

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta lesnická a dřevařská

Katedra ochrany lesa a entomologie



Mezikastovní rozdíly ve vnitřní anatomii termita *Embriatermes neotenicus* (Termitidae: Syntermitinae)

Bakalářská práce

Autor: Kryštof Vacek

Vedoucí práce: Mgr. Jan Šobotník, Ph.D.

2016

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta lesnická a dřevařská

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Kryštof Vacek

Hospodářská a správní služba v lesním hospodářství

Název práce

Mezikastovní rozdíly ve vnitřní anatomii termity *Embriatermes neotenicus* (Termitidae: Syntermitinae)

Název anglicky

Inter-caste differences in the anatomy of termite *Embriatermes neotenicus* (Termitidae: Syntermitinae)

Cíle práce

Tato bakalářská práce by měla shrnout dosavadní znalosti o rozdílech ve vnitřní anatomii jednotlivých kast termitů a poskytnout nová data o jednom z našich modelových organismů.

Metodika

Literární rešerše.

Příprava polotenkých řezů termitů z existujících vzorků (2 dělníci a 2 vojáci)

Srovnání s jinými druhy termitů v rámci dostupné sbírky

Popis výsledků, příprava podkladů pro plánovanou publikaci

Doporučený rozsah práce

30 stran

Klíčová slova

termiti, Isoptera, Termitoidea, dělník, voják, pohlavní jedinec, exokrinní žlázy, střevo, tukové těleso, gonády

Doporučené zdroje informací

- Bignell D., Roisin Y. & Lo N. 2011: *Biology of Termites: A Modern Synthesis*. Springer, Dordrecht, 576 pp.
- Krishna K. & Weesner F.M. 1969: *Biology of termites*. Academic Press, New York, 598 pp.
- Šobotník J., Hanus R., Piskorski R., Urbanová K., Wimmer Z., Weyda F., Vytisková B. & Sillam-Dussès D. 2010: Impact of a juvenile hormone analogue on the anatomy and the frontal gland secretion of *Prorhinotermes simplex* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Journal of Insect Physiology* 56: 65-72.
- Šobotník J., Weyda F., Hanus R., Kyjaková P. & Doubský J. 2004: Ultrastructure of the frontal gland in *Prorhinotermes simplex* (Isoptera: Rhinotermitidae) and quantity of the defensive substance. *European Journal of Entomology* 101: 153-163.
- Šobotník J., Weyda F. & Hrdý I. 1999: Morphology and anatomy of presoldier of *Prorhinotermes simplex* (Isoptera: Rhinotermitidae). In: Tajovský K. & Pižl V. (Eds): *Soil zoology in central Europe*, pp. 309-314.
- Šobotník J. & Weyda F. 2003: Ultrastructural ontogeny of the labial gland apparatus in *Prorhinotermes simplex* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Arthropod Structure & Development* 31: 255-270.

Předběžný termín obhajoby

2015/16 LS – FLD

Vedoucí práce

Mgr. Jan Šobotník, Ph.D.

Garantující pracoviště

Katedra ochrany lesa a entomologie

Elektronicky schváleno dne 18. 12. 2015

prof. Ing. Jaroslav Holuša, Ph.D.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 19. 12. 2015

prof. Ing. Marek Turčáni, Ph.D.

Děkan

V Praze dne 19. 04. 2016

Čestné prohlášení:

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma mezikastovní rozdíly ve vnitřní anatomii termitů vypracoval samostatně pod vedením Mgr. Jana Šobotníka Ph.D. a použil jen prameny, které uvádím v seznamu použitých zdrojů.

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

V Praze dne 15. 4. 2016

Kryštof Vacek

Poděkování:

Rád bych poděkoval svému vedoucímu práce Mgr. Janu Šobotníkovi Ph.D. za pomoc a velkou trpělivost při psaní mé bakalářské práce. Rovněž bych chtěl poděkovat i Mgr. Petru Stiblíkovi a Bc. Františkovi Jůnovi za pomoc v laboratoři a na závěr chci poděkovat své přítelkyni a rodině za podporu.

Abstrakt	7
1. Úvod	8
2. Cíle práce	9
3. Seznámení s termity	10
3.1. Systematika	10
3.2. Životní cyklus.....	10
3.3. Potrava.....	10
3.4. Ontogeneze.....	11
3.5. Vývoj z nymfy v příslušníka kasty.....	13
4. Kasty	14
4.1. Nymfy a larvy	14
4.2. Dělník.....	14
4.3. Voják.....	15
4.4. Pohlavní jedinci.....	16
5. Hnízdo	18
5.1. <i>Single-site nestres</i>	18
5.2. <i>Multiple-site nesters</i>	18
5.3. <i>Central-site nesters</i>	18
6. Stavba těla	20
6.1. Centrální nervová soustava	20
6.2. Trávicí soustava	21
6.2.1. <i>Malpighické</i> trubice	22
6.3. Žlázy v těle termitů	22
6.3.1. Exokrinní žlázy.....	23
6.3.2. Endokrinní žlázy.....	25
6.4. Svaly.....	26
6.5. Oběhový systém	27
6.6. Tukové těleso	28
6.7. Gonády	28
6.8. Dýchací systém	29

7. Metodika	30
7.1. Vybavení pro tvorbu vzorků	30
7.2. Příprava chemikálií	30
7.3. Příprava vzorků, fixace a vymývání vzorků	30
7.4. Řezání vzorků.....	32
8. Vlastní pozorování	34
8.1. Dělník.....	34
8.2. Voják.....	36
9. Diskuze.....	39
10. Souhrn	41
11. Citace.....	42

Abstrakt

Ve své práci se věnuji vnitřní anatomii termitů na příkladu *Embiratermes neotenicus* (Blattodea: Termitoidea: Termitidae: Syntermitinae), zejména rozdílům v rozvoji jednotlivých orgánů u kasty vojáka a dělníka. V první části popsuji obecnou stavbu typickou pro sterilní kasty termitů. Zabývám se rozvojem, stavbou, velikostí, ale také účelem jednotlivých orgánů. Jmenovitě to jsou exokrinní a endokrinní žlázy, centrální nervová soustava, trávicí soustava, tukové těleso, dýchací a oběhový systém, gonády a svaly. V praktické části jsem zkoumal dělníka a vojáka druhu *Embiratermes neotenicus* pomocí optické mikroskopie. Zmapoval jsem jednotlivé orgány a celkovou vnitřní strukturu těla. V diskuzi porovnávám obě kasty mezi sebou a zařazuji svá pozorování do širšího kontextu.

Klíčová slova:

Isoptera, *Embiratermes neotenicus*, dělník, voják, exokrinní žlázy, střevo

Abstract

I devote my thesis to the inner anatomy of termites, as exemplified by *Embiratermes neotenicus* (Blattodea: Termitoidea: Termitidae: Syntermitinae), in which I studied differences in particular inner organs between worker and soldier. In the first part I described the general body structure typical for sterile castes in termites. I deal with the development, structure, size and also with the purpose of individual organs. These are namely exocrine and endocrine glands, central nervous system, digestive system, fat body, respiratory and circulatory systems, gonads, and muscles. In practical part, I examined worker and soldier of *Embiratermes neotenicus* by means of optical microscopy. I successfully analysed the development of particular organs and the overall structure of the body. In the discussion section, I compare both castes and put my observations into a broader context.

Key words:

Isoptera, *Embiratermes neotenicus*, worker, soldier, exocrine glands, gut

1. Úvod

Termiti, známí pod latinským názvem řádu Isoptera, jsou sociálním hmyzem žijícím v početných koloniích. Známi jsou především pro specifická obydlí v podobě velkých termitišť. Jejich zástupce můžeme nalézt v tropických a subtropických oblastech prakticky po celém světě a jejich role v přírodních procesech je velmi důležitá (Davies et al. 2003). Živí se mrtvým rostlinným materiálem v různých fázích rozkladu (Donovan et al., 2001). Termiti jsou nejdůležitější skupinou dekompozitorů všech rostlinných pletiv v přírodě (Davies et al. 2003). Díky tomu, v místech jejich výskytu, často dochází ke konfrontaci s aktivitami lidí, pro které jsou některé druhy velmi nepříjemnými škůdci. Na existenci termitů je adaptováno mnoho jiných organismů. Patří sem jak predátoři z řad mravenců, tak různé druhy brouků, hub a bakterií, které jsou na termitech existenčně závislí, nebo si jsou vzájemně prospěšní (Ohkuma *et al.* 2011).

Termiti jsou eusociální švábi (Blattodea: Termitoidea *sensu* Lo *et al.* 2007). Žijí v komplexních společnostech, které bychom mohli nazvat "superorganizmy" (Wilson 1992). Tato vlastnost je jedním z nejzajímavějších aspektů jejich života. Jednotlivá společenstva mají pevně vybudovanou kastovní hierarchii, kde má každý jedinec svůj úkol, který plní pro dobro kolektivu.

Pro svou bakalářskou práci jsem si vybral téma srovnání mezikastovních rozdílů ve vnitřní stavbě těla vojáka, dělníka druhu *Embiratermes neotenicus* (Blattodea: Termitoidea: Termitidae: Syntermitinae), pomocí optické mikroskopie. Vybrané vzorky pocházely z Francouzské Guyany, kde je tento druh běžným hlínožravým termitem. Mimo jiné je zajímavý stavbou těla vojáků, kteří mají mohutná srpovitá kusadla (tzv. propichovací typ vojáka) a zároveň dobře vyvinutou frontální žlázu ústící na konci dlouhého nosce (*nasus*). Tato obranná žláza produkuje jedovaté látky, které jsou vylučovány do rány způsobené kusadly.

2. Cíle práce

Ve své práci jsem se snažil shromáždit obecné informace o vnitřní stavbě těl jedinců z různých kast. Seskupil jsem zde obecné informace o jednotlivých orgánech, žlázách a svalech a uvedl jsem příklady jejich účelu. Dále jsem se zabýval spojitostmi, mezi jejich využitím, změnami umístění a velikostí u jednotlivých kast.

V rámci praktické práce jsem zkoumal vnitřní anatomii těl dvou vybraných jedinců, dělníka a vojáka, druhu *Embiratermes neotenicus*. Kromě obecných odlišností mezi zástupci obou hlavních kast mne zajímala především struktura orgánů hlavové kapsule vzhledem k dramatické přestavbě celé hlavové schránky vojáka v souvislosti s rozvojem obranných struktur.

Dále jsem se zaměřil na všechny hlavní orgánové soustavy v těle hmyzu, s výjimkou trávicí trubice, která nemohla být studována z důvodu metodologického omezení (přítomnost zrnků písku ve střevě efektivně zabraňuje přípravě polotenkových řezů).

Porovnal jsem strukturu tkání mezi vojákem a dělníkem s cílem pochopit odlišnosti v jejich uzpůsobení různým funkcím dělníka a vojáka v kolonii termitů. V první řadě se zaměřuji na exokrinní žlázy (žlázy s vnější sekrecí) ve spojitosti s jejich funkcí u obou studovaných kast. Dále se zabývám mandibulárními, intersegmentálními a létacími svaly.

Příprava polotenkových řezů byla provedena pomocí standardního mikrotomu, optického mikroskopu a specializovaného programu, jak je specifikováno níže.

3. Seznámení s termity

3.1. Systematika

Termity jsou součástí řádu Dictyoptera (spolu se šváby a kudlankami), a v rámci tohoto taxonu jsou fylogeneticky vnitřní skupinou švábů (Inward *et al.* 2007a; Ware *et al.* 2008; Bourguignon *et al.* 2015). Jsou blízkými příbuznými čeledi Blattidae, a jejich sesterskou skupinou jsou dřevo konzumující švábi druhu *Cryptocercus*. Na světě je kolem 3000 popsáných druhů termitů (Krishna *et al.* 2013) a dalších 500-1000 druhů stále čeká na popsání (Kambhampati & Eggleton 2000). Nejnovější vyšší klasifikace (Engel *et al.* 2009) rozděluje tyto druhy do devíti současných a tří fosilních čeledí.

3.2. Životní cyklus

Počátek nové kolonie začíná rojením okřídlených dospělců. Dospělci po svém svatebním letu přistanou na zemi nebo na kusu mrtvého dřeva, zahodí křídla a (většinou) samice láká samce vylučováním pohlavního feromonu. Dvojice vybuduje svatební komůrku, která do budoucna poslouží jako centrum nového termitiště. Po zajištění bezpečného místa, zapečetění komůrky a spáření, začne královna klást první vajíčka, ze kterých se následně vylíhnou larvy, z nichž se stávají první dělníci (a vždy jeden voják) nové kolonie. Ti začínají pečovat o další potomstvo královského páru, budují strukturu kolonie a shánějí potravu. Když kolonie dosáhne dospělé velikosti, začnou se znovu vyvíjet letu schopní dospělci a cyklus se opakuje (Bignell *et al.* 2011).

3.3. Potrava

Termity jsou tvorové, kteří v ekosystému zastávají post dekompozitorů. Jejich potravou jsou rostlinná pletiva ve všech fázích dekompozice, tedy mrtvé nebo tlející dřevo, tráva, listový opad, svrchní vrstvy půdy bohaté na humusovou složku nebo jen mineralizované organické složky v hlíně (Bignell *et al.* 2011). Tato potrava je však těžko stravitelná, proto mají termity vybudovanou symbiózu s řadou mikroorganismů, bakterií, prvoků i hub, které jim pomáhají narušit strukturu potravy (Brune a Ohkuma 2011). Většina z nich osidluje trávicí soustavu, především zadní střevo, a u podčeledi Mactotermitinae (Termitidae) došlo ke vzniku symbiotického soužití s houbami rodu *Termitomyces*, které jsou pěstovány ve speciálních houbových

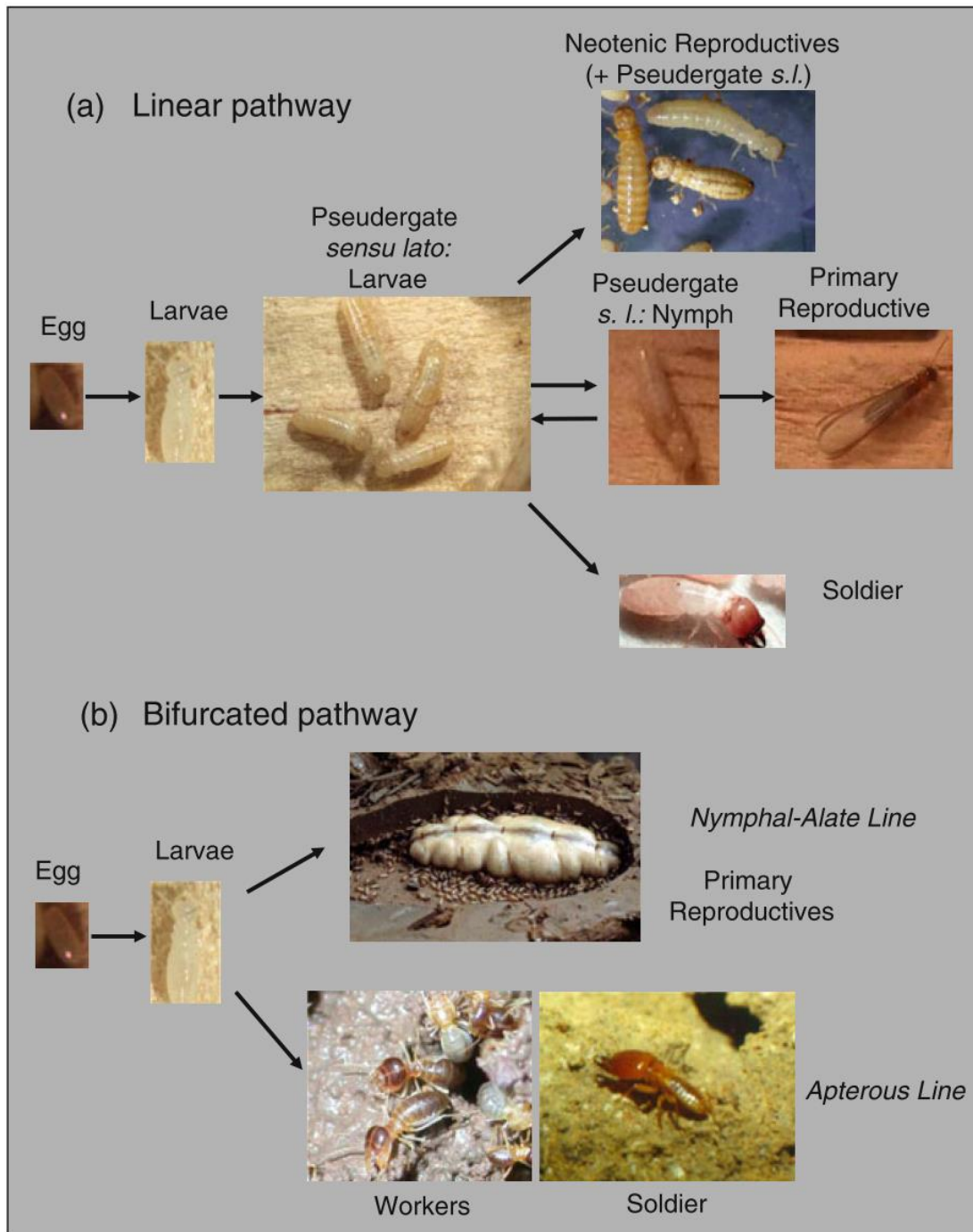
zahrádkách (Korb a Aanen, 2003). Tento aspekt je brán mimo jiné, také jako jeden z hlavních důvodů, proč žijí termiti ve velkých společenstvech, neboť po každém svlékání jedinec ztrácí veškerou symbiotickou mikroflóru, a musí jí tedy znovu získat od rodičů nebo jiných členů kolonie (Krishna 1969).

3.4. Ontogeneze

Životní cyklus termitů vychází z klasického *hemimetabolního* schématu (proměna nedokonalá). Má čtyři základní fáze: vajíčko, larva, nymfa (brachypterní stádium) a dospělý jedinec. U termitů můžeme pozorovat dva různé typy vývoje: lineární a rozvětvený. Oba typy začínají naklazením vajec, jež jsou (s drobnými výjimkami) oplozeny spermií krále.

U lineárního typu dochází k vývoji přes stádia larev a pseudergátů (nepravých dělníků) k nymfám a dospělcům schopných rozmnožování, s odbočkami k vojákům a neotenