře k vypracování této práce.

Děkuji i Lucii Bělinové, Lence Vilimovské, Janě Růžičkové, Tomáši Čejkovi a celé své rodině za neocenitelnou pomoc, trpělivost a toleranci při vypracovávání této práce.

## Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod .....</b>	<b>9</b>
<b>2</b>	<b>Literární přehled .....</b>	<b>10</b>
<b>2.1</b>	<b>Samičí reprodukční soustava hmyzu .....</b>	<b>10</b>
2.1.1	Vaječníky (ovaria) .....	11
2.1.2	Postranní vejcovody .....	14
2.1.3	Společný vejcovod .....	14
2.1.4	Spermatéka (semenná schránka, receptaculum seminis) .....	15
2.1.5	Samičí přídatné pohlavní žlázy .....	15
2.1.6	Pohlavní komora (bursa copulatrix, camera genitalis) .....	15
2.1.7	Vagina .....	15
<b>2.2</b>	<b>Samičí reprodukční soustava ploštic .....</b>	<b>16</b>
2.2.1	Samičí reprodukční soustava hladinatky člunohřbeté ( <i>Velia caprai</i> ) (Heteroptera: Gerromorpha: Veliidae) .....	17
<b>2.3</b>	<b>Pohlavní dozrávání samic hmyzu .....</b>	<b>17</b>
2.3.1	Vitellogeneze .....	17
2.3.2	Tvorba žloutkové (vitelinní) membrány a chorionu .....	18
<b>2.4</b>	<b>Vývoj samičí reprodukční soustavy vybraných druhů ploštic.....</b>	<b>19</b>
2.4.1	Příklad vývoje samičí reprodukční soustavy u terestrických ploštic – krev sající zákeřnice <i>Triatoma infestans</i> (Heteroptera: Cimicomorpha: Triatomidae) .....	19
2.4.2	Příklady vývoje reprodukční soustavy u univoltinních vodních ploštic (Heteroptera: Nepomorpha) .....	19
2.4.2.1	Bodule obecná ( <i>Ilyocoris cimicoides</i> ) (Heteroptera: Nepomorpha: Naucoridae) .....	19
2.4.2.2	Klešťanka velká ( <i>Corixa punctata</i> ) (Heteroptera: Nepomorpha: Corixidae) .....	20
2.4.2.3	Znakoplavka obecná ( <i>Notonecta glauca</i> ) (Heteroptera: Nepomorpha: Notonectidae) .....	21
2.4.3	Vývoj reprodukční soustavy u samic dlouhověkých vodních ploštic .....	23
2.4.3.1	Hlubenka skrytá ( <i>Aphelocheirus aestivalis</i> ) (Heteroptera: Nepomorpha: Aphelocheiridae) .....	23

2.4.3.2	Hladinatka člunohřbetá ( <i>Velia caprai</i> ) (Heteroptera: Gerromorpha: Veliidae) .....	25
<b>3</b>	<b>Materiál a metodika .....</b>	<b>26</b>
<b>3.1</b>	<b>Studovaný druh .....</b>	<b>26</b>
<b>3.2</b>	<b>Chovy .....</b>	<b>27</b>
3.2.1	Chov M (vedený Karolínou Málkovou) .....	27
3.2.2	Chov B (vedený Lucií Bělinovou) .....	29
3.2.3	Chov P (vedený vedoucím diplomové práce) .....	30
3.2.4	Materiál z terénu odebíraný pro preparace vaječnicků a sledování oogeneze .....	31
<b>3.3</b>	<b>Odběry dospělců definovaného stáří, fixace, preparace, značení .....</b>	<b>31</b>
<b>3.4</b>	<b>Příprava histologických preparátů gonád .....</b>	<b>33</b>
3.4.1	Promývání vypreparovaných gonád .....	33
3.4.2	Zalévání gonád do paraplastu a řezání na rotačním mikrotomu .....	33
3.4.3	Barvení a příprava trvalých preparátů .....	34
<b>3.5</b>	<b>Studium gametogeneze a příprava dokumentace .....</b>	<b>34</b>
<b>3.6</b>	<b>Terminologie a zkratky .....</b>	<b>35</b>
<b>4</b>	<b>Výsledky .....</b>	<b>36</b>
<b>4.1</b>	<b>Nymfy 5. instaru z terénu z 10. 9. 2009 .....</b>	<b>36</b>
<b>4.2</b>	<b>Dospělé samice známého stáří z chovu M, B a P .....</b>	<b>36</b>
4.2.1	Dospělé samice do 1 dne ± 12 hod po ekdysi .....	36
4.2.2	Dospělé samice 7 dní ± 1 den po ekdysi .....	36
4.2.3	Dospělé samice 14 dní ± 1 den po ekdysi .....	36
4.2.4	Dospělé samice 25 dní ± 1 den po ekdysi .....	37
4.2.5	Dospělé samice 42 dní ± 2 dny po ekdysi .....	37
4.2.6	Dospělé samice 60 dní ± 2 dny po ekdysi .....	37
4.2.7	Srovnání oogeneze dospělých samic z chovů M, B a P .....	37
4.2.8	Poznámka k morfologii gynatria .....	38
<b>4.3</b>	<b>Dospělci z terénu .....</b>	<b>46</b>
4.3.1	Dospělé samice po přezimování odchycené a preparované 6. 4. 2009 .....	46
4.3.2	Dospělé samice odchycené a preparované 10. 9. 2009 .....	46

4.3.3	Dospělé samice odchycené v terénu a chované v chladu při nedostatku potravy od 10. 9. 2009 do 26. 11. 2009 .....	47
4.3.4	Dospělé samice odchycené 24. 11. 2009 a preparované 26. 11. 2009 .....	47
4.3.5	Dospělé samice z hladových chovů vedených od 24. 11. 2009 do 15. 1. 2010 .....	47
<b>5</b>	<b>Diskuse a závěr .....</b>	<b>52</b>
<b>5.1</b>	<b>Oogeneze u nymf 5. instaru .....</b>	<b>52</b>
<b>5.2</b>	<b>Oogeneze u dospělých samic známého stáří z chovů .....</b>	<b>53</b>
<b>5.3</b>	<b>Oogeneze u dospělých samic neznámého stáří z terénu .....</b>	<b>55</b>
<b>5.4</b>	<b>Kutikulární struktura dorzální části gynatria a ústí spermatéky .....</b>	<b>57</b>
<b>5.5</b>	<b>Využití této práce v pedagogické praxi .....</b>	<b>57</b>
<b>6</b>	<b>Seznam literatury .....</b>	<b>58</b>



# 1 Úvod

Hlavním cílem diplomové práce bylo zjistit průběh oogeneze u hladinatky člunohřbeté (*Velia caprai* Tamanini, 1947) (Heteroptera: Gerromorpha: Veliidae) prostřednictvím studia histologie gonád dospělých samic různého známého stáří a následně určit délku pohlavního dozrávání samic.

Vývojem samičí pohlavní soustavy *Velia caprai* se již ve své diplomové práci zabýval Ditrich (2005), který porovnával ovaria samic známého stáří na základě morfologických pozorování. Existuje mnoho obdobných studií o pohlavním vývoji samic jiných druhů ploštic. Vývojem pohlavní soustavy u samic dlouhověké vodní ploštice *Aphelocheirus aestivalis* se zabývali Papáček a Soldán (2008), vývojem pohlavní soustavy u uvivoltinních vodních ploštic např. Papáček a Soldán (1987a), Papáček a Bohoněk (1989), Papáček et al. (1997) a vývojem pohlavní soustavy u terestrické zákeřnice *Triatoma infestans* Ibañez de Barrett et al. (2004).

K naplnění hlavního cíle diplomové práce byly stanoveny cíle dílčí. Prvním z nich bylo odchytit v terénu nymfy 5. instaru a následně založit chovy tak, aby po svlečení do dospělců bylo možné určit jejich přesné stáří. Dalším cílem bylo vypreparovat gonády samic známého stáří, nařezat je pomocí rotačního mikrotomu a následně tyto řezy nabarvit a zhotovit z nich trvalé histologické mikropreparáty. Posledním cílem bylo zdokumentovat oogenezi a pořídit demonstrační fotografie.

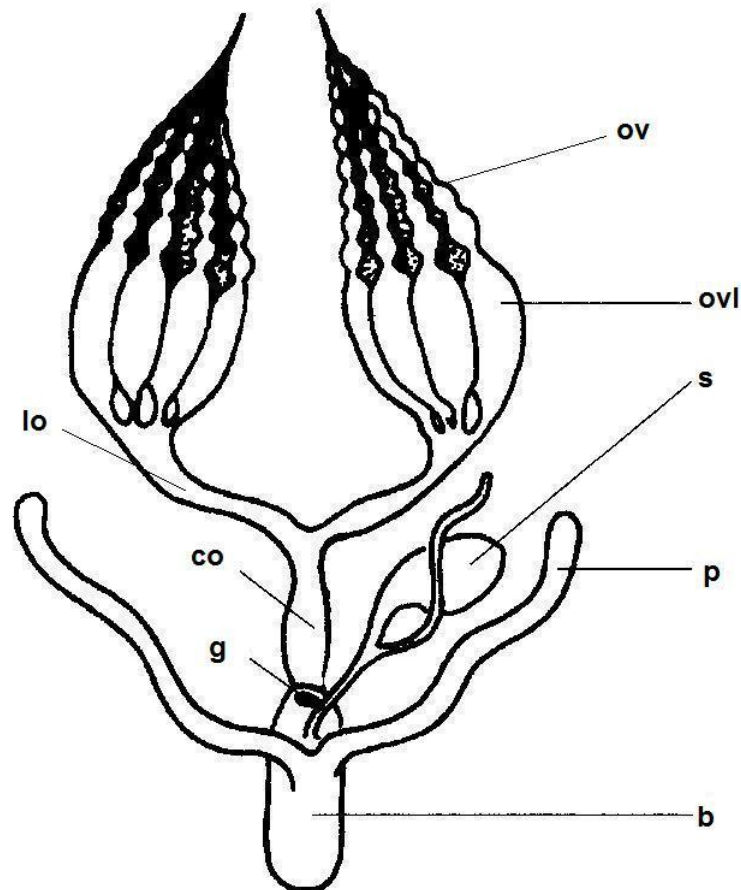
Prostřednictvím této práce se zjistilo, že oogeneze u dlouhověkého druhu vodních ploštic *Velia caprai* probíhá průběžně a samice pohlavně dozrávají ještě před prvním přezimováním.

## 2 Literární přehled

### 2.1 Samičí reprodukční soustava hmyzu

Strukturou samičí reprodukční soustavy hmyzu se zabývali např. Obenberger (1952), Borror a kol. (1976), Horn (1976), Ross a kol. (1982), Gillot (1995) a Buchar (2000).

Reprodukční soustava samic se skládá z vaječníků, postranních vejcovodů a společného vejcovodu. Společný vejcovod vstupuje do vakovité struktury, vaginy. Vagina se může vychlipovat a tvoří pohlavní komoru, ve které je během kopulace uložen spermatofor nebo semenná tekutina. S vaginou je spojena spermatéka a přídatné žlázy (Gillot, 1995). Všichni zmínění autoři samičí reprodukční soustavu hmyzu prakticky shodně zobrazují (viz např. Obr 2.1).



**Obr. 2.1** Samičí reprodukční soustava hmyzu. Podle Buchara (2000), upraveno.

b: pohlavní komora, co: společný vejcovod, g: gonoporus, lo: postranní vejcovod, ov: vaječník, ovl: ovariola, p: přídatné pohlavní žlázy, s: spermatéka.

### 2.1.1 Vaječníky (ovaria)

Strukturou, ultrastrukturou a vývojem ovarí hmyzu se zabýval srovnávacím způsobem detailně Büning (1994). Obenberger (1952) označuje ovaria jako méně pevné útvary tvořené vaječnými trubicemi (ovariolami). Ovarioly jsou obklopeny sítí pojivové tkáně, svaly a tracheolami (Gillot, 1995) a ústí přímo do konečné části vejcovodu nebo vyúsťují do vejcovodu po straně a za sebou (Obenberger, 1952).

Obenberger (1952) rozlišuje dle postavení ovariol ovaria typická a atypická. Mezi typická ovaria řadí ovaria hřebenitá (u *Heterojapyx* z čeledi Japygidae), dvojitě hřebenitá (někteří škvoři), hroznovitá, podkovovitá (některé pošvatky), chumáčkovitá a svazčitá. Mezi atypická ovaria zahrnuje ovaria jednotrubicová s jedinou vyvinutou ovariolou (u mšic, mnohých hmyzenek, *Protura* a *Thysanura*), dále ovaria, kde není rozdíl mezi ovariem a ovariolou a útvar funguje jako ovarium bez ovarioly, a ovaria asymetrická, kde je vyvinuté pouze jedno ovarium a druhé degeneruje (chrobáci *Scarabeidae*).

Počet ovariol v ovariu bývá pro daný druh neměnný, ale interspecificky je různý (Gillot, 1995). V ovariu bývají čtyři, šest či osm ovariol, ve výjimečných případech jedna nebo naopak více. Rekordní počet ovariol nalezneme u samic všekazů, které mají v každém ovariu dva až tři tisíce ovariol (Obenberger, 1952).

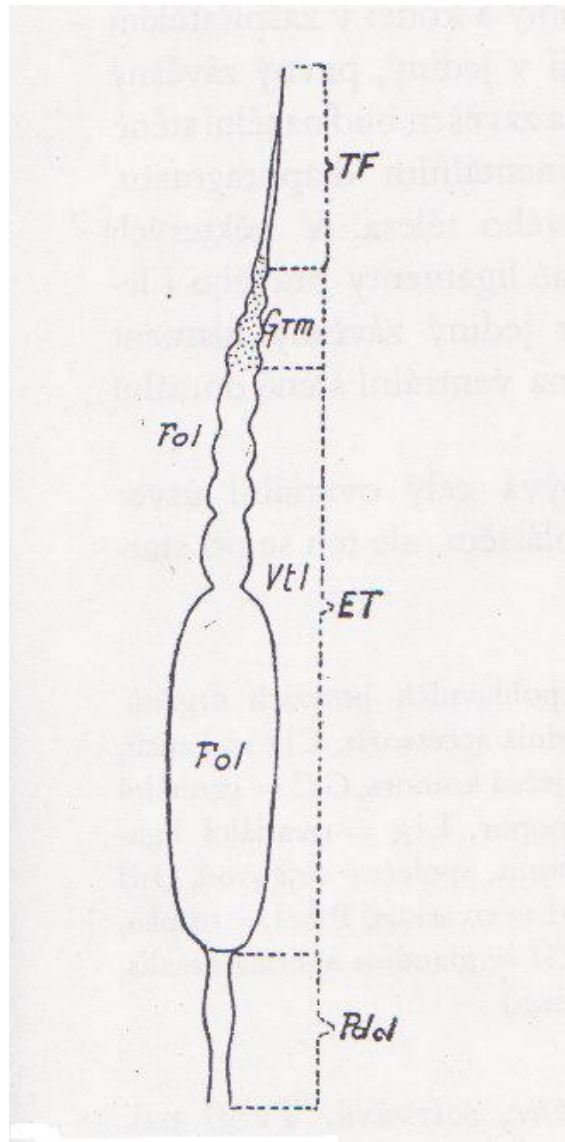
### Stavba ovariol

Ovariola se skládá z koncového vlákna (terminální filament), vaječné trubice a stopky (pedicellus) (viz Obr. 2.2). Krytá je tenkou blánou (tunica propria). U některých skupin hmyzu je na povrchu této blány ještě epiteliální obal. Terminální filament je pevné vlákno na přední části ovarioly. Společně s filamenty ostatních ovariol tvoří pevný ligament (suspensorium), který zavěšuje ovarium na tělní stěnu. Jen ve výjimečných případech se terminální filamenty ovariol nespojují.

Vaječná trubice je místem, kde vaječné buňky vznikají, rostou a dospívají. Rozlišují se dvě části, germarium a vitellarium (Obenberger, 1952). Germarium obsahuje primární zárodečné buňky (oogonie), které se diferencují v oocyty, vyživovací buňky a buňky folikulární (Ross a kol., 1982). Když oocyty dozrávají a vstupují do vitellaria, mají tendenci uspořádat se podél ovarioly (Gillot, 1995). Folikulární buňky

se seskupují podél stěny vitellaria, tvoří folikulární vrstvu, trofocyty se seskupují podél osy ovarioly. V nižších částech vitellaria vznikají vaječné komory (folikuly), které se zvětšují s růstem oocytů. Vaječné trubice jsou vyživovány osmoticky z krve a tukového tělesa, důležitou roli mají folikulární buňky (Obenberger, 1952). Vitellarium je oblast, ve které oocyty akumulují žloutek - proces známý jako vitellogeneze (Gillot, 1995). Když akumulace žloutku ustává, folikulární buňky produkují žloutkovou membránu a chorion a následně degenerují, stejně jako buňky vyživovací (Ross a kol., 1982).

Pedicellus označuje Obenberger (1952) jako krátkou stopku spojující vaječnou trubici s vejcovodem.



**Obr. 2.2** Stavba ovarioly. (Převzato z Obenbergera (1952)).

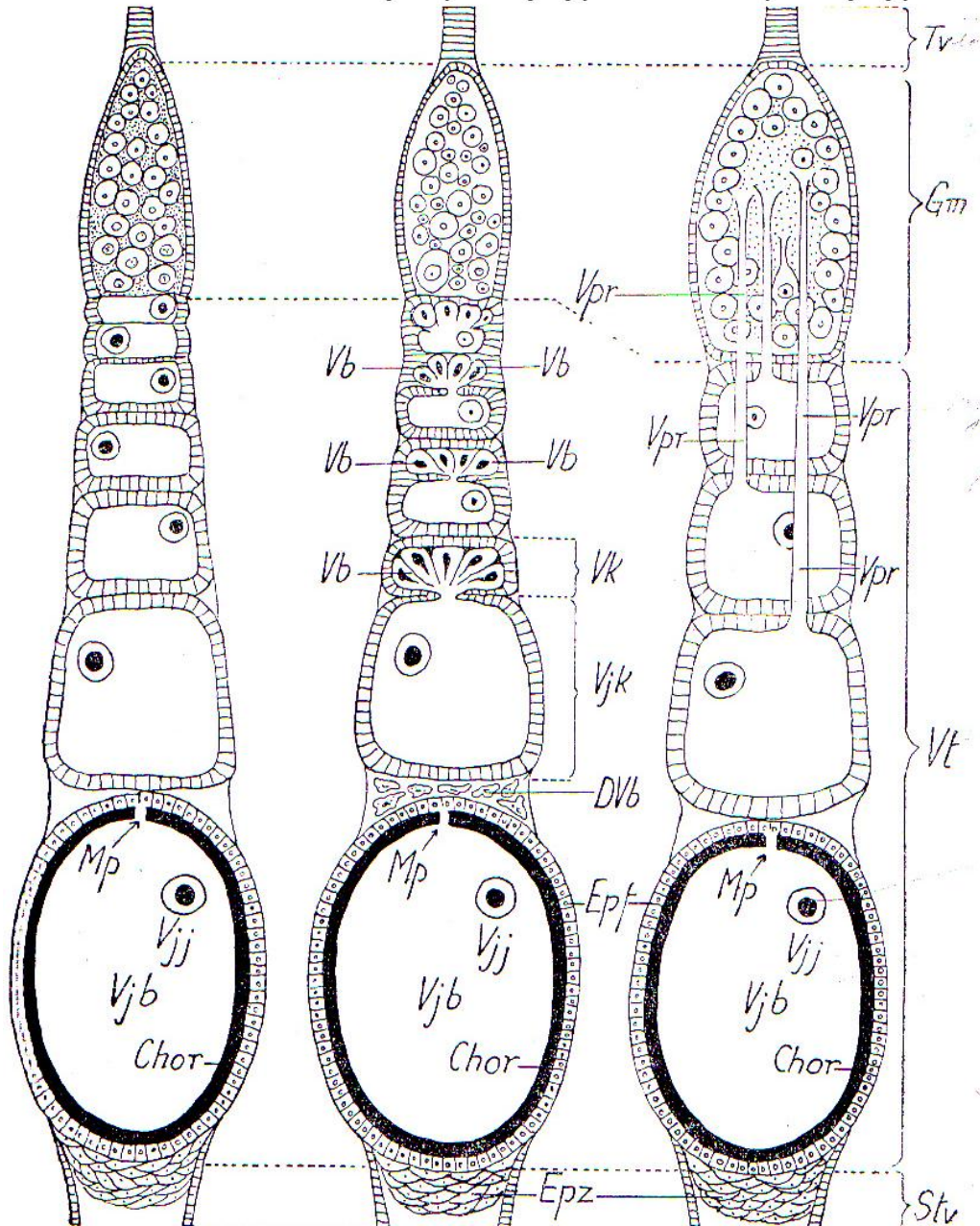
ET: vaječná trubice, Fol: folliculus, Grm: germarium, Pdcl: pedicellus,  
TF: terminální filament, Vtl: vitellarium.

Panoistický typ

Meroistický typ

Polytrophický typ

Telotrophický typ



Obr. 2.3 Typy ovariol. (Převzato z Obenbergera (1952)).

Chor: chorion, DVb: degenerované vyživovací buňky, Epf: epitheliální folliculus, Epz: epitheliální „zátk“, Gm: germarium, Mp: micropyle, Stv: stopka vaječníku, Tv: terminální vlákna, Vb: vyživovací buňky, Vjb: vaječná buňka, Vjj: jádro vaječné buňky, Vjk: vaječná komora, Vk: vyživovací komora, Vpr: vyživovací provazec, Vt: vitellarium.

## Typy ovariol

Dle výživy buněk ve vaječné trubici dělí Obenberger (1952), Horn (1976), Ross a kol. (1982), Büning (1994) a Gillot (1995) ovariole na panoistické a meroistické a uvádějí nákresy jednotlivých typů (viz Obr. 2.3).

Panoistické ovariole neobsahují výživné buňky, oocyty přijímají výživné látky přes folikulární epitel z vnějšku (typické pro vidličnatky rodu *Japyx*, jepice, vážky, blechy). Ovariole meroistické obsahují zvláštní vyživovací buňky, prostřednictvím kterých získává vajíčko vyživovací látky. Dle funkce těchto buněk rozlišujeme ovariole polytrofní, kde v každém folikulárním pouzdru je oocyt a skupina vyživovacích buněk (sít'okřídli, vši, brouci, motýli, blanokřídli), a ovariole akrotrofické (telotrofické), kde nutritivní buňky zůstávají v horní části ovariole (germariu), nepronikají do vitellaria a oocyty jsou vyživovány přes vyživovací provazec (ploštice, brouci) (Obenberger, 1952). Vyživovací provazec je prodlouženou částí oocytu. Jeho délka se mění v závislosti na pozici oocytu v ovariole (Büning, 1994). Je-li vajíčko vyvinuto, vytváří se chorion a tento provazec se přeruší (Obenberger, 1952).

### 2.1.2 Postranní vejcovody

Postranní vejcovody jsou kanálky sloužící k transportu vajíček. Jejich přední část tvoří rozšířený kalich (calix), do kterého ústí pedicely jednotlivých ovariol. Postranní vejcovody ústí do vejcovodu společného (Obenberger, 1952).

Téměř u všech skupin hmyzu se postranní vejcovody spojují s vejcovodem společným v mediální rovině těla pod střevem, u jepic zůstávají postranní vejcovody oddělené a otvírají se vně nezávisle (Gillot, 1995).

### 2.1.3 Společný vejcovod

Společný vejcovod je obvykle více svalnatý než vejcovod postranní (Gillot, 1995). Vlévá se zpravidla do pohlavní komory, popř. vaginy. Na jeho konci se nachází pohlavní samičí vývod, gonopor (nejedná se o kopulační otvor, ale o otvor sloužící pouze k vypouštění vajíček z vejcovodu). Kopulačním otvorem je vulva, otvor pohlavní komory (Obenberger, 1952).

#### **2.1.4 Spermatéka (semenná schránka, receptaculum seminis)**

Obenberger (1952) představuje spermatéku jako vchlípeninu tělní stěny na sternální straně osmého článku. Je tvořena semennou komorou (camera seminalis) a kanálkem (ductus receptaculi), který spojuje semennou komoru s vaginou. Se spermatékou je spojená trubicovitá žláza (glandula receptaculi) produkující tekutinu, která slouží k uložení spermatu a má nutritivní význam. Vývod spermatéky ústí do dorzální stěny vaginy.

Ve spermatéce je sperma uloženo od doby páření. Zralé vajíčko prochází vejcovodem a v okamžiku, kdy mívá spermatéku, dojde k uvolnění spermií a vajíčko může být oplozeno (Horn, 1976). Obvykle je přítomna jedna spermatéka, ve které jsou spermie skladovány, ale u některých zástupců dvoukřídlých se vyskytují až tři. Spermatéka i kanálek jsou lemované kutikulou. Kutikula překrývá žláznaté buňky jednovrstevného epitelu, které vyměšují živiny pro skladované spermie (Gillot, 1995).

#### **2.1.5 Samičí přídatné pohlavní žlázy**

Přídatné pohlavní žlázy produkují lepivý sekret umožňující připevnění vajíček k podkladu nebo sekret vytvářející ochranný obal vajíčka (Borror a kol., 1976). Jedná se o párové nevětvené trubice rozšířené v zásobníky pro sekret (Obenberger, 1952). U blanokřídlých mohou žlázy produkovat jed nebo feromony (Gillot, 1995).

#### **2.1.6 Pohlavní komora (bursa copulatrix, camera genitalis)**

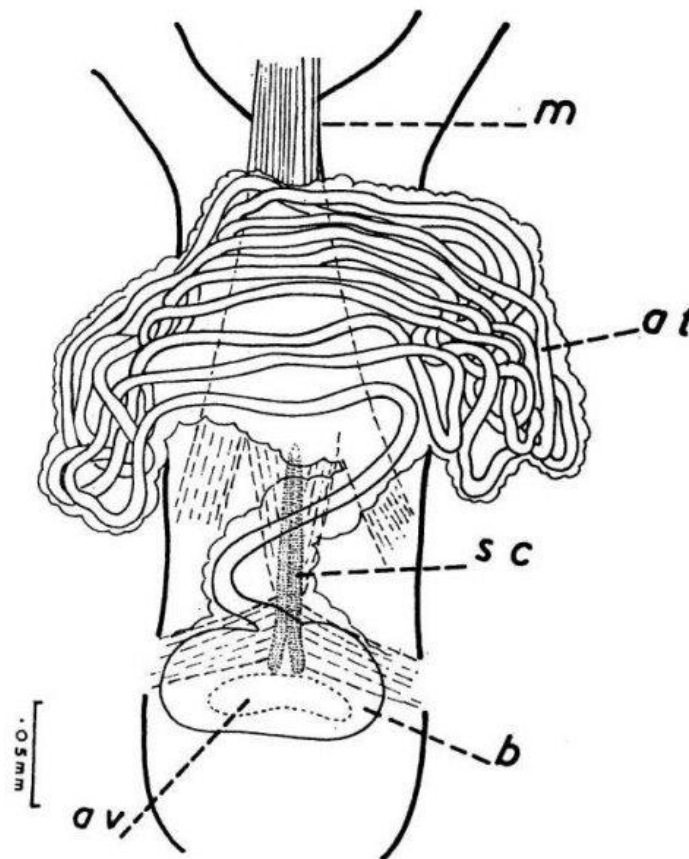
Pohlavní komora je místem vlastní kopulace. Vývodem této komory je vulva. Je-li komora protáhlá a spojená se společným vejcovodem, bývá označována jako vagina (Obenberger, 1952). Z pohlavní komory je sperma dále odváděno do spermatéky (Buchar, 2000).

#### **2.1.7 Vagina**

Jak uvádí Obenberger (1952), vagina vzniká z pohlavní komory a otevírá se původně na osmém článku. U cikád, srpc, většiny chrostíků, motýlů a brouků se otvor vaginy nachází na devátém článku (vývod slouží k páření i ke snášení vajíček).

## 2.2 Samičí reprodukční soustava ploštic

Samičí reprodukční soustavu ploštic vybraných druhů poměrně detailně studoval Pendergrast (1957) a v české odborné literatuře ji popisuje např. Obenberger (1958). Soustava je tvořena různým počtem ovariol (nejméně dvě, nejvíce osm, nejčastěji však sedm ovariol) s jedním až čtyřmi folikuly. Jeden pár přídatných pohlavních žláz produkuje sekret, který je využit k připevňování vajíček k podkladu a dalším účelům (Obenberger, 1958). Pendergrast (1957) se zabýval zejména studiem spermatéky. Je-li přítomná spermatéka, je lemovaná vrstvou chitinu. Tato vrstva může mít podobu tenké membrány, ale může být i silná a sklerotizovaná. Reprodukční soustava ploštic má jednotný charakter (s výjimkou spermatéky).



**Obr. 2.4** Reprodukční soustava *Velia caprai* (spermatéka a vagina).

(Převzato z Pendergrasta (1957), upraveno dle Ditricha (2005).

at: apikální trubice spermatéky, av: ústí spermatéky do vaginy, b: bulbus spermatéky, m: sval, sc: sklerotizovaný sval.



## 2.2.1 Samičí reprodukční soustava hladinatky člunohřbeté

### (*Velia caprai*) (Heteroptera: Gerromorpha: Veliidae)

Samičí reprodukční soustavu uvedeného druhu popisují např. Pendergrast (1957) a Ditrich (2005) ve své diplomové práci. Ovaria jsou tvořena 4 + 4 telotrofními ovariolami. Spermatéka se skládá z bulbu spermatéky a dlouhé stočené trubice do tvaru elipsoidu (Ditrich, 2005). Pendergrast (1957) zobrazuje nákres spermatéky a vaginy *Velia caprai* (viz Obr. 2.4).

## 2.3 Pohlavní dozrávání samic hmyzu

Tématem pohlavního dozrávání samic hmyzu se podrobně zabývali Gillot (1995), částečně také Ross a kol. (1982) a Bradshaw a Holzapfel (2010).

Mezi procesy pohlavního dozrávání samic lze zařadit vitellogenezi, vývoj charakteristického tělesného zbarvení, vývoj žláz produkujících feromony, růst reprodukčního traktu zahrnujícího přídatné žlázy a zvýšenou vnímavost. Tyto procesy jsou kontrolovány endokrinním systémem, jehož aktivita je ovlivňována vnějšími podněty (Gillot, 1995). Dospělí jedinci hmyzu ihned po svlečení jsou zřídka kdy pohlavně zralí. Ve většině případů potřebují samice k dozrávání několik dnů. Páření probíhá v době, kdy vajíčka uvnitř vaječnicků nejsou ještě zralá a spermie jsou proto uchovávány ve spermatéce (Ross a kol., 1982).

Vývoj vaječnicků je ovlivněn délkou dne. Dlouhé dny podporují jejich zrání, neboť inhibují neurohormon znemožňující vylučování juvenilního hormonu z corpora allata. Krátké dny naopak podporují účinek neurohormonu, který má za následek ovarialní diapauzu. Tímto tématem u ploštice *Riptortus pedestris* se zabývali Bradshaw a Holzapfel (2010).

### 2.3.1 Vitellogeneze

Vitellogeneze probíhá u terminálního oocyty ve vitellariu uvnitř ovariooly. Oocyt zvětší svou velikost a jeho zvětšující se povrch umožňuje zachytit prakticky všechny dostupné živiny. Objevují se granulka nebo vakuoly známé jako žloutkové kuličky -

sféry. Žloutkové sféry obsahují proteiny, lipidy a sacharidy. Objevuje se i malé množství nukleových kyselin.

Tukové těleso v průběhu vitellogeneze poskytuje množství specifických proteinů, které se hromadí okolo terminálního oocytu. Malý podíl žloutkových proteinů pochází z folikulárních buněk a buněk vyživovacích. Tunica propria je volně propustná pro všechny rozpuštěné látky uvnitř hemolymfy.

Lipidy tvoří značný podíl žloutku a mohou být syntetizovány oocytem nebo dodávány oocytu z folikulárních buněk. U polytrofních ovariol octomilky (*Scophophora* sp.) jsou lipidy oocytu dodávány z vyživovacích buněk, u telotrofických ovariol z buněk vyživovacích (časná vitellogeneze) i z buněk folikulárních (Gillot, 1995).

Glykogen se objevuje obvykle jen v malém množství (u meroistických ovariol po degeneraci vyživovacích buněk). U druhů rodu *Apis* (Hymenoptera) a *Musca* (Diptera) je značená glukosa vstříknutá do hemolymfy rychle akumulovaná oocytem (v pozdní vitellogenezi) a zřejmě se přeměňuje v glykogen (Engelmann (1970) cit. in Gillot (1995)).

### **2.3.2 Tvorba žloutkové (vitelinní) membrány a chorionu**

Po dokončení vitellogeneze se tvoří vitelinní membrána a později chorion. Na základě dřívějších pozorování vznikaly názory, že vitelinní membrána je produkována oocytem. Nedávné studie však potvrdily, že vitelinní membrána je produkována folikulárními buňkami. Povaha membrány je mezi druhy odlišná (Gillot, 1995).

Chorion je pevný, pro plyny propustný obal vajíčka, který je produkován folikulárními buňkami. Jeho funkcí je ochrana vajíčka před vyschnutím a jeho dýchání (aeropyle). U vajíček některých druhů zajišťuje příjem vody, u jiných naopak přístupu vody brání (Hůrka, 1978). Zahrnuje dvě hlavní vrstvy, endochorion, přiléhající k vitelinní membráně, a exochorion. U některých skupin hmyzu, např. u druhů čeledi Acrididae (Orthoptera), je při pohybu společným vejcovodem utvářena ještě třetí vrstva, extrachorion. Aby bylo usnadněno líhnutí, není na jedné straně oocytu vylučován exochorion. Síla vrstvy vitelinní membrány i chorionu se mezi druhy mění (Gillot, 1995). Produkce vajíček u většiny hmyzu je řízena jedním či více hormony z corpora allata. Odebrání corpora allata brání vzniku vajíčka, zpětná reimplantace

obnoví aktivitu vaječníků. Důležitou roli v produkci vajíček hrají vnější faktory jako fotoperioda či teplota (Borror a kol., 1976).

## **2.4 Vývoj samičí reprodukční soustavy vybraných druhů ploštic**

### **2.4.1 Příklad vývoje samičí reprodukční soustavy u terestrických**

#### **ploštic – krev sající zákeřnice *Triatoma infestans***

#### **(Heteroptera: Cimicomorpha: Triatomidae)**

Morfologickými a histologickými změnami samičích gonád u všech pěti nymfálních stádií *Triatoma infestans* se zabývali Ibañez de Barrett et al. (2004).

Ovaria nymf 1. instaru jsou tvořena ze sedmi ovariol. Terminální filameny se sdružují a tvoří závěsný ligament. Na histologické úrovni je možné rozlišit terminální filament, tělo ovariol a pedicel. V průběhu 1. instaru jsou samčí gonády o něco větší než samičí. U ovariol nymf 2. instaru lze pozorovat trofárium a ještě nediferencovanou oblast. Velikost pedicelu zůstává zachována. Ovaria jsou obklopena tracheolami. Ovarioly nymf 3. instaru ještě nejsou odděleny. Tělo ovariol je rozděleno na trofárium, přechodnou zónu a pedicel. Přechodná zóna je rozeznatelná mezi vyvíjejícím se trofáriem a pedicelem. U nymf 4. instaru narůstá množství tracheol, které tvoří hustý povlak ovarii. Na histologické úrovni ovariol lze rozlišit oddělené trofárium, přechodnou oblast a tvořící se vitellarium. Počet buněk trofária se zvětšuje, zmenšuje se jejich velikost. Terminální filament se prodlužuje, pedicel je zcela vyvinutý. U nymf 5. instaru dochází k reorganizaci buněk trofária. Zvětšuje se vitellarium, ve kterém je možné pozorovat rostoucí oocyty (Ibañez de Barrett et al., 2004).

### **2.4.2 Příklady vývoje reprodukční soustavy u univoltinních vodních**

#### **ploštic (Heteroptera: Nepomorpha)**

#### **2.4.2.1 Bodule obecná (*Ilyocoris cimicoides*)**

#### **(Heteroptera: Nepomorpha: Naucoridae)**

Vývojem samičí reprodukční soustavy u nymf 1. – 5. instaru a různě starých dospělých jedinců *Ilyocoris cimicoides* se zabývali Papáček et al. (1997).

Základy ovarii v podobě homogenní masy zárodečných buněk s mitotickou aktivitou u nymf 1. a 2. instaru jsou velké 0,1 – 0,2 mm a jsou obklopené tukovým tělesem. Jednotlivé ovariooly ještě nejsou diferencovány. Postranní vejcovody jsou spojeny s ovarii. V průběhu 3. instaru dochází k diferenciaci ovariol (na konci 3. instaru je možné rozlišit sedm ovariol nestejně délky tvořených pouze z germarií) a dochází k vchlípení základů vaginy a spermatéky. Během 4. instaru se ovariooly prodlužují, tvoří se trofické syncytium a formuje se základ společného vejcovodu. U nymf 5. instaru je rozlišitelné vitellarium se 4 – 6 previtellogenetickými oocyty. Zvětšuje se spermatéka a získává téměř definitivní tvar (je tvořená kanálem spermatéky a bulbem spermatéky). Vnější vrstvu postranního i společného vejcovodu tvoří svalovina, vnitřní vrstvu epitel.

Ovaria dospělých samic ihned po svlečení z 5. instaru se podobají ovarii nymf 5. instaru, ale ovariooly jsou delší. Zárodečné buňky jsou soustředěny do úzkého pruhu v distální části germaria. U dospělých samic starých 2 – 4 týdny lze pozorovat 4 – 7 oocytů s trofickým provazcem. Vitellogeneze začíná u jednoho či dvou nejstarších oocytů. V polovině listopadu (počátek diapauzy) je ve vitellariu 14 – 15 vaječných komor. Žloutková granulka zakrývají jádro u 1 – 3 nejstarších oocytů. Vývoj ovarii a vitellogeneze ustává během diapauzy (od poloviny listopadu do poloviny března). Od poloviny března se ovariooly intenzivně prodlužují. Sekrece chorionu začíná v období od konce března do poloviny dubna, od poloviny dubna jsou vajíčka kladena. Nejstarší oocyt přezimujících dospělých samic měří okolo 1 mm., tj. téměř polovina délky vajíčka s chorionem.

Epitel vaječných komor se během vitellogeneze a sekrece chorionu mění. Folikulární epitel proximálních vaječných komor u dospělých samic před přezimováním je vysoký a sloupcovitý, epitel u vitellogenetických oocytů kubický a epitel před sekrecí chorionu kubický, tvořený z dvoujaderných buněk (Papáček et al., 1997).

#### **2.4.2.2 Klešťanka velká (*Corixa punctata*)**

##### **(Heteroptera: Nepomorpha: Corixidae)**

Papáček a Bohoněk (1989) studovali vývoj ovarii a sexuální zralost u *Corixa punctata* a došli k následujícím závěrům.

Dospělé samice ihned po svlečení z nymf 5. instaru, jejichž kutikula ještě není kompletně sklerotizovaná, mají výrazně kratší ovaria než postranní vejcovody. Germarium je oválné, vitellarium prázdné. Dospělé samice se sklerotizovanou kutikulou sbírané v červenci mají ovaria a postranní vejcovody poněkud delší než dospělé samice ihned po ekdysi. V proximální části vitellaria je 1 nebo 2 oocyty ve folikulech. U dospělých samic sbíraných v srpnu jsou oocyty elipsoidního typu, vitellarium je značně prodloužené, obsahuje 4 – 5 vaječných komor. Postranní vejcovody jsou zkrácené. Germarium u dospělých samic sbíraných v září je prodloužené a má kulovitý tvar. Vitellarium se prodlužuje, postranní vejcovody zkracují. V první polovině září je ve vitellariu 4 – 5 vaječných komor, ve druhé polovině 7 – 11. V nejkratších ovariolách se poslední oocyt nachází téměř v oblasti pedicelu a je spojen s trofickým provazcem. Ovaria dospělých samic sbíraných v druhé polovině října jsou výrazně delší, délka postranních vejcovodů je téměř nezměněná. V každé ovariole je 13 – 18 vaječných komor. U dospělých samic sbíraných těsně před přezimováním (konec listopadu) se počet vaječných komor ve vitellariu zvyšuje na 17 – 20. U téměř všech ovariol oocyt sestupuje až k pedicelu a je vyživován trofickým provazcem. Vajíčka s chorionem ještě nejsou přítomná. Během přezimování je vývoj ovarii zastaven, ve vitellariu je stejný počet vaječných komor jako u dospělých samic před přezimováním. U dospělých samic po přezimování (březen a začátek dubna) vyplňují ovaria téměř celý zadeček a jejich germariální část se prodlužuje až k zadohrudí. Vajíčka položená nejdálěji mají chorion. Chorion je vylučován folikulárními buňkami na jaře po tání ledu nebo na konci přezimování.

Ovaria dospělých samic zkoumané jihočeské populace se vyvíjejí a jejich vajíčka zrají přes období 9 – 9,5 měsíců. Samice té generace, která se vylíhla z vajíček nakladených na jaře jednoho roku, dosahují sexuální zralosti a kladou vajíčka na jaře roku následujícího.

### **2.4.2.3 Znakoplavka obecná (*Notonecta glauca*)**

#### **(Heteroptera: Nepomorpha: Notonectidae)**

Vývojem samičí reprodukční soustavy u *Notonecta glauca* se zabývali Papáček a Soldán (1987a).

U zralých samic oba zmínění autoři rozlišují pět typů oocytů. Zakulacené germariální oocyty (oocyt V) s kulatými jádry jsou soustředěné v tenké vrstvě v nejnižší části germaria. Previtellogenetické oocyty (IV) se začínají zvětšovat a jsou postupně obklopeny jednovrstevným sloupcovým folikulárním epitelem a uspořádány do řady na konci previtellaria nebo na začátku vitellaria. Trofický provazec je dobře vyvinutý. Ve vitellariu se tedy nachází previtellogenetické oocyty IV a mladé postvitellogenetické oocyty III obklopené sloupcovým epitelem. Posledními typy jsou starší postvitellogenetické oocyty II obklopené folikulárním kubickým epitelem a oocyt I po přerušení trofického provazce obklopený nízkými folikulárními buňkami.

Ovaria dospělých samic ihned po svlečení z 5. instaru jsou zúžená, ovarioly rozlišené v germarium, vitellarium s 1 – 2 vaječnými komorami a pedicel. U dospělých samic starých 3 týdny vykazují ovaria intenzivní růst. Germarium je širší než proximální část vitellaria. Vitellarium obsahuje 4 – 10 vaječných komor většinou s oocyty III. Nejstarší oocyt měří okolo 0.40 – 0.46 mm. Trofický provazec je dobře vyvinutý. Ovaria 2 měsíce starých dospělých samic jsou prodloužená, nejstarší oocyt měří okolo 0.40 – 0.50 mm. Ovaria dospělých samic před přezimováním a samic přezimujících jsou delší, vitellarium obsahuje obvykle 10 – 15, vzácně 25, vaječných komor s oocyty II obklopenými kubickým epitelem a žloutkem v ooplazmě. Zralé oocyty I s přerušeným trofickým provazcem pozorovány nebyly. Nejstarší oocyt v blízkosti pedicelu má velikost 1.02 – 1.15 mm. Jelikož nebyly zjištěny morfologické nebo histologické změny v počtu vaječných komor a ve vitellogenezi během přezimování, lze předpokládat, že vývoj gonád je v tomto období zastaven.

První zralé oocyty I se začínají objevovat na konci března, zralá vajíčka s chorionem v dubnu. V tomto období nastává ovulace prvního zralého vajíčka vyplňujícího pedicel. Corpus luteum v ovariolách je patrné během první dekády v květnu. Lalok spermatéky a kanálek jsou asi 15 mm dlouhé. Spermatéka se mění v závislosti na množství spermií uvnitř obsažených.

Ovaria samic 1. a 2. instaru nejsou rozlišená v ovarioly, tvoří pouze těleso nepravidelného tvaru obsahující zárodečné buňky ve stádiu malých oogonií. Nejsou vytvořená terminální vlákna. U samic 3. instaru mají ovaria trojúhelníkový tvar, postupně se tvoří terminální vlákna. Ovarioly jsou rozlišitelné až těsně před ekdysí a jsou složeny pouze z germaria. Vitellarium utvořené není. Většina zárodečných buněk

je ve stádiu oogonií. Z oogonií uvnitř germaria vznikají oocyty V a trofocyty, které jsou stejně velké, rozeznatelné jen dle struktury jádra. Jaderný chromatin trofocytů je více kondenzovaný. U samic 4. instaru jsou germaria ovariol delší, vitellarium není vyvinuté. Na konci tohoto stádia se diferencuje previtellarium a pedicel. Ovarium je spojené s postranním vejcovodem a tvoří základ calix. Většina oogonií je rozlišena do oocytů a trofocytů, tenká vrstva nediferencovaných oogonií je v blízkosti apikálního úseku germaria. V previtellariu je několik oocytů. Na konci instaru se objevují trofické alveoly a krátký trofický provazec k několika oocytům v previtellariu. Ovaria samic 5. instaru jsou delší, postranní vejcovody kratší. Postupně se tvoří vitellarium. Tvorba germaria je ukončena, množství oogonií je zanedbatelné. Vitellogenetické oocyty (IV) jsou obklopeny jednovrstevným folikulárním epitelem, prodlužuje se trofický provazec. Vitellarium má 1 – 2 vaječné komory, oocyt III se nachází v nejstarší z nich. Pouze velmi vzácně byla pozorována žlutková granula. Pedicel jednotlivých ovariol je poměrně dlouhý a prázdný.

### **2.4.3 Vývoj reprodukční soustavy u samic dlouhověkových vodních ploštic**

Jen málo druhů ploštic, včetně vodních, žije ve stádiu dospělé déle než jeden rok. Mezi takové patří bentická vodní ploštice dýchající plastronem jen kyslík rozpuštěný ve vodě hlubinka skrytá a semiakvatická ploštice hladinatka člunohřbetá (viz např. Ditrich, 2005; Papáček a Soldán, 2008).

#### **2.4.3.1 Hlubinka skrytá (*Aphelocheirus aestivalis*)**

##### **(Heteroptera: Nepomorpha: Aphelocheiridae)**

Studiem histologie, ultrastruktury a morfologického uspořádání samičího reprodukčního systému *Aphelocheirus aestivalis* (Fabricius, 1803) u nymf 1. – 5. instaru a bezkřídlých dospělců různého stáří se zabývali Papáček a Soldán (2008) a zjistili následující skutečnosti.

## **Ovaria a oogeneze**

Ovaria nymf 1. a 2. instaru jsou rozeznatelná mezi druhým a třetím zadečkovým článkem jako nenápadné kulovité struktury. Ovarioly ještě nejsou rozlišené a terminální vlákno není rozpoznatelné. Pozorovány byly buňky stejné velikosti a tvaru, pravděpodobně časně oogonie. Rozlišení ovariol a terminálního vlákna nastává u nymf 3. instaru. V proximálním úseku ovariol mohou být rozeznatelné zárodečné oocyty. V následném vývoji se celkový tvar a struktura ovarii mění jen málo (kromě lineárního růstu ovariol). U nymf 4. instaru lze pozorovat trofické syncytium a první vaječnou komoru, mnohvrstevný folikulární epitel a v germariu zóny oogonií a oocyty. Konečné formování trofického syncytia a previtellogenetických vaječných komor s velmi patrným trofickým provazcem nastává během 5. instaru.

Ovaria dospělých samic (ihned po svlečení) se neliší od ovarii nymf 5. instaru. Dobře rozlišitelné vitellarium obsahuje 4 – 6 vaječných komor s jednovrstevným folikulárním epitelem previtellogenetických oocytů. Prázdný proximální úsek vitellaria je dlouhý a zabírá více než polovinu délky ovarioly. Vitellogeneze začíná ve dvou nebo třech proximálních vaječných komůrkách 3 – 4 týdny po svlečení. Chorion se začíná tvořit ve dvou nebo třech proximálních folikulech 5 – 7 týdnů po svlečení. V této době je v ovariole obsaženo 6 – 8 vitellogenetických a previtellogenetických oocytů. Ovaria vyplňují téměř celou břišní dutinu. Oogeneze se zdá být kontinuální, ale ustává v zimě.

## **Postranní a společný vejcovod, spermatéka, vagina**

Již u nymf 1. a 2. instaru je základ ovarii spojen s postranními vejcovody. Základ společného vejcovodu a vagina se tvoří u nymf 3. instaru. U nymf 4. instaru dochází k vychlípění bursa copulatrix, vchlípění základu spermatéky a jsou patrné sekreční buňky spermatekální žlázy. Během 5. instaru se mění velikost odvodných cest. Postranní vejcovody se zkracují v závislosti na lineárním růstu ovariol. Stěny vaginy a spermatéky jsou vytvořeny během 4. a 5. instaru. U dospělých samic dochází ke zkracování postranních vejcovodů a prodlužování ovariol. Spermatéka se lehce prodlužuje. Tvar ani velikost spermatekální žlázy se nemění.



### 2.4.3.2 Hladinatka člunohřbetá (*Velia caprai*)

#### (Heteroptera: Gerromorpha: Veliidae)

Vývojem samičí pohlavní soustavy hladinatky člunohřbeté (*Velia caprai*) se zabýval ve své diplomové práci Ditrich (2005) a došel k následujícím závěrům.

V ovarích nymf 1. instaru jsou rozpoznatelná 4 germaria. Jednotlivé ovariooly rozlišeny nejsou. Ovaria nymf 2. a 3. instaru se postupně zvětšují. U nymf 3. instaru je mezi germariem a postranním vejcovodem rozlišitelná přechodná zóna a začínají se diferencovat distální části ovariol. Postranní vejcovod se spojuje s vejcovodem společným a tvoří se základ bulbu spermatéky.

Ovaria nymf 4. a 5. instaru jsou větší, zvětšuje se spermatéka a nabývá téměř definitivního tvaru. Mezi ovarii nymf 5. instaru existují rozdíly. Některé nymfy mají ovaria podobná ovarii dospělých samic (zkrácený postranní vejcovod, dlouhá vitellaria, vyvinutá spermatéka), jiné mají naopak larvální typ ovarii (málo zkrácený postranní vejcovod, krátké či nerozlišené vitellarium, menší spermatéka).

Germaria právě svlečených dospělých samic mají elipsovitý tvar, vitellaria jsou přibližně stejně velká. Dobře patrné previtellarium obsahuje nejvýše 2 oocyty. Kutikula je velmi měkká a světlá. Germaria 7 denních dospělých samic se prodlužují a zužují. Previtellaria a vitellaria jsou prodloužená (v previtellariu se nacházejí maximálně 4 vaječné komůrky). Všechny oocyty se nachází v previtellariu. Kutikula je stále měkká, barvou odpovídající kutikule starších samic. U dospělých samic starých 25 dní se zkracují germaria (šířka je zachována), previtellaria a dochází k sestupu oocytů do rostoucího vitellaria. Kutikula je již sklerotizovaná.

Dospělé samice staré 7 týdnů lze považovat za zralé, pohlavně dospělé. Germaria se rozšiřují (délka je zachována) a jsou kulatá. Previtellarium mizí, vitellarium naopak rychle roste. Objevuje se až 17 zralých vajíček s chorionem. U většiny samic byla prokázána ovulace. Ovaria 2 měsíce starých dospělých samic se výrazně neliší od ovarii dospělých samic starých 42 dní.

## 3 Materiál a metodika

### 3.1 Studovaný druh

#### Hladinatka člunohřbetá *Velia caprai* Tamanini, 1947

(Insecta: Hemiptera: Heteroptera: Gerromorpha: Veliidae)

Hladinatka člunohřbetá (*Velia caprai* Tamanini, 1947) je dravá semiakvatická ploštice obývající hladiny tekoucích vod malých lesních potůčků, tůní, kaluží i rybníků. Pohybuje se aktivně po hladině a živí se suchozemských hmyzem, komáry či planktonními korýši. Často napadá i vlastní nymfy či nymfy jiných semiakvatických ploštic. Vyskytuje se ve dvou křídelních morfách – dlouhokřídlé a bezkřídlé (tento jev je pro semiakvatické ploštice zcela běžný) (Ditrich a Papáček, 2008). Unikátní je její způsob přezimování, neboť přezimuje ve stádiu dospělého i vajíčka. Tato strategie zajišťuje přizpůsobení změnám podmínek prostředí a je výjimečná mezi Gerromorpha i hmyzem obecně (Ditrich a Papáček, 2009). *Velia caprai* je dlouhověký druh, který úspěšně přezimuje a může se rozmnožovat i po druhém přezimování. Nelze vyloučit, že přezimuje i více než dvakrát. Vajíčka klade samice nad zem do trávy a mechu, daleko od hladiny vod. Kladení může probíhat na podzim před prvním přezimováním, v zimě, na jaře, na podzim před druhým přezimováním i na jaře po druhém přezimování (Ditrich a Papáček, 2008). Oválná vajíčka vodních Hemiptera je možné rozeznat podle tuhého chorionu tvořícího síť šestiúhelníků (Usinger, 1956).

Většina samic dosahuje pohlavní zralosti před přezimováním, kopuluje se zralými samci a zimu tráví aktivně. Vajíčka jsou kladena během zimy a líhnutí může být vyvoláno zvyšující se teplotou (Ditrich a Papáček, 2009). Pohlavně nezralí dospělci a samci v průběhu zimy hibernují. V létě se dospělci ukrývají v mechu u břehu a jsou neaktivní – estivují (Ditrich a Papáček, 2008). Životní cyklus může být považován za univoltinní s věkovými kohortami posunutými v čase (Ditrich a Papáček, 2009).

*Velia caprai* je rozšířená téměř po celé Evropě: Andorra, Rakousko, Belgie, Česká republika, Dánsko, Francie, Velká Británie, Německo, Řecko, Maďarsko, Irsko, Itálie, Lichtenštejnsko, Lucembursko, Holandsko, Norsko, Polsko, Portugalsko, Rumunsko, Slovensko, Španělsko, Švédsko, Švýcarsko, státy bývalé Jugoslávie (Andersen, 1995).

## 3.2 Chovy

Za účelem studia histologie gonád dospělých samic různého známého stáří byly v terénu odchyceny starší nymfy (4. a 5. instaru) a následně založeny chovy tak, aby u jednotlivých jedinců bylo možné po svlečení do dospělců definovat stáří. Chovy byly vedeny ve 3 variantách, které měly i vzájemně odlišné podmínky.

### 3.2.1 Chov M (vedený Karolínou Málkovou)

#### Chov nymf 4. a 5. instaru

Pro tento chov byli náhodně odchyceni jedinci starších larválních stádií (nymfy 4. a převážně 5. instaru) z potoka vlévajícího se do Homolského rybníka v lokalitě Třebín (souřadnice 48°57'36.197''N; 14°23'39.762''E, nadmořská výška 410 – 421 m) v blízkosti Českých Budějovic, kde se průměrná roční teplota pohybuje okolo 8,2°C. První odchyt byl proveden 25. 6. 2009. Bylo odchyceno 43 jedinců. Během pěti dnů 17 jedinců uhynulo. 30. 6. 2009 byl proto proveden další odchyt. Odchyceno bylo 68 jedinců, z toho jich 29 nepřežilo. Zůstalo tedy 39 jedinců.

Z těchto dvou odchytů bylo dohromady získáno 65 jedinců 4. a převážně 5. larválního instaru, kteří byli umístěni do dvou skleněných akvárií o rozměrech 23 x 15 cm (půdorys) a 15 cm (výška). Do akvárií byla nalévána pitná voda asi do výšky 4 cm a měněna každé 3 – 5 dní (v závislosti na znečištění). Na vodní hladinu byly položeny 3 kusy polystyrenu o průměrném rozměru 5 x 3 cm, které sloužily jako břeh a odpočinkové místo pro hladinatky. Do akvárií nebyla umístěna vegetace z důvodu lepšího pozorování svlékajících se nymf do dospělých stádií. Akvárium bylo umístěno v místnosti v blízkosti okna směřujícího na východ, kam přímé světlo pronikalo pouze v dopoledních hodinách. Průměrná teplota místnosti se pohybovala okolo 20 – 24°C (letní období).

Nymfy byly krmeny dvoukřídlym hmyzem (Diptera), druhy: moucha domácí (*Musca domestica*), bzučivka obecná (*Calliphora vicina*), bzučivka zlatá (*Lucilia caesar*), masařka obecná (*Sarcophaga carnaria*), octomilka (*Scophophora* sp.), popř. tiplice obrovská (*Tipula maxima*). Krmení probíhalo každé 2 – 3 dny, do akvária byly vhozeny 2 – 3 kusy dvoukřídleho hmyzu, popř. několik desítek kusů octomilek.

Chov nymf byl pravidelně sledován a byli odebíráni dospělí jedinci ihned po svlečení (v hypotetickém fyziologickém čase dospělého stádia nula, tedy  $t \leq 0$ ).

### **Chov dospělých jedinců**

Dospělí jedinci po svlečení byli odebíráni z akvária a umisťováni do jednotlivých sklenic o průměru 8 – 11 cm a výšce 12 – 15 cm. Do sklenic byla nalévána pitná voda do výšky 3 – 4 cm. Voda byla měněna každé 3 – 5 dní (v závislosti na znečištění). Na hladinu byly vloženy 1 – 3 kusy polystyrenu o průměrném rozměru 3 x 2 cm. Každá sklenice byla opatřena štítkem, na kterém bylo zaznamenáno datum svlečení. Všechny sklenice byly umístěny v místnosti v blízkosti okna směřujícího na východ při průměrné pokojové teplotě 20 – 24°C.

Každý den byli odebíráni nově svlečení jedinci a umisťováni do jednotlivých sklenic dle stejného stáří. Samci a samice byli chováni pohromadě, aby byly zachovány podmínky pro možnost kopulace (po celou dobu chovu však kopulace nebyla pozorována).

Jedinci byli krmeni stejnými druhy hmyzu jako nymfy. Zpočátku krmení probíhalo každé 3 – 6 dní a do jednotlivých sklenic byly házeny 1 – 2 kusy dvoukřídlého hmyzu či několik kusů octomilek v závislosti na počtu jedinců ve sklenici (červenec 2009). V srpnu 2009 bylo pozorováno shlukování hladinatek do skupin (agregací), jejich potravní aktivita ustala a krmení probíhalo maximálně 1x za týden (v tomto období hladinatky potravu přijímaly jen výjimečně). Potravní aktivita se opět zvýšila až v polovině září 2009, kdy byly hladinatky opět krmeny každé 3 – 6 dní.

Z označených sklenic byli potom odebíráni jedinci různého známého stáří k fixaci a následné preparaci pohlavní soustavy podle následujícího časového harmonogramu:

odebraní dospělci: do 1 dne ( $\pm 12$  hod) po ekdysi

7 dní ( $\pm 1$  den) po ekdysi

14 dní ( $\pm 1$  den) po ekdysi

25 dní ( $\pm 1$  den) po ekdysi

42 dní ( $\pm 2$  dny) po ekdysi

60 dní ( $\pm 2$  dny) po ekdysi

Poznámka: V průběhu od založení chovu dospělých jedinců po dobu ukončení jejich odebírání nepřežilo celkem 7 jedinců, z toho jedna dlouhokřídlá forma. Po ukončení odebírání jedinců zemřelo ještě 6 jedinců vlivem neúmyslného použití insekticidu proti molu šatnímu (*Tineola bisselliella*), z toho opět jedna dlouhokřídlá forma (v populaci čítající na úplném počátku 111 jedinců se tedy vyskytovaly 2 dlouhokřídlé formy). Celkem tedy nepřežilo 13 dospělých jedinců a k preparaci bylo odebráno 33 jedinců. Z 65 jedinců (nymf 4. – 5. instaru na počátku) zbylo tedy pouze 19 dospělých jedinců (17 samic a 2 samci).

Tito zbylí jedinci byli přemístěni 30. 9. 2009 z jednotlivých sklenic do skleněného akvária o rozměrech 23 x 15 cm (půdorys) a 15 cm (výška). Pohromadě tak byli chováni dospělí jedinci lišící se od sebe stářím maximálně 4 dnů (jedinci svlečení v době od 4. 7. do 8. 7. 2009). Akvárium bylo naplněno vodou do výšky asi 4 cm a voda byla měněna přibližně 1x za týden. Do akvária byl vložen mech, který tvořil břeh a místo, kde hladinatky trávily většinu času. Akvárium bylo umístěno ve venkovním skleníku (PF JU), kde průměrná teplota podzimních měsíců byla 13 – 15°C. Jedinci byli krmeni octomilkami (*Scophophora* sp.) 1x za týden.

### **3.2.2 Chov B (vedený Lucií Bělinovou)**

Nymfy 4. a 5. instaru byly chovány ve dvou akváriích s rozměry 18 x 42 cm (půdorys), 25 cm (výška) a 18 x 25 cm (půdorys), 18 cm (výška). Dospělí jedinci po svlečení byli umisťováni do sklenic o průměru 7 – 15 cm, výšce 12 – 24 cm. V každé sklenici byl různý počet jedinců (1 – 16) v závislosti na velikosti sklenice.

Do akvárií i sklenic byla nalévána pitná voda do výšky asi 2 – 5 cm a měněna dle teploty a znečištění každé 2 – 5 dní. Na vodní hladinu byly vloženy kusy polystyrenu o průměrném rozměru 4 x 3 cm. Akvária i sklenice byly umístěny ve stinném místě pokoje, kde se průměrné teploty pohybovaly okolo 25°C.

Nymfy v akváriích byly krmeny 1x denně dvoukřídlým hmyzem (Diptera), druhy: bzučivka obecná (*Calliphora vicina*), moucha domácí (*Musca domestica*), bzučivka zlatolesklá (*Lucilia sericata*) a tiplice obrovská (*Tipula maxima*). Do akvárií byly házeny 2 – 4 kusy dvoukřídlého hmyzu. Nymf ale postupně ubývalo (svlékaly se do dospělců a ti byli odebírání do sklenic) a do akvárií byly házeny pouze 1 – 2 kusy. Dospělí jedinci ve sklenicích byli v červenci 2009 krmeni dvoukřídlým hmyzem každé

2 – 3 dny. Na počátku srpna přestali o potravu jevit zájem a krmení byli proto maximálně 1x do týdne (v tomto období se však o potravu nezajímali). Jejich potravní aktivita opět vzrostla a častější krmení probíhalo od 9. 9 – 30. 9. 2009.

Následně byli zbylí dospělí jedinci smícháni do akvária o rozměrech 23 x 15 cm (půdorys) a 15 cm (výška). Akvárium bylo naplněno vodou do výšky asi 4 cm a voda byla měněna přibližně 1x za týden. Do akvária byl vložen mech, který tvořil břeh. Akvárium bylo umístěno ve venkovním skleníku (PF JU), kde průměrná teplota podzimních měsíců byla 13 – 15°C. Jedinci byli krmeni octomilkami (*Scophophora* sp.) 1x za týden.

Na zimu byli jedinci z chovu M i B v akváriích umístěni do termoboxu. Přezimování v termoboxu však nepřežili.

### **3.2.3 Chov P (vedený vedoucím diplomové práce)**

Celkem 150 nymf 4. a 5. instaru odchycených na lokalitě v oblasti Baronova mostu v Novohradských horách (48°37'32.255"N, 14°39'31.52"E) bylo chováno ve třech akváriích o rozměrech 30 x 50 x 25 cm, s uměle vytvořeným břehem z rašeliníku (v každém akváriu bylo 50 nymf). Akvárium bylo umístěno v chladné zastíněné místnosti, kde se průměrná teplota vzduchu po celou dobu chovu pohybovala okolo 15 – 18°C. Světelné podmínky víceméně simulovaly zastínění v tišinách potoka v podrostu, kde byl materiál sbírán. Voda byla nalévána do výšky 5 cm.

Nymfy byly krmeny každé 3 dny různými druhy komárů, pakomárů a dalším drobným hmyzem (Diptera, Sternorrhyncha, Auchenorrhyncha) smýkaným na trávě. Úmrtnost nymf byla 27 % a to zejména vlivem poruch a napadení při svlékání.

Ihned po svlékání nymf do dospělců byli jedinci odebíráni a umístováni do malých akvárií o rozměrech 15 x 10 x 10 cm tak, aby v jednom akváriu byli vždy jedinci stejného stáří. Obě pohlaví byla chována pohromadě a za stejných podmínek jako nymfy. Stáří dospělců bylo zaznamenáno na stěnu akvárií. Z označených akvárií byli následně odebíráni jedinci různého známého stáří k fixaci a následné preparaci pohlavní soustavy dle stejného časového harmonogramu jako v případě chovů M a B.

### **3.2.4 Materiál z terénu odebíraný pro preparace vaječníků a sledování oogeneze**

Vedoucím diplomové práce byli dále k preparaci odebráni dospělci po přezimování odchycení v Novohradských horách (smrceni a fixováni 6. 4. 2009), nymfy 5. instaru a dospělci z terénu Novohradských hor z data 10. 9. 2009, dospělci odchycení v Novohradských horách a chování v chladné zastíněné místnosti při nedostatku potravy od 10. 9. 2009 do 26. 11. 2009, dospělci z terénu Novohradských hor odchycení a udržování živí v chladniče od 24. 11. 2009 do 26. 11. 2009 a dospělci z hladového chovu od 24. 11. 2009 do 15. 1. 2010.

### **3.3 Odběry dospělců definovaného stáří, fixace, preparace, značení**

Dospělci byli odebíráni dle předem stanoveného časového harmonogramu (viz Tab. 3.I) a vkládáni do ependorfek naplněných Bouinovou fixází. Termíny odběrů odpovídaly termínům makroskopického studia vývoje gonád druhu, ve kterých tento vývoj sledoval ve své diplomové práci Ditrich (2005). Ependorfky byly řádně označeny a popsány (pohlaví, datum odběru, stáří jedince).

Samičí genitálie byly po čase vypitvány pod stereomikroskopem v 96 % ethanolu. 60 denní dospělé samice (60 fM a 60 fB) nebyly fixovány, ale usmrceny ethylacetátem v den odběru. Jejich genitálie byly ihned vypitvány pod stereomikroskopem ve fyziologickém roztoku (0,9 % roztok NaCl).

Při preparaci byla použita ostrá pinzeta, entomologická pinzeta, Petriho miska, plastové kapátko, krystalizační miska, entomologické špendlíky a injekce s jehlou na promývání vypreparovaných částí. Vypitvané gonády, popř. fragmenty gonád, byly vloženy do ependorfek s Bouinovou fixází. Každá ependorfka byla opatřena předem stanoveným označením, které popisovalo stáří samice a chov, z něhož samice pocházela (viz Tab. 3.III, zvýrazněná část).

Jedinci z chovu P a jedinci z terénu Novohradských hor (viz Tab. 3.II a 3.IV) byli k preparaci odebráni, vypitváni a značení vedoucím diplomové práce.

**Tab. 3.I** Počet odebraných jedinců různého stáří k preparaci z chovu M, B a P

Stáří jedinců	Chov M		Chov B		Chov P	
	samci	samice	samci	samice	samci	samice
do 1 dne ( $\pm 12$ hod)	1	3	5	3	0	4
7 dní ( $\pm 1$ den)	0	0	6	6	0	4
14 dní ( $\pm 1$ den)	6	6	0	0	2	2
25 dní ( $\pm 1$ den)	3	3	3	3	5	1
42 dní ( $\pm 2$ dny)	3	3	3	3	2	5
60 dní ( $\pm 2$ dny)	0	3	6	3	0	1

**Tab. 3.II** Počet odebraných jedinců k preparaci z terénu Novohradských hor

Odebraní jedinci	samci	samice
dospělci po přezimování odchycení v Novohradských horách (smrcení a fixování 6. 4. 2009)	4	4
nymfy 5. instaru z terénu Novohradských hor z data 10. 9. 2009	3	1
dospělci z terénu Novohradských hor z data 10. 9. 2009	7	6
dospělci odchycení v Novohradských horách a chování v chladné zastíněné místnosti při nedostatku potravy od 10. 9. 2009 do 26. 11. 2009	3	7
dospělci z terénu Novohradských hor odchycení a udržování živí v chladničce od 24. 11. 2009 do 26. 11. 2009	3	3
dospělci z hladového chovu od 24. 11. 2009 do 15. 1. 2010	3	3

**Tab. 3.III** Značení vypreparovaných gonád různě starých jedinců chovu M, B a P

Stáří jedinců	Chov M		Chov B		Chov P	
	samci	samice	samci	samice	samci	samice
do 1 dne ( $\pm 12$ hod)	1 mM	1 fM	1 mB	1 fB	neznačeno	1 fP
7 dní ( $\pm 1$ den)	neznačeno	neznačeno	7 mB	7 fB	neznačeno	7 fP
14 dní ( $\pm 1$ den)	14 mM	14 fM	neznačeno	neznačeno	14 mP	14 fP
25 dní ( $\pm 1$ den)	25 mM	25 fM	25 mB	25 fB	25 mP	25 fP
42 dní ( $\pm 2$ dny)	42 mM	42 fM	42 mB	42 fB	42 mP	42 fP
60 dní ( $\pm 2$ dny)	neznačeno	60 fM	60 mB	60 fB	neznačeno	60 fP



**Tab. 3.IV** Značení vypreparovaných gonád jedinců z terénu Novohradských hor

Odebraní jedinci	samci	samice
dospělci po přezimování odchycení v Novohradských horách (smrceni a fixování 6. 4. 2009)	ADmOv	ADfOv
nymfy 5. instaru z terénu Novohradských hor z data 10. 9. 2009	L5mP	L5fP
dospělci z terénu Novohradských hor z data 10. 9. 2009	ADmP	ADfPK ADfPD
dospělci odchycení v Novohradských horách a chování v chladné zastíněné místnosti při nedostatku potravy od 10. 9. 2009 do 26. 11. 2009	ARmP	ARfP
dospělci z terénu Novohradských hor odchycení a udržování v chladničce od 24. 11. 2009 do 26. 11. 2009	AFAm	AFAf
dospělci z hladových chovů od 24. 11. 2009 do 15. 1. 2010	Am	Af

### 3.4 Příprava histologických preparátů gonád

#### 3.4.1 Promývání vypreparovaných gonád

Gonády fixované Bouinovou fixází byly v ependorfkách promyty nejprve třikrát po 30 minutách 70 % ethanolem a následně odvodněny sérií alkoholů (dvakrát po 30 minutách 96 % ethanolem, dvakrát po 30 minutách 100 % ethanolem) a dvakrát po 20 minutách chloroformem. Aby bylo zajištěno dokonalé promývání, byly ependorfký umístěny na rotační inkubátor s nástavci.

#### 3.4.2 Zalévání gonád do paraplastu a řezání na rotačním mikrotomu

Promyté gonády byly zality roztaveným paraplastem (Paraplast SIGMA) do malých plastových forem určených pro zalévání vzorků tkání. Formy byly přes noc ponechány v peci při teplotě 58°C, aby paraplast prostoupil tkání. Po vyndání z pece byly vzorky v plastových formách vhodně zorientovány pro řezání gonád podél pomocí nahřívané jehly a ponechány při pokojové teplotě.

Zatuhlý paraplast se vzorky gonád byl vyjmut z plastové formy, upraven pomocí skalpelu a přitaven k dřevěnému bločku. Bloček byl umístěn a připevněn na rotační mikrotom (Rotační Mikrotom Leica RM 2235). Byly pořízeny řezy tenké 8 µm,

umístěny na podložní sklíčko (podložní sklíčka Super Frost Plus, Menzel – Gläser, 25 x 75 x 1 mm) a ponechány na vyhřívané plotýnce při 42°C po dobu 48 hodin.

### **3.4.3 Barvení a příprava trvalých preparátů**

Řezy byly barveny metodou podle Malloryho. Nejprve bylo provedeno vymytí parafínu z řezů. Řezy na podložním sklíčku byly umístěny do speciálních kyvet naplněných xylenem (dvakrát na 10 minut), 96 % alkoholem, 70 % alkoholem (vždy na 5 minut) a destilovanou vodou (na 5 min).

Následně byly řezy barveny v kyvetě s Ponceau – kyselým fuchsinem (červená barva), který byl připraven z 0,1 g Ponceau de xyloidine, 0,2 g kyselého fuchsinu, 294 ml destilované vody a 6 ml ledové kyseliny octové. Následovalo barvení v kyvetě s 1 % kyselinou fosfomolybdenovou (žlutá barva) a nakonec Malloryho směsí (černá barva). Malloryho směs byla připravena povařením 100 ml destilované vody s 0,5 g anilínové modři, 1 g oranžičky G a 2 g kyseliny šťavelové. Mezi jednotlivými barveními byla sklíčka s řezy vkládána do kyvet s destilovanou vodou, aby byla odstraněna přebytečná barva.

Na závěr byla sklíčka s obarvenými řezy postupně umístěna do kyvet naplněných 70 % alkoholem, 96 % alkoholem a 100 % alkoholem (vždy na 2 až 3 minuty) a do kyvet s xylenem (dvakrát na 5 minut).

K přípravě trvalých preparátů bylo použito DPX zalévací médium pro histologii. Toto médium bylo pomocí skleněné tyčinky nanášeno na podložní sklíčko s obarvenými řezy a preparát byl přikryt krycím sklíčkem (krycí sklíčka, Menzel – Gläser, 24 x 60 mm).

### **3.5 Studium gametogeneze a příprava dokumentace**

Trvalé histologické preparáty byly studovány pod mikroskopem (Olympus BX41). Stupeň oogeneze byl hodnocen a rozlišován podle přítomnosti konkrétních typů buněk (oogonie v germariu, oocyty v previtelariu, formující se buňky vaječných komůrek, trofické syncytium, previtellogenické oocyty ve vitellariu, vitellogenické oocyty s jádrem a patrnými žlutkovými granulkami, oocyty v pokročilém stádiu

vitellogeneze bez zřetelně patrného jádra, oocyty s počínající sekrecí chorionu, oocyty s chorionem). Dále byla pozornost zaměřena na přítomnost či nepřítomnost spermií ve spermatéce.

Fotografie zachycující důležité momenty gametogeneze byly pořízeny pomocí fotoaparátu (Olympus Camedia C – 4040ZOOM) a dále upraveny v počítači pomocí grafického programu GIMP 2. 6. 11.

### 3.6 Terminologie a zkratky

cut: kutikulární lišta

dia: vlnovkovitá diastema hřebínkovité struktury gynatria

fol: folikulární buňky

gntr: gynatrium

gm: germarium

chor: chorion

chorb: tvořící se vrstva chorionu

nuc: jádro oocyty

nucl: jadérko oocyty

oct: oocyt

og: oogonie

pfol: prefolikulární buňky

pvtl: previtellarium

sec: sekret

spe: sekreční epitel spermatéky

sperm: spermie

trc: trofický cytoplazmatický provazec

tro: trofické syncytium

vtl: vitellarium

yol: žloutková granulka

## **4 Výsledky**

### **4.1 Nymfy 5. instaru z terénu z 10. 9. 2009**

U nymf 5. instaru chytaných v září v Novohradských horách byla pohlavní soustava relativně málo vyvinutá. Germaria byla na ovariolách, ale i makroskopicky dobře patrná (viz Obr. 4.1). Germaria nymf 5. instaru mají kulovitý tvar. Na histologické úrovni jsou v nich dobře viditelné oogonie. V previtellariu je rozpoznatelné jádro a jadérko primárního oocyty (viz Obr. 4.2). Vitellaria jsou prázdná. Postranní vejcovody jsou krátké.

### **4.2 Dospělé samice známého stáří z chovu M, B a P**

#### **4.2.1 Dospělé samice do 1 dne $\pm$ 12 hod po ekdysi**

Germaria 1 den starých dospělých samic z chovu M, B a P jsou užší a delší než germaria nymf 5. instaru a mají oválný tvar. V germariu jsou dobře patrné oogonie a začíná se tvořit trofické syncytium (viz Obr. 4.4). V previtellariu se nachází previtellogenetické primární oocyty a formují se buňky jejich vaječných komůrek. Vitellaria jsou úzká a prázdná, delší než vitellaria nymf 5. instaru (viz Obr. 4.3).

#### **4.2.2 Dospělé samice 7 dní $\pm$ 1 den po ekdysi**

Histologie ovarii 7 denních dospělých samic z chovu P se téměř nelišila od histologických nálezů v ovarii 1 denních dospělých samic. Germaria se prodlužují, trofické syncytium je zřetelnější (viz Obr. 4.6). Oocyt v previtellariu je větší než u předchozího stádia a je obklopen buňkami tvořícími vaječnou komůrku. Vitellarium je ještě prázdné. Pouze u 7 denní dospělé samice z chovu B byl nalezen primární oocyt na počátku vitellogeneze s tvořícími se žlutkovými granulky (viz Obr. 4.7).

#### **4.2.3 Dospělé samice 14 dní $\pm$ 1 den po ekdysi**

Na podélném řezu ovariolou u 14 denních dospělých samic jsou rozlišitelné oogonie v germariu, trofické syncytium a primární oocyty se zřetelným jádrem

a jadérkem. V jejich cytoplazmě lze pozorovat v kortikální oblasti zřetelně žlutková granula jako znak zahájené vitellogeneze (viz Obr. 4.8).

#### **4.2.4 Dospělé samice 25 dní ± 1 den po ekdysi**

Na histologickém preparátu gonád 25 denních dospělých samic je možné rozlišit nejen oogonie v germariu, primární oocyty v previtellariu, vitellogenetické oocyty s jádrem a žlutkovými granulky ve vitellariu, ale i oocyty v pokročilejším stádiu vitellogeneze s větším množstvím žlutkových granul a bez zřetelně patrného jádra (viz Obr. 4.9).

#### **4.2.5 Dospělé samice 42 dní ± 2 dny po ekdysi**

Stupeň oogeneze u 42 denních dospělých samic se příliš neliší od stupně oogeneze u 25 denních dospělých samic. Je možné rozlišit oogonie, primární oocyty v previtellariu, vitellogenetické oocyty se žlutkovými granulky v periferní části cytoplazmy a dobře zřetelným jádrem i oocyty v pokročilejších fázích vitellogeneze bez zřetelně viditelného jádra (viz Obr. 4.12). U největších oocytů ve vitellariu 42 denních dospělých samic z chovu P byl zjištěn počátek sekrece chorionu (viz Obr. 4.13).

#### **4.2.6 Dospělé samice 60 dní ± 2 dny po ekdysi**

Germaria ovariol 60 denních dospělých samic jsou tvarově širší než germaria předchozích stádií, mají kulovitý tvar. Na podélném řezu ovariolou lze rozlišit oogonie, vitellogenetické oocyty s jádrem (viz Obr. 4.14 a 4.15) i bez zřetelně viditelného jádra. U 60 denní dospělé samice z chovu P měly distální oocyty plně vytvořený a sklerotizovaný chorion (viz Obr. 4.16). Z důvodu tvrdosti chorionu došlo při řezání gonád na rotačním mikrotomu k rozbití vajíčka a pozorovány byly pouze části chorionu. 60 denní dospělé samice lze tedy považovat za pohlavně zralé, připravené k ovulaci.

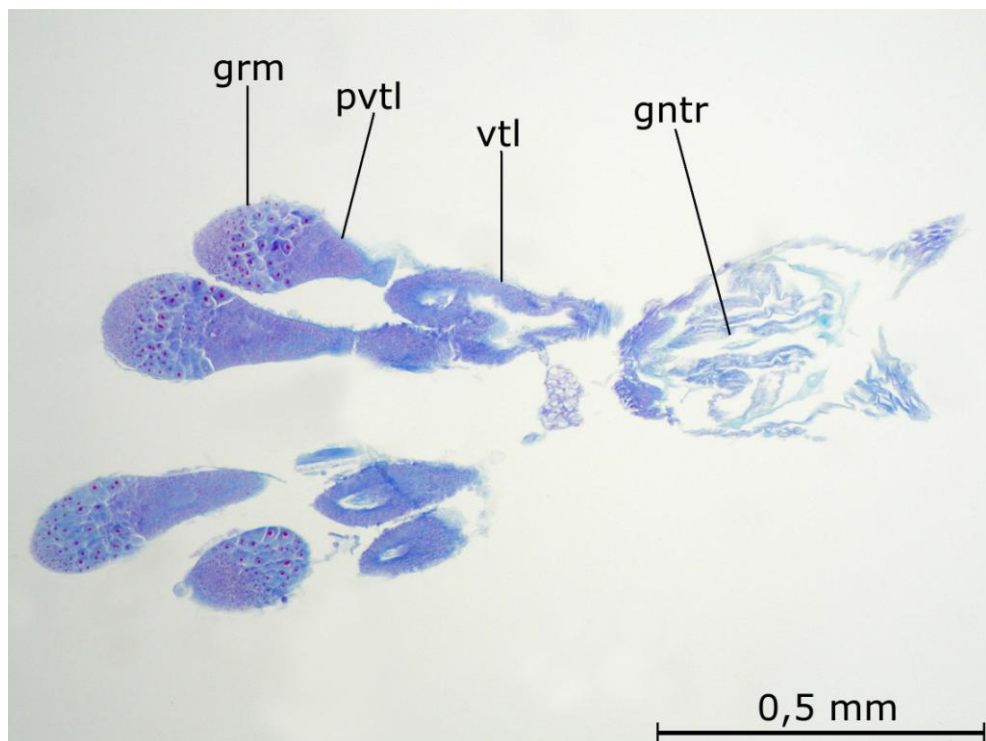
#### **4.2.7 Srovnání oogeneze dospělých samic z chovů M, B a P**

Průběh oogeneze u dospělých samic z chovů M, B a P se výrazně nelišil. Rozdíly bylo možné pozorovat pouze v nástupu vitellogeneze a v období přítomnosti

vajíček s chorionem. První vitellogenetické primární oocyty byly pozorovány u 7 denních dospělých samic z chovu B. U 7 denních dospělých samic z chovu P byly pozorovány pouze previtellogenetické oocyty v previtellariu a nástup vitellogeneze byl pozorován až u 14 denních dospělých samic. Srovnání se 7 denními dospělými samicemi z chovu M chybí, samice nebyly odebrány k preparaci. Vajíčka s úplným definitivním chorionem byla pozorována pouze u 60 denních dospělých samic z chovu P. U 60 denních dospělých samic z chovu M i chovu B byly pozorovány pouze oocyty v pokročilém stupni vitellogeneze bez viditelného jádra.

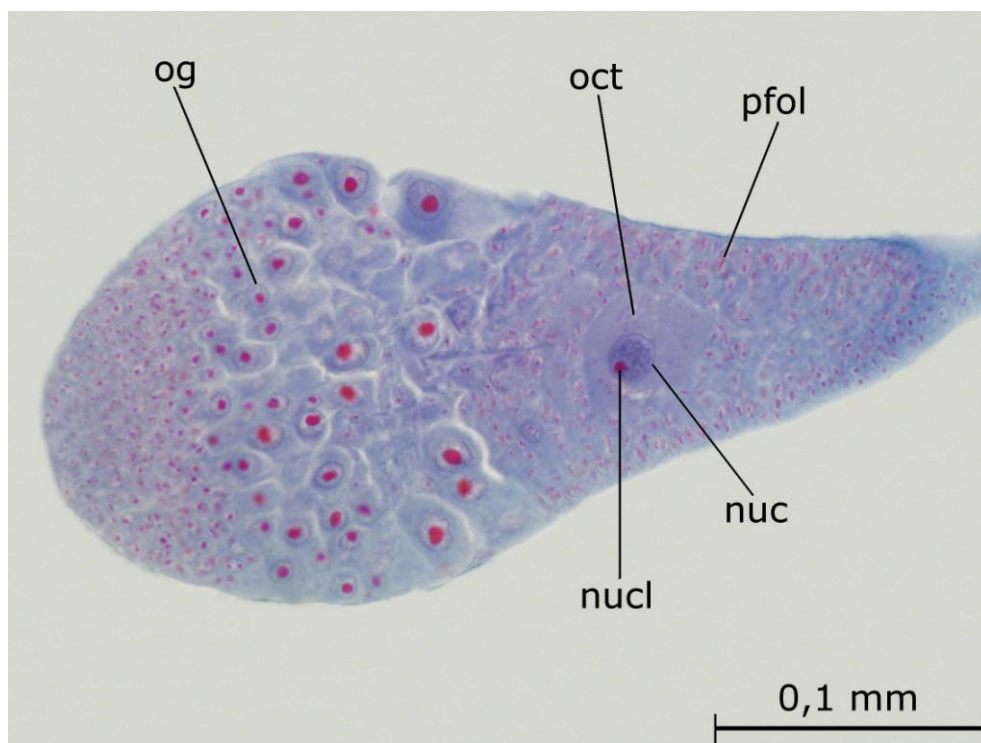
#### 4.2.8 Poznámka k morfologii gynatria

Na histologických mikropreparátech dospělých samic všech sledovaných věkových kategorií byla pozorována pravidelná longitudinální kutikulární struktura lokalizovaná ve vývodu spermatéky na dorzální ploše gynatria (viz Obr. 4.5, 4.10 a 4.11). Strukturu tvoří pár kutikulárních lišt s ventromediálními zuby. Obě kutikulární lišty jsou mediálně odděleny vlnovkovitou diastemou a upínají se na ně venterolaterálně svaly.

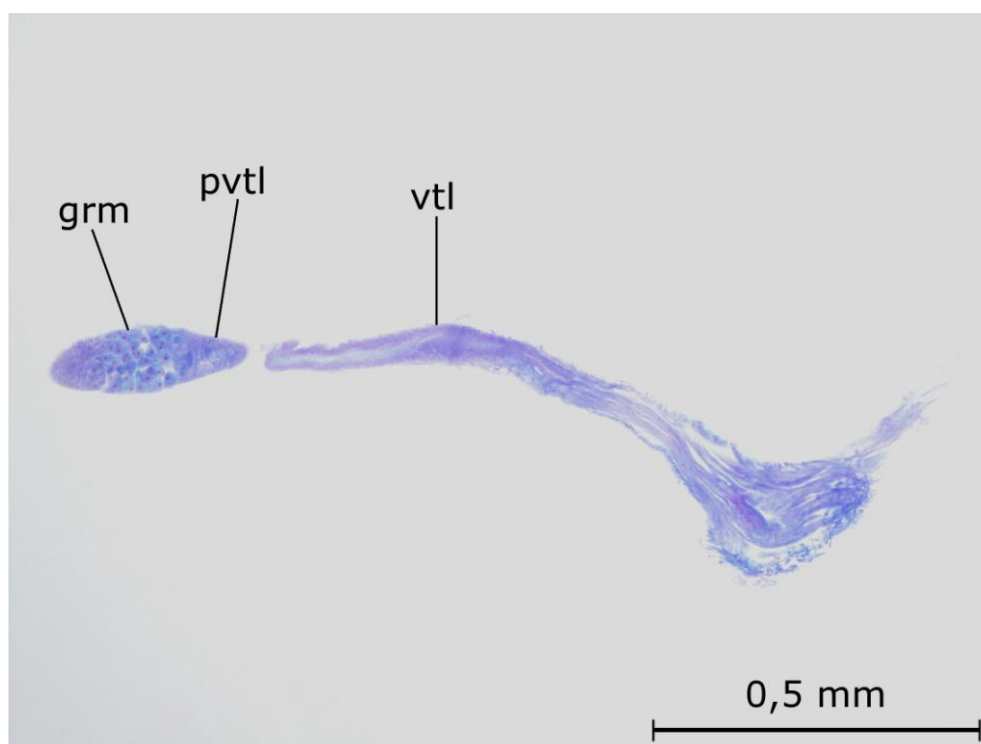


**Obr. 4.1** Pohlavní soustava (nymfa 5. instaru).

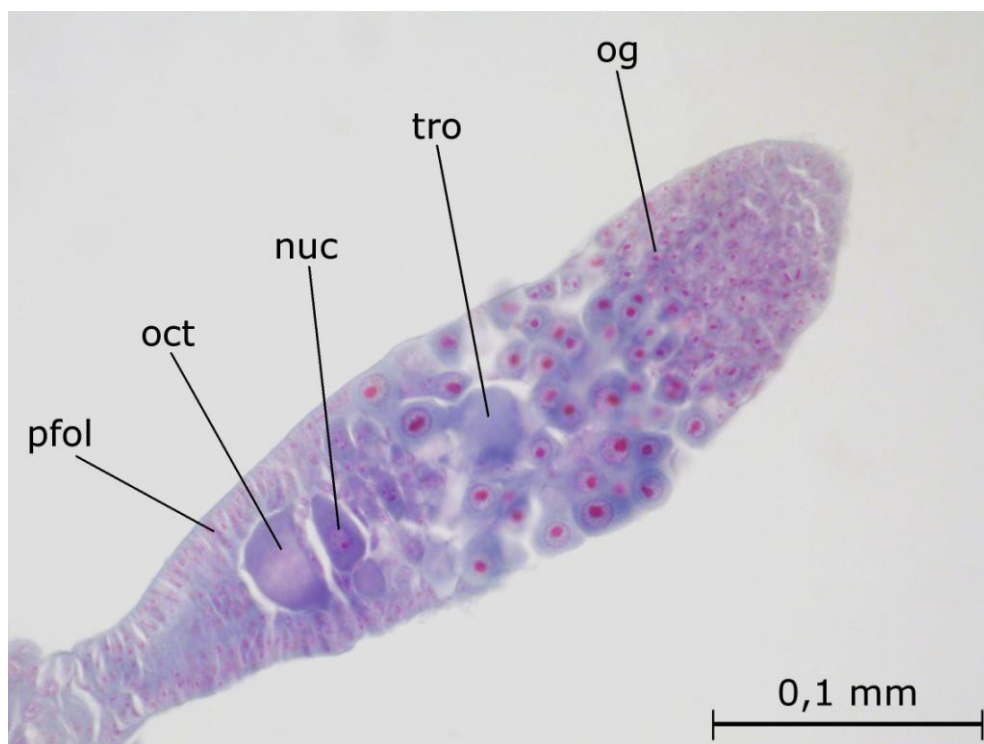
vysvětlení zkratk viz kapitola 3.6 Terminologie a zkratky (str. 35)



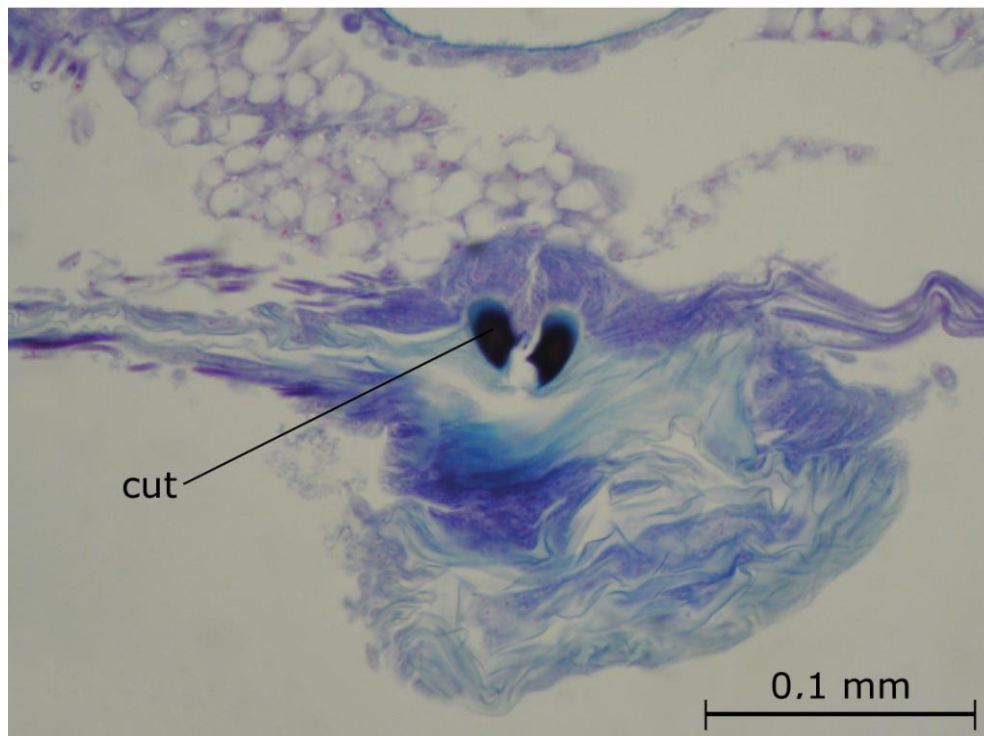
**Obr. 4.2** Germarium a previtelarium (nymfa 5. instaru).



**Obr. 4.3** Podélný řez ovariolou (dospělá samice do 1 dne  $\pm$  12 hod po ekdysi).

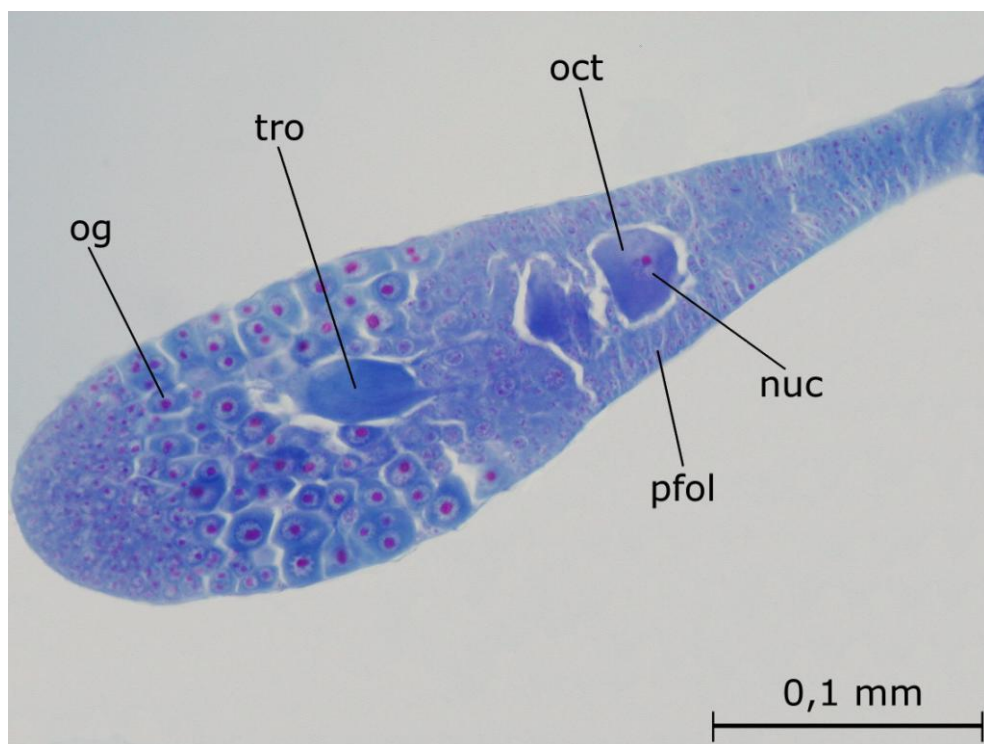


**Obr. 4.4** Germarium a previtelarium (dospělá samice do 1 dne  $\pm$  12 hod po ekdysi).

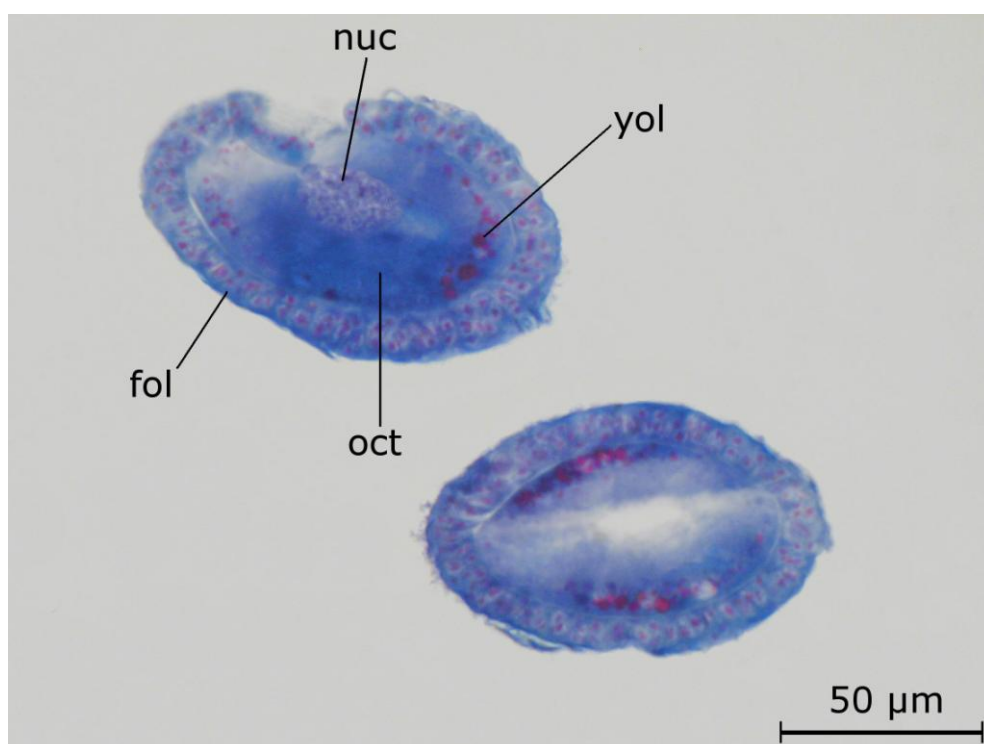


**Obr. 4.5** Kutikulární struktura dorzální části gynatria a ústí spermatéky (dospělá samice do 1 dne  $\pm$  12 hod po ekdysi).

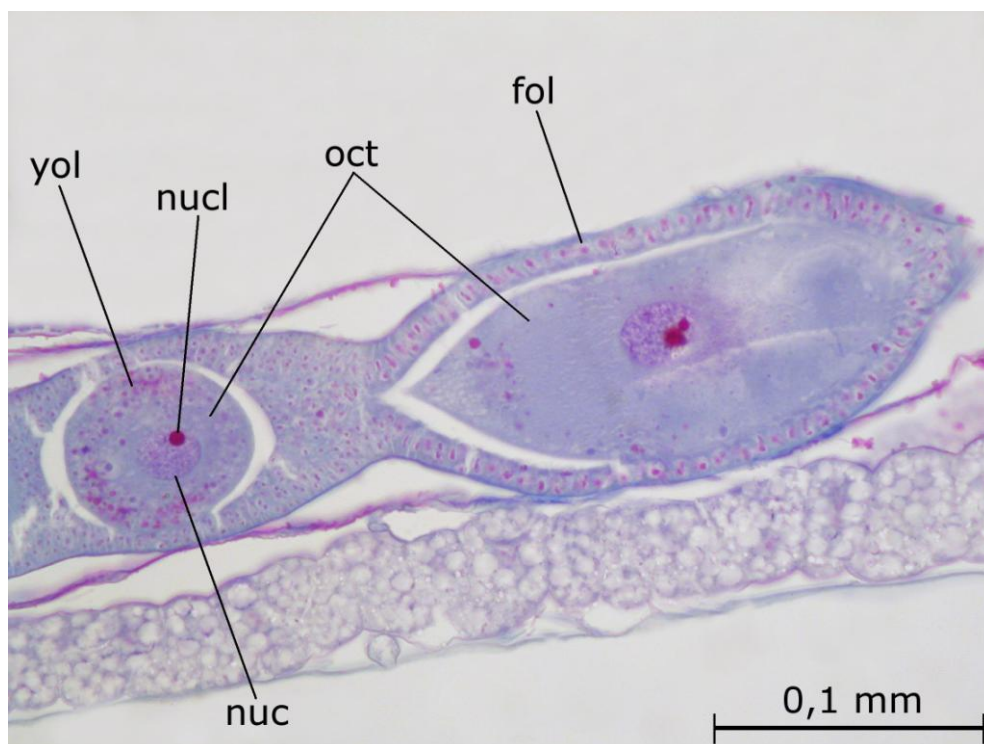




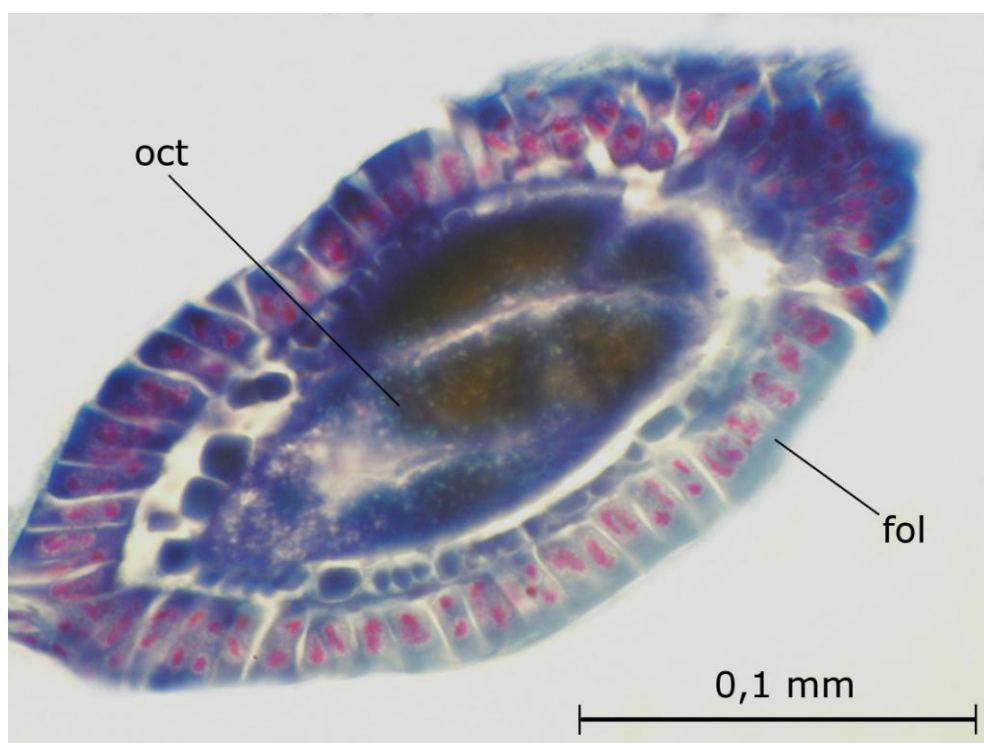
**Obr. 4.6** Germarium a previtelarium (dospělá samice 7 dní ± 1 den po ekdysi).



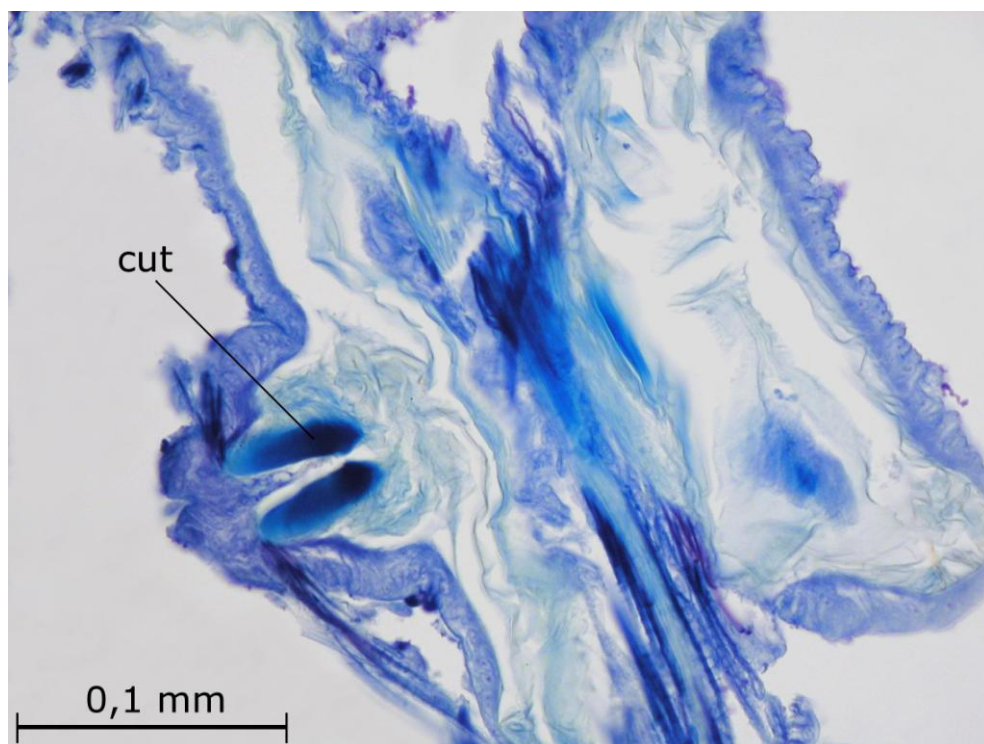
**Obr. 4.7** Primární oocyty na počátku vitellogeneze  
(dospělá samice 7 dní ± 1 den po ekdysi).



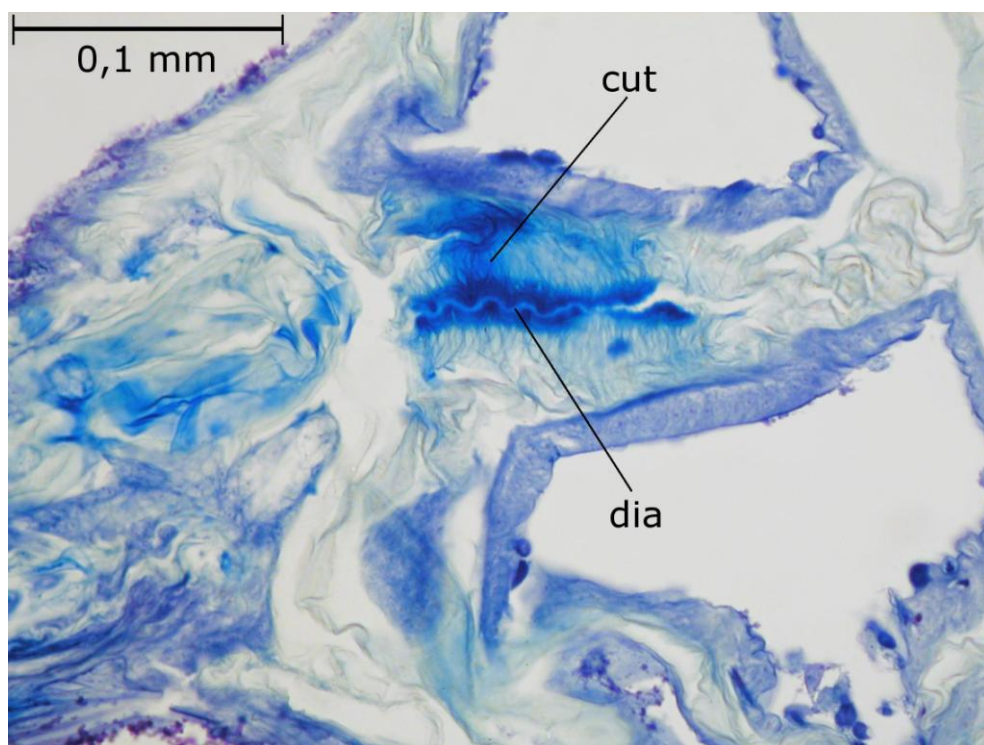
**Obr. 4.8** Vitellogenetické oocyty ve vitellariu ovarioly  
(dospělá samice 14 dní ± 1 den po ekdysi).



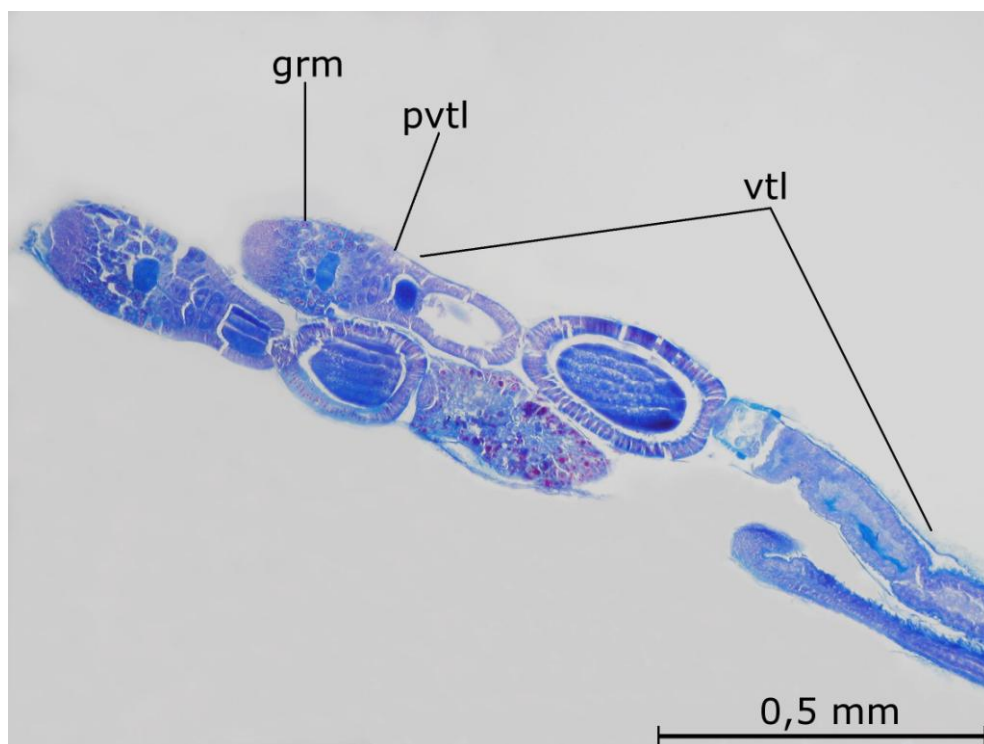
**Obr. 4.9** Primární oocyt v pokročilejším stádiu vitellogeneze bez zřetelně patrného  
jádra (dospělá samice 25 dní ± 1 den po ekdysi).



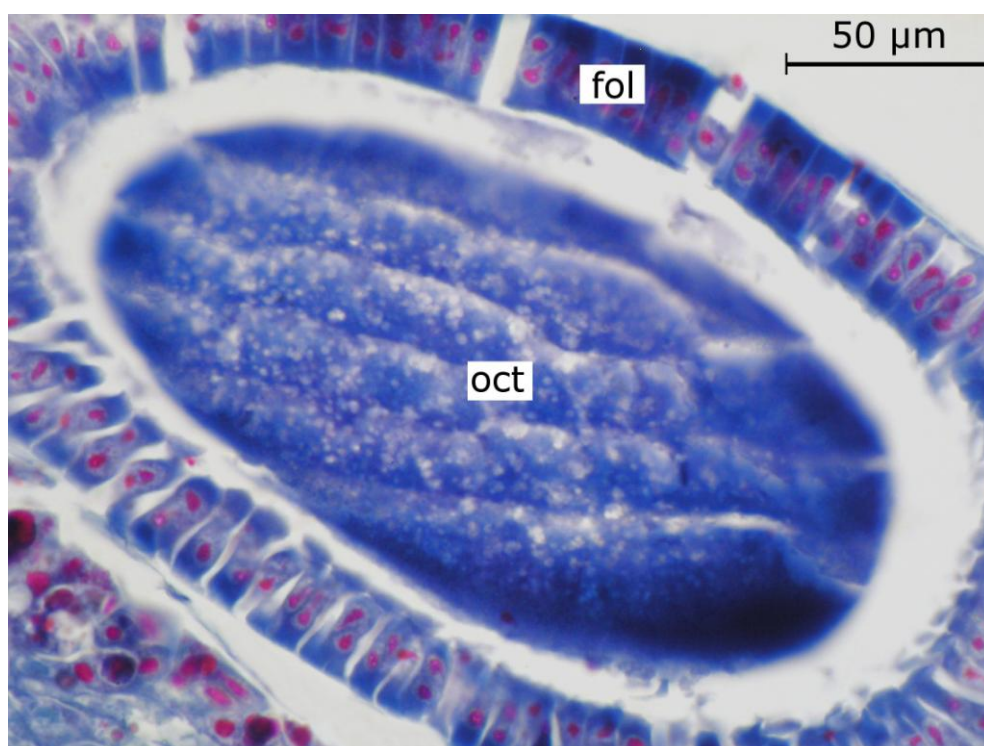
**Obr. 4.10** Kutikulární struktura dorzální části gynatria a ústí spermatéky  
(dospělá samice 25 dní  $\pm$  1 den po ekdysi).



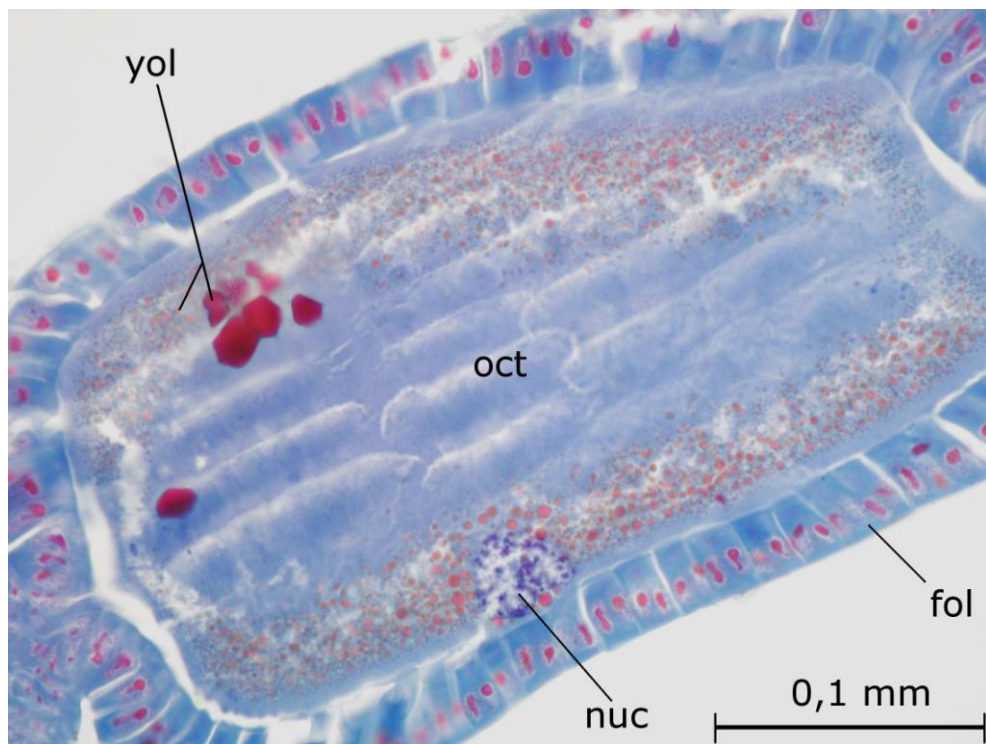
**Obr. 4.11** Kutikulární struktura dorzální části gynatria a ústí spermatéky,  
dorzální pohled (dospělá samice 25 dní  $\pm$  1 den po ekdysi).



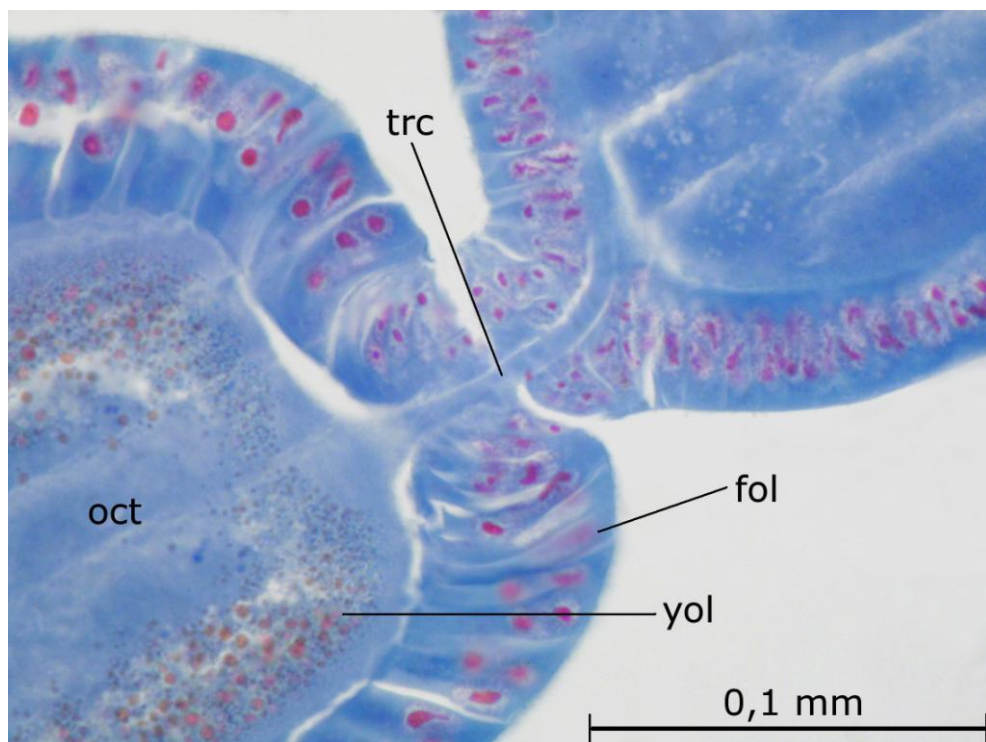
**Obr. 4.12** Podélný řez ovariolami (dospělá samice 42 dní  $\pm$  2 dny po ekdysi).



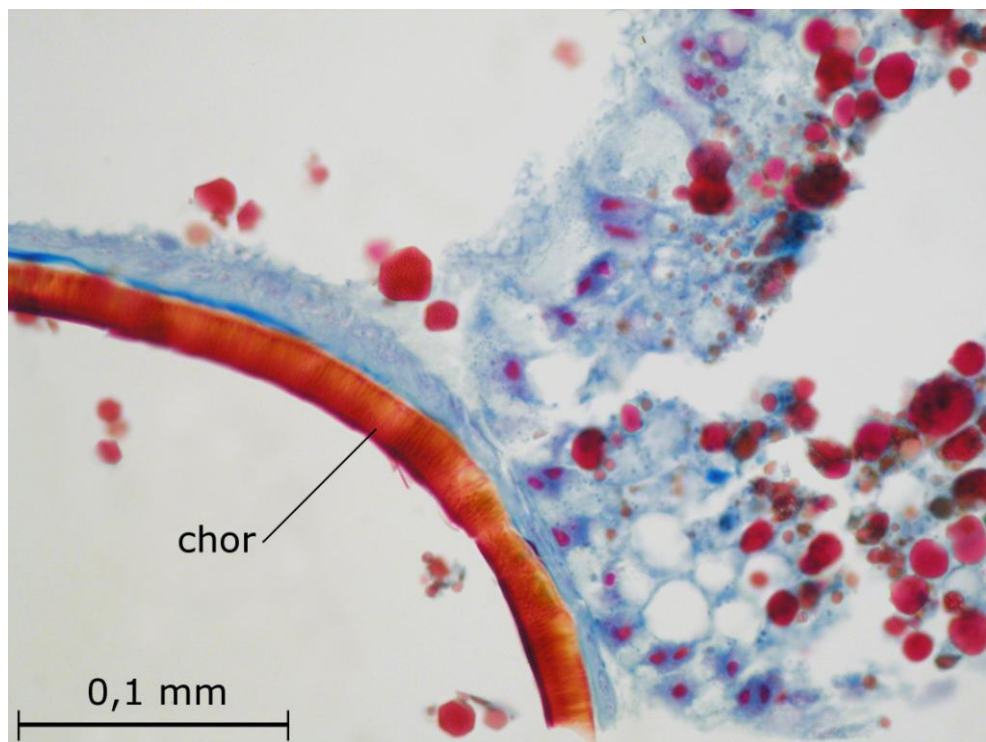
**Obr. 4.13** Oocyt v pokročilém stádiu vitellogeneze s počínající sekrecí chorionu (dospělá samice 42 dní  $\pm$  2 dny po ekdysi).



**Obr. 4.14** Vitellogenetický oocyt (dospělá samice 60 dní  $\pm$  2 dny po ekdysi).



**Obr. 4.15** Trofický cytoplazmatický provazec spájajúci vitellogenetické oocyty ve vitellariu s trofickým syncytiem v germariu (dospělá samice 60 dní  $\pm$  2 dny po ekdysi).



**Obr. 4.16** Plně sklerotizovaný chorion vajíčka (dospělá samice 60 dní  $\pm$  2 dny po ekdysi).

### 4.3 Dospělci z terénu

#### 4.3.1 Dospělé samice po přezimování odchycené a preparované

**6. 4. 2009**

U dospělých samic po přezimování (ADfOv) jsou v ovariích přítomná vajíčka s plně vyvinutým a sklerotizovaným chorionem. Kvůli pevnému chorionu však došlo k potrhání tkáně gonád při řezání na rotačním mikrotomu. Z toho důvodu byly na těchto mikropreparátech pouze fragmenty řezů. Spermatéka nalezena nebyla.

#### 4.3.2 Dospělé samice odchycené a preparované 10. 9. 2009

##### Samice s krátkými ovariolami (ADfPK)

Ovarioly jsou úzké, krátké, podobné ovariolám 1 denních dospělých samic (viz Obr. 4.17). Germaria ovariol jsou podlouhlá, úzká, oválného tvaru s patrnými

oogoniemi. V previtellariu ovariol jsou patrné první previtellogenetické primární oocyty. Vitellaria jsou prázdná.

### **Samice s dlouhými ovariolami (ADfPD)**

Germaria jsou úzká, oválná. Na podélném řezu ovariolou lze rozeznat oogonie v germariu, trofické syncytium a trofické cytoplazmatické provazce, primární previtellogenetické oocyty v previtellariu, oocyty na počátku vitellogeneze se zřetelným jádrem, oocyty v pokročilém stupni vitellogeneze i oocyty s tvořící se vrstvou chorionu (patrná v podobě sítě šestiúhelníků) (viz Obr. 4.18 a 4.19). Ve spermatéce byly nalezeny spermie. Stěna spermatéky je u těchto samic tvořena vysokým sekrečním epitelem, dobře rozlišitelný je i sekret tohoto epitelu při stěnách spermatéky (viz Obr. 4.20).

### **4.3.3 Dospělé samice odchycené v terénu a chované v chladu při nedostatku potravy od 10. 9. 2009 do 26. 11. 2009**

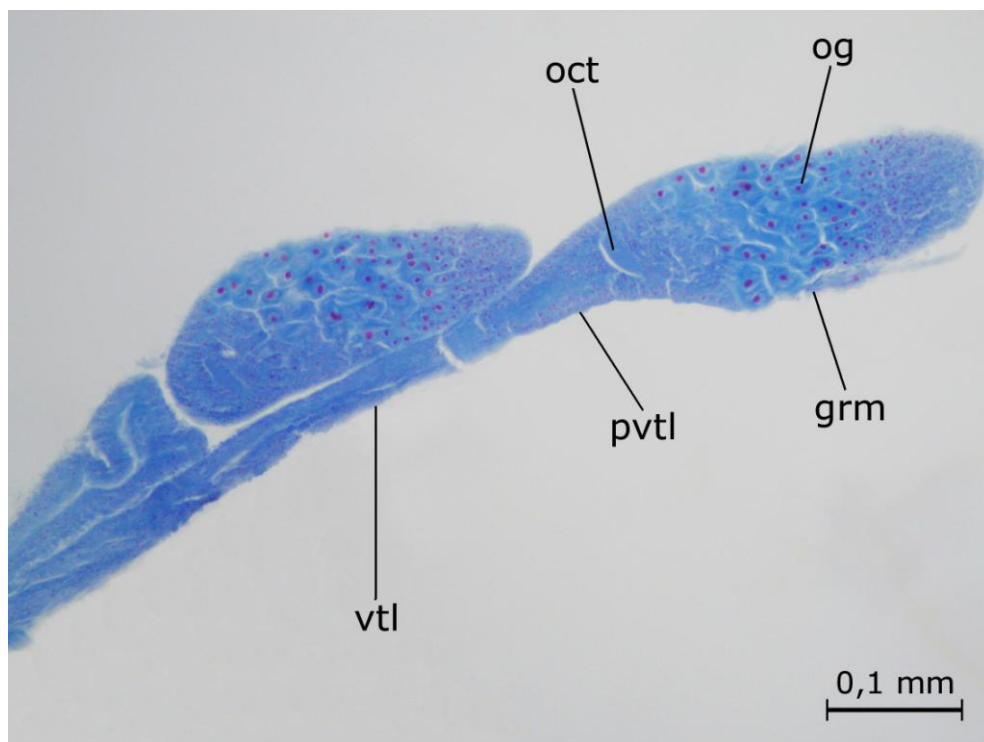
Oogeneze těchto dospělých samic (ARfP) byla v pokročilejší fázi než u předchozích. Na řezech mikropreparátů gonád je možné rozeznat kromě oogonií v germariu, oocytů v previtellariu a vitellariu (viz Obr. 4.21) i vajíčka s chorionem (nalezeny byly části chorionu). Ve spermatéce byly pozorovány spermie i vysoký sekreční epitel (viz Obr. 4.22).

### **4.3.4 Dospělé samice odchycené 24. 11. 2009 a preparované 26. 11. 2009**

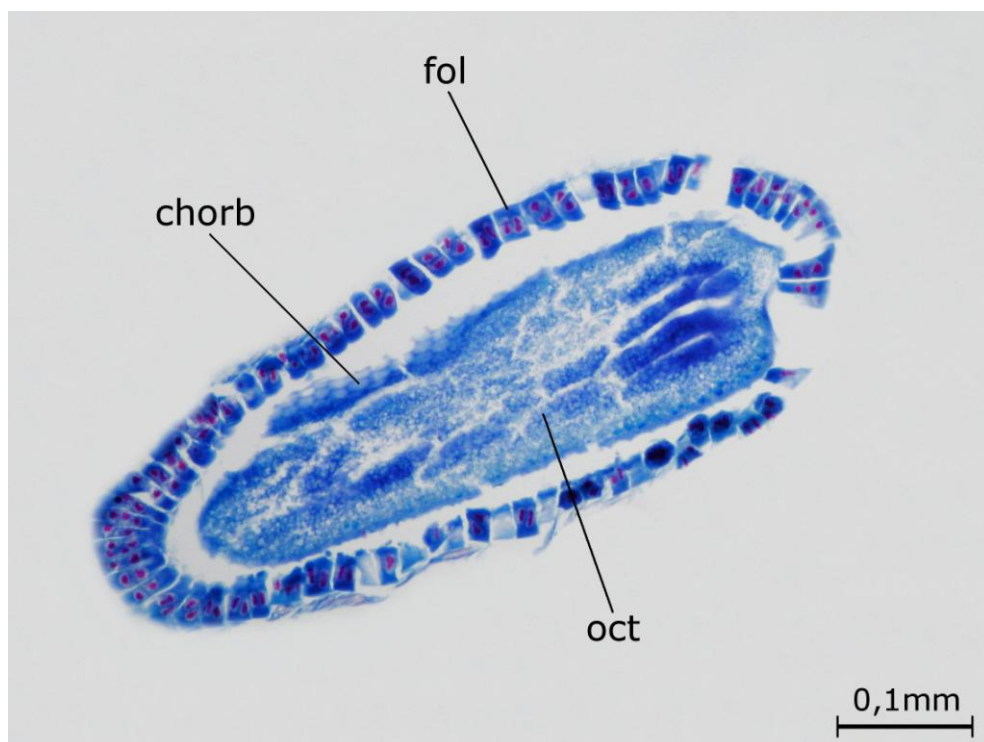
Na mikropreparátech vaječnicků těchto dospělých samic (AFAf) byla pozorována vajíčka s chorionem (viz Obr. 4.23 a 4.24) (tvrdost chorionu způsobila pothnutí tkáně gonád při řezání na rotačním mikrotomu, byly proto pozorovány pouze fragmenty ovariol). Ve spermatéce byly nalezeny spermie.

### **4.3.5 Dospělé samice z hladových chovů vedených od 24. 11. 2009 do 15. 1. 2010**

Situace u dospělých samic (Af) z hladových přezimujících chovů odpovídá situaci u dospělých samic ADfOv. Na histologickém preparátu byly pozorovány ve fragmentech ovariol vajíčka s chorionem. Spermatéka nebyla nalezena.

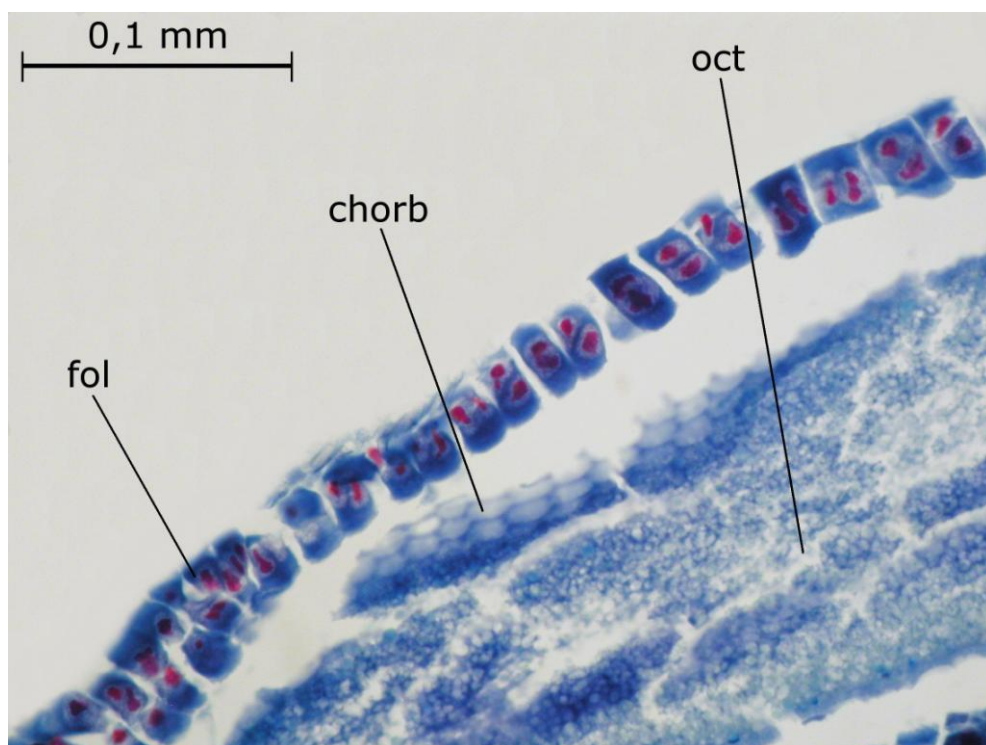


**Obr. 4.17** Podélný řez částí ovariol dospělé samice s krátkými ovariolami odchycené a preparované 10. 9. 2009.

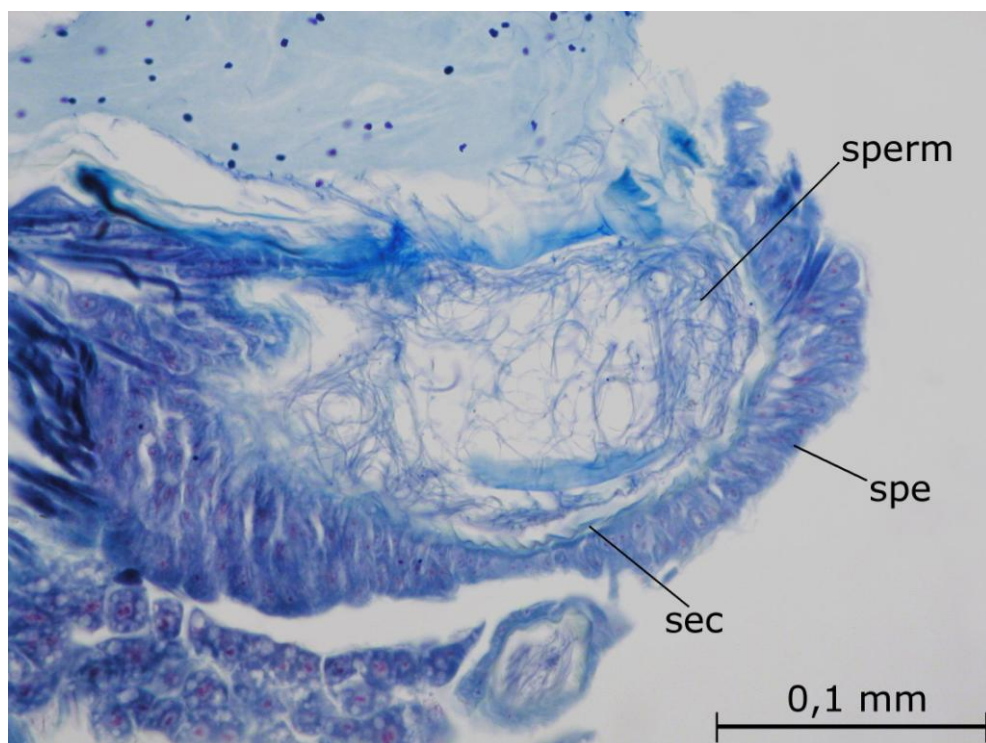


**Obr. 4.18** Oocyt v průběhu sekrece chorionu (povrchová vrstva se strukturou sítě šestiúhelníků) u dospělé samice s dlouhými ovariolami odchycené a preparované 10. 9. 2009.

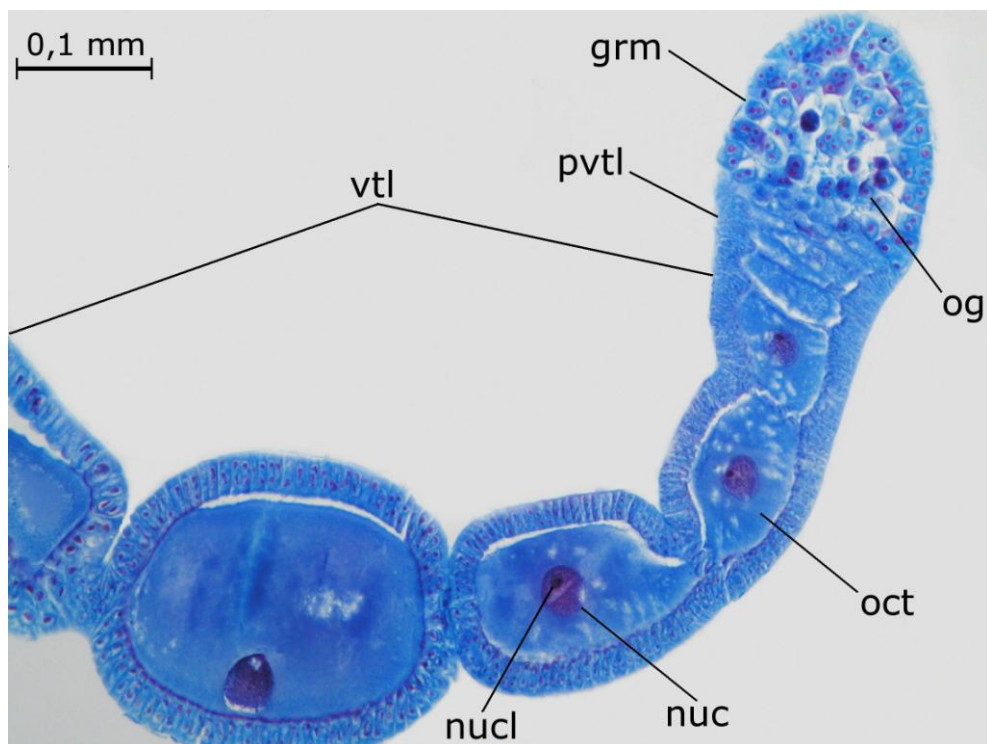




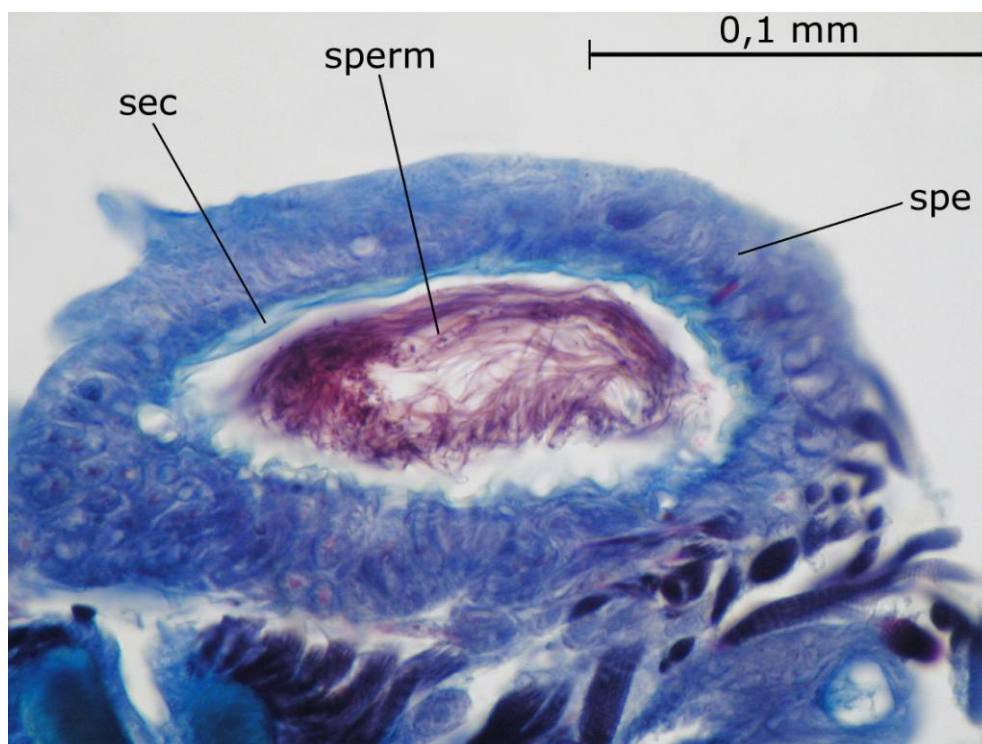
**Obr. 4.19** Oocyt v průběhu sekrece chorionu (viz síť šestiúhelníků, 40krát zvětšeno) u dospělé samice s dlouhými ovariolami odchycené a preparované 10. 9. 2009.



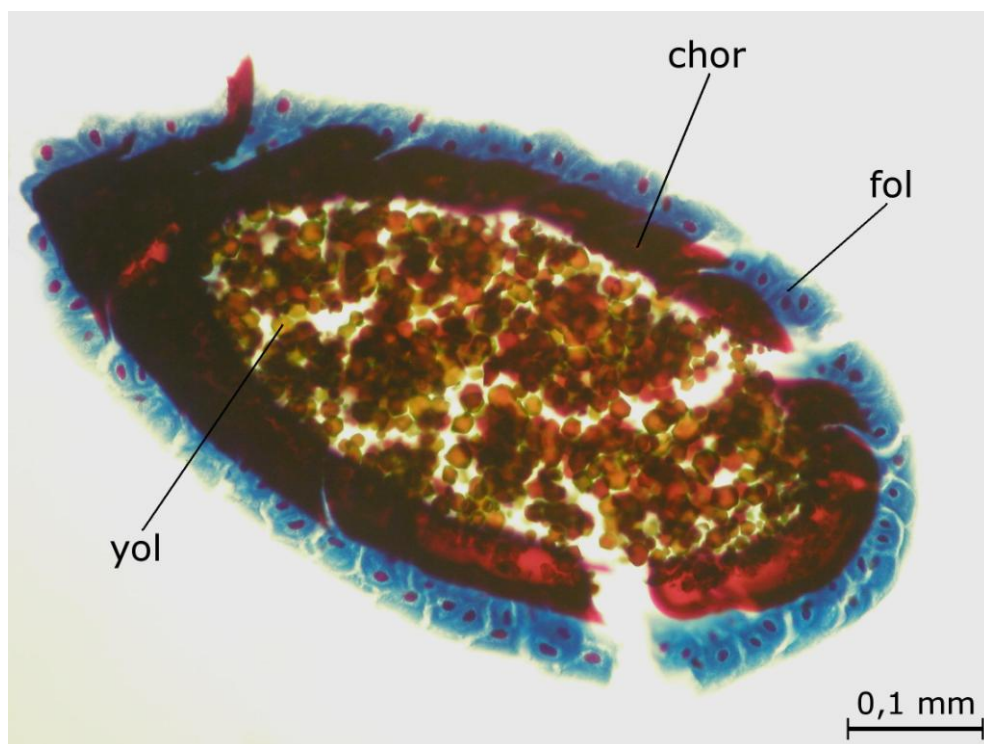
**Obr. 4.20** Spermátka se spermii dospělé samice s dlouhými ovariolami odchycené a preparované 10. 9. 2009.



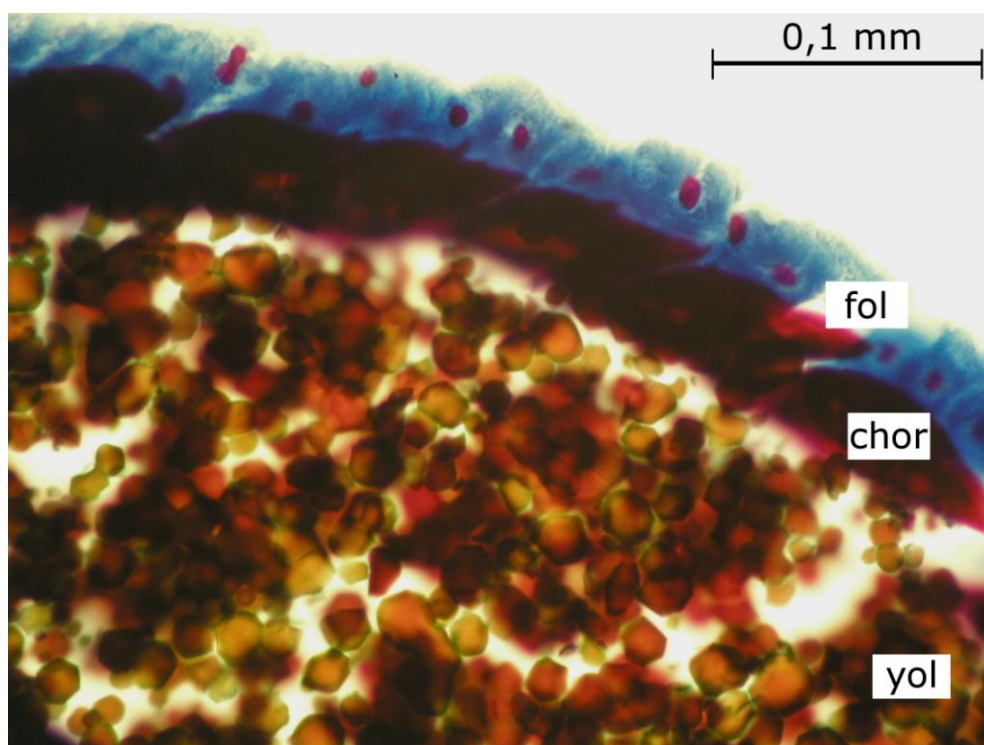
**Obr. 4.21** Podélný řez částí ovarioly dospělé samice odchycené v terénu a chované v chladu při nedostatku potravy od 10. 9. do 26. 11. 2009.



**Obr. 4.22** Spermatéka se spermiemi dospělé samice odchycené v terénu a chované v chladu při nedostatku potravy od 10. 9. do 26. 11. 2009.



**Obr. 4.23** Vajíčko s chorionem u dospělé samice odchycené 24. 11. 2009 a preparované 26. 11. 2009.



**Obr. 4.24** Vajíčko s chorionem (40krát zvětšeno) u dospělé samice odchycené 24. 11. 2009 a preparované 26. 11. 2009.

## 5 Diskuse a závěr

### 5.1 Oogeneze u nymf 5. instaru

Vizuálně dominantní částí ovarii nymf 5. instaru jsou kulovitá germaria. V germariích jsou přítomné primární zárodečné buňky - oogonie. V previtellariu je možné rozlišit první primární oocyty s výraznými jádry vstupující do růstové fáze oogeneze. Vitellarium je v tomto stádiu zcela prázdné.

Ditrich (2005) rozlišuje u nymf 5. instaru dva typy ovarii. Ovaria podobná ovarium dospělých samic s dlouhými vitellarii a zkrácenými postranními vejcovody a ovaria larválního typu s krátkými či nerozlišenými vitellarii a málo zkráceným postranním vejcovodem. V této práci byla u nymf 5. instaru pozorována pouze ovaria s poměrně dlouhými vitellarii podobající se ovarium dospělých samic.

Zjištění této práce se liší od zjištěného stavu oogeneze u terestrické krev sající plošnice *Triatoma infestans* (viz Ibañez de Barrett et al., 2004), univoltinních vodních ploščic *Ilyocoris cimicoides* (viz Papáček et al., 1997), *Notonecta glauca* (viz Papáček a Soldán, 1987a) a částečně také od situace u *Aphelocheirus aestivalis* (viz Papáček a Soldán, 2008). U nymf 5. instaru *Triatoma infestans* lze rozlišit buňky trofária a zvětšené vitellarium s oocyty (Ibañez de Barrett et al., 2004). Ve vitellariu nymf 5. instaru *Ilyocoris cimicoides* se nachází 4 – 6 previtellogenetických oocytů (Papáček et al., 1997), u nymf 5. instaru *Notonecta glauca* se ve vitellariu nacházejí 1 nebo 2 vaječné komůrky s oocyty (vzácně byla pozorována žlutková granula) (Papáček a Soldán, 1987a). U nymf 5. instaru dlouhověké bentické vodní ploščice *Aphelocheirus aestivalis* jsou už plně vytvořená trofická syncytia s viditelnými trofickými provazci a previtellogenetické oocyty ve vitellariu ve vaječných komůrkách (Papáček a Soldán, 2008).

Na základě tohoto srovnání lze konstatovat, že oogeneze nymf 5. instaru semiakvatické ploščice *Velia caprai* je oproti zmíněným druhům lehce opožděná. Oocyty nymf 5. instaru nesestupují do vitellaria.

## 5.2 Oogeneze u dospělých samic známého stáří z chovů

Chovy M, B a P, v nichž byly chovány samice známého stáří, byly vedeny v odlišných podmínkách. Rozdílné bylo umístění akvárií, průměrná teplota vzduchu i intenzita krmení. Chov P byl veden v podmínkách simulujících poměry na potoce v hustém podrostu lesa (chladná zastíněná místnost o teplotě vzduchu 15 – 18°C). Jedinci chovu B byli krmeni nejvíce, jedinci chovu M naopak nejméně.

Ovaria 1 denních dospělých samic (ihned po svlečení z nymf 5. instaru) víceméně odpovídají ovarium nymf 5. instaru. Germaria mění svůj tvar, jsou delší a užší, v previtellariu se okolo oocyty seskupují buňky vaječné komůrky. V tomto stádiu se začíná tvořit trofické syncytium.

První oocyty, ještě se zřetelným jádrem a jadérkem, na počátku vitellogeneze (s viditelnými žlutkovými granulky) lze pozorovat u 7 denních dospělých samic z chovu B. Oproti tomu u 7 denních dospělých samic z chovu P je vitellarium stále prázdné a podélný řez ovariolou téměř odpovídá řezu ovariolou 1 denních dospělých samic. Rozdíly v počátku vitellogeneze mezi 7 denními dospělými samicemi z chovu B a P mohou být způsobeny odlišnými podmínkami chovu. Samice z chovu P byly krmeny méně a po delších časových intervalech než samice z chovu B a chovány v chladnějším prostředí (rozdíl mezi teplotami prostředí chovu B a P se pohyboval okolo 10°C). Dle tohoto srovnání se lze domnívat, že dostupnost a množství potravy mohou ovlivnit rychlost vitellogeneze, resp. oogeneze jako takové, a *de facto* ovlivnily její pozdější nástup u samic z chovu P.

U 14 denních dospělých samic vitellogeneze pokračuje, oocyty hromadí žlutkové rezervy a mají stále dobře viditelné jádro. Ve vitellariu 25 denních dospělých samic se nacházejí oocyty v pokročilém stupni vitellogeneze bez zřetelně patrného jádra. Dospělé samice staré 42 dní mají ve vitellariu oocyty v pokročilém stupni vitellogeneze. V tomto věku (u 42 denních dospělých samic z chovu P) začíná sekrece chorionu vajíček.

Germaria 60 denních dospělých samic jsou kulovitěho tvaru. U samice z chovu P (smrcena a fixována 23. 9. 2009) měly oocyty plně sekretovaný chorion. V jejím případě lze hovořit o plné pohlavní zralosti. Spermatéka na řezových mikropreparátech vaječnicků tohoto jedince nalezena nebyla, a proto nelze potvrdit, zda samice

kopulovala. Možnost kopulace v tomto období můžeme ale předpokládat. Oproti tomu 60 denní dospělé samice z chovu M (smrceny a preparovány 1. 9. 2009) a B (smrceny a preparovány 2. 9. 2009) měly ve vitellariu pouze oocyty v pokročilém stupni vitellogeneze bez viditelného jádra. V období od začátku srpna do poloviny září 2009 bylo v chovech M a B pozorováno shlukování jedinců do agregací a jejich potravní aktivita poklesla. Tento jev (letní dormance) mohl ovlivnit zrání oocytů.

Průběh oogeneze zjištěný u *Velia caprai* v této studii se částečně shoduje a částečně liší od údajů o oogenezi tohoto druhu získaných Ditrichem (2005) na základě morfologických metod sledování (bez využití řezových mikropreparátů vaječnicků). Už u 7 denních dospělých samic z chovu B byla pozorována přítomnost oocytů na počátku vitellogeneze. Tento údaj neodpovídá Ditrichově (2005) zjištění. Podle tohoto autora oocyty sestupují do vitellaria až u dospělých samic starých 25 dní. Dalším rozdílem bylo zjištění období (věk dospělců) přítomnosti vajíček s chorionem. Podle Ditricha (2005) lze samice staré 7 týdnů považovat za pohlavně dospělé s vajíčky s chorionem ve vitellariu a prokázanou ovulací. Dle pozorování uvedených v této práci se vajíčka s úplně formovaným chorionem poprvé objevují u 60 denních dospělých samic (paradoxně z „hladového“ chovu P.). Důvodem těchto rozdílných zjištění může být skutečnost rozdílných metod studia oogeneze různými autory i environmentálních faktorů, ve kterých žily rodičovské generace produkující potomky, kteří byli součástí našeho experimentu či experimentu Ditrichova (2005). Zatímco Ditrich (2005) studoval oogenezi na totálních mikropreparátech (prosvítající struktury), v této práci bylo využito histologické studium řezových mikropreparátů. Dalším důvodem zjištěných rozdílů mohou být i rozdílné podmínky chovů (množství potravy, rozdílné teploty). Chov P byl veden v extrémně nepříznivých podmínkách (relativně málo potravy, relativně nízká teplota).

Je ostatně možné, že za různých podmínek mohou samice stejného stáří, navíc s individuálně různou fyziologickou kondicí, dosahovat pohlavní zralosti ve stáří 7 – 8,5 týdne, nezávisle na environmentálních podmínkách, jakýmsi „geneticky – pufrčním“ mechanismem směřujícím pohlavní zralost druhu do období, kdy má druh šanci se reprodukovat za stresových i příznivých podmínek (tj. cca v rozmezí 10 – 12 dnů, nehledě na to, zda jsou samice špatně, či dobře krmené – v přírodních podmínkách – „syté“, či „hladové“) (Papáček, ústní sdělení).

### 5.3 Oogeneze u dospělých samic neznámého stáří z terénu

U dospělých samic neznámého stáří náhodně odchycených 10. 9. 2009 v Novohradských horách byly pozorovány dva typy ovarii, resp. ovariol. Odchyceny byly samice s krátkými ovariolami (ADfPK) připomínajícími ovariole 1 denních dospělých samic (úzká, protáhlá germaria, formující se primární oocyty v previtellariu, prázdná vitellaria) a samice s dlouhými ovariolami (ADfPD) (germaria s oogoniemi, trofické syncytium a trofické provazce, primární oocyty v previtellariu, vitellogenetické oocyty s jádrem, oocyty v pokročilém stupni vitellogeneze a oocyty s tvořící se vrstvou chorionu). U samic ADfPD byly ve spermatéce nalezeny spermie. Stupeň oogeneze u samic ADfPD téměř odpovídá stupni oogeneze u 60 denní dospělé samice z chovu P, rozdíl je pouze ve stupni sekrece chorionu (u samic ADfPD sekrece chorionu začíná, u 60 denní dospělé samice je chorion zcela vytvořen).

Rozdíly mezi ovariolami samic sbíraných 10. 9. 2009 v Novohradských horách jsou s největší pravděpodobností způsobeny odlišnou dobou konkrétního vývoje jednotlivých jedinců. Samice s dlouhými ovariolami (ADfPD) zřejmě patřily v rámci nově kladené generace k časově mladší – časné kohortě, tj. zřejmě se svlékly z nymf 5. instaru do dospělců v období jara až počátku léta, kdy měly dostatek potravy. Oogeneze u nich mohla probíhat delší dobu do pokročilejších fází, popř. i rychleji. Samice s krátkými ovariolami pravděpodobně patřily k časově starší – pozdní kohortě v rámci generace 2009, tj. svlékly se z nymf 5. instaru později, v méně příznivém období konce léta, a jejich ovariole jsou proto srovnatelné s ovariolami 1 denních dospělých samic z chovů.

U dospělých samic odchycených v Novohradských horách a chovaných v chladné zastíněné místnosti při nedostatku potravy od 10. 9. 2009 do 26. 11. 2009 (ARfP) i u dospělých samic udržovaných v chladničce od 24. 11. 2009 do 26. 11. 2009 (AFAf) byla zjištěna pokročilá stádia oogeneze – vajíčka s chorionem ve vitellariu ovariol. Ve spermatéce byly u samic tohoto stáří nalezeny spermie. U dospělých samic po přezimování odchycených v Novohradských horách a smrcených 6. 4. 2009 (ADfOv) a dospělých samic z hladových chovů od 24. 11. 2009 do 15. 1. 2010 (Af) byla na histologických preparátech prokázána rovněž přítomnost vajíček s chorionem ve vitellariu ovariol.

Tato histologická zjištění mohou znamenat, že samice *V. caprai* jsou před přezimováním plně fertlní a schopné kladení i oplození vajíček spermiemi z vlastní spermatéky, stejně tak samice v průběhu zimy, což ostatně na základě terénních pozorování dokázali Ditrich a Papáček (2009).

Závěrem lze říci, že průběh oogeneze u dospělých samic dlouhověkého semiakvatického druhu *Velia caprai* se liší od oogeneze univoltinních vodních ploštic, jako jsou *Ilyocoris cimicoides* (viz Papáček et al., 1997), *Corixa punctata* (viz Papáček a Bohoněk, 1989) a *Notonecta glauca* (viz Papáček a Soldán, 1987a). Již u 60 denních dospělých samic *Velia caprai* je možné pozorovat vajíčka s chorionem stejně jako u dospělých samic z terénu sbíraných v září 2009 v Novohradských horách. Samice *Velia caprai* dosahují pohlavní zralosti před přezimováním a jejich vajíčka se vyvíjejí po 2 měsíce do období schopnosti klást je. Po dosažení pohlavní zralosti probíhá u samic tohoto druhu oogeneze průběžně, a to před zimou, přes zimu i na jaře.

*Velia caprai* může přezimovat ve stádiu dospělce i vajíčka (viz Ditrich a Papáček, 2009).

Oproti zjištěnému stavu u *V. caprai* se v ovariolách univoltinních druhů vodních ploštic před přezimováním (listopad) nacházejí většinou pouze vitellogenetické primární oocyty, které sestupují téměř k pedicelu ovarioley. Vajíčka s chorionem ještě nejsou přítomná. Během přezimování je vývoj jejich oocytů zastaven. Chorion je vylučován až na jaře, po přezimování (viz Papáček a Soldán (1987a), Papáček a Bohoněk (1989), Papáček et al. (1997).

Ve srovnání s jinou zatím známou dlouhověkou plošticí – bentickým druhem *Aphelocheirus aestivalis* (viz Papáček a Soldán, 2008), nastupuje vitellogeneze u *Velia caprai* dříve a probíhá prokazatelně ve všech fázích stále, tj. všechny typy buněk oogeneze lze nalézt u tohoto druhu v jakémkoli věku dospělých samic větším než 60 dnů. Oogeneze u *Aphelocheirus aestivalis* je u dospělých samic kontinuální, ale ustává na rozdíl od samic *V. caprai* v zimě (Papáček a Soldán, 2008).



## 5.4. Kutikulární struktura dorzální části gynatria a ústí spermatéky

Při studiu histologických mikropreparátů vývodných pohlavních cest různě starých samic byla pozorována zvláštní kutikulární struktura, lokalizovaná ve vývodu spermatéky a na stropu gynatria, jejíž funkce není přesně známá. Podobnou (homologickou / analogickou) strukturou může být tzv. „kutikulární hřebínek“ (= cuticular comb; viz diskuse Papáček a Soldán, 2008) u *Aphelocheirus aestivalis*, o kterém se zmiňují Papáček a Soldán (2008). Jeho funkcí je pravděpodobně fixovat a dočasně uložit spermatofor a zároveň pomáhat v jeho částečném rozdělení na jednotlivé spermie při oplozování kladených vajíček (Papáček a Soldán, 2008). Podobnou strukturou je „epiteliální hřebínek spermatéky“ u *Ilyocoris cimicoides* (viz Papáček et al. 1997). Pendergrast (1957) (viz Obr. 2.4) tuto strukturu mylně považoval u *Velia caprai* za sklerotizovaný sval.

## 5.5 Využití výsledků této práce v pedagogické praxi

Studium oogeneze hladinatky člunohřbeté může být využito v pedagogické praxi v rámci demonstrace dělení a reálné diferenciaci buněk, protože zárodečnou tkáň vaječníků můžeme považovat za nejdynamičtější tkáň s množstvím stále se dělících buněk. Na trvalých preparátech řezů ovariolou v rámci biologického praktika a práce na mikroskopech mohou studenti gymnázií pozorovat pohlavní soustavu hmyzu (telotrofní typ ovariol), zejména však dělení a diferenciaci buněk od oogonií v germariu, rostoucích oocytů ve vitellariu, až po vajíčka s chorionem. Fotografie trvalých preparátů mohou být snadno využity i v rámci výkladové hodiny o reprodukční soustavě hmyzu či reprodukci a oogenezi obecně nebo jako demonstrace samičí reprodukční soustavy hmyzu (jednoho z typů ovariol), dělení a diferenciaci buněk.

Problémem je, že vaječníky druhu *V. caprai* jsou velmi malé a druh se nevyskytuje po celém území republiky plošně. Návrh praktika s demonstrací oogeneze hmyzu byl publikován před téměř 25 lety (viz Papáček a Soldán, 1987b). S těmito autory lze souhlasit, že všeobecně dostupnějšími a názornějšími modely pro studium oogeneze jsou šváb americký nebo znakoplavka obecná.

## 6 Seznam literatury

- ANDERSEN N. M. 1995: Infraorder Gerromorpha Popov, 1971. pp. 77 – 114.  
In: Aukema B., Rieger Ch. 1995: Catalogue of the Heteroptera of the Palaearctic Region. The Netherlands Entomological Society, Ponsen & Looijen, Wageningen, The Netherlands. 222 pp.
- BORROR D. J., DELONG D. M., TRIPLEHORN CH. A. 1976: An Introduction to the Study of Insects, Fourth Edition. Holt, Rinehart and Winston, New York. 852 pp.
- BRADSHAW W. E., HOLZAPFEL C. M. 2010: Circadian clock genes, ovarian development and diapause. *BMC Biology*, 8: pp. 115 – 118.
- BUCHAR J. 2000: Seznámení s členovci. s. 13 – 56. In: Kovařík F. a kol. 2000: Hmyz; chov – morfologie. Nakladatelství Madagaskar, Jihlava. 295 s.
- BÜNING J. 1994: The Insect Ovary; ultrastructure, previtellogenic growth and evolution. Chapman & Hall, 2-6 Boundary Row, London SE1 8HN, UK. 400 pp.
- DITRICH T. 2005: Životní cyklus a vývoj reprodukčních orgánů hladinatky *Velia caprai* Tamanini, 1947 (Hemiptera: Heteroptera: Veliidae). Diplomová práce. Pedagogická fakulta Jihočeské univerzity. 139 s.
- DITRICH T., PAPÁČEK M. 2008: Obyčejná i neobyčejná hladinatka. *Živa*, 5: s. 218 – 219.
- DITRICH T., PAPÁČEK M. 2009: Effective strategy of the overwintering of semiaquatic bugs: overwintering of *Velia caprai* (Heteroptera: Gerromorpha: Veliidae). *Journal of Natural History*, 43 (9 – 10): pp. 529 – 543.
- ENGELMANN F. 1970: The Physiology of Insect Reproduction. Pergamon Press, Elmsford, NY, Oxford. 307 pp.
- GILLOT C. 1995: Entomology. 2nd. ed. Plenum Press, New York. 798 pp.
- HORN D. J. 1976: Biology of insects. W. B. Saunders Company, Philadelphia. 439 pp.

- HŮRKA K., ČEPICKÁ A. 1980: Rozmnožování a vývoj hmyzu. SPN, Praha. 223 s.
- IBANEZ DE BARRETT C. I., BOZZINI J. P., MARIANO DE BOZZINI M. 2004: Differentiation and morphogenesis of *Triatoma infestans* (Klug 1834) female gonads. I – Post embryonic development. *Biocell*, 28 (3): pp. 259 – 269.
- OBENBERGER J. 1952: Entomologie I. Přírodovědecké vydavatelství, Praha. 869 s.
- OBENBERGER J. 1958: Entomologie IV. Nakladatelství Československé akademie věd, Praha. 614 s.
- PAPÁČEK M., BOHONĚK K. 1989: The life cycle and ovarian development of *Corixa punctata* (Heteroptera, Corixidae) in South Bohemia. *Acta Entomol. Bohemoslov.*, 86: pp. 96-110.
- PAPÁČEK M., SOLDÁN T. 1987a: Development of the female internal reproductive system of *Notonecta glauca* (Heteroptera, Notonectidae) and the life cycle in South Bohemia. *Acta Entomol. Bohemoslov.*, 84: pp. 161 – 180.
- PAPÁČEK M., SOLDÁN T. 1987b: Vaječník hmyzu – didaktický model pro demonstraci diferenciaci a růstu živočišných buněk. *Přírodní vědy ve škole*, 38: s. 242 – 246.
- PAPÁČEK M., SOLDÁN T. 2008: Structure and development of the reproductive system in *Aphelocheirus aestivalis* (Hemiptera: Heteroptera: Nepomorpha: Aphelocheiridae). *Acta Entomologica Musei Nationalis Pragae*, 48 (2): pp. 299 – 318.
- PAPÁČEK M., SOLDÁN T., TRUHLÁŘOVÁ I. 1997: Development of the female internal reproductive system in *Ilyocoris cimicoides* (Heteroptera: Nepomorpha: Naucoridae). *Acta Soc. Zool. Bohem.*, 61: pp. 77 – 84.
- PENDERGRAST J. G. 1957: Studies on the reproductive organs of the Heteroptera with a consideration of their bearing on classification. *The Trans R. Ent. Soc. Lond., London*. 109 (1): pp. 1 – 63.

ROSS H. H., ROSS CH. A., ROSS J. R. P. 1982: A Textbook of Entomology.  
John Wiley & Sons, New York. 666, 1-30 pp.

USINGER R. L. 1956: Aquatic Hemiptera. pp. 182 – 228. In: Usinger R. L. a kol. 1956:  
Aquatic Insects of California with Keys to North American Genera and  
California Species. University of California Press, Berkeley and Los Angeles.  
508 pp.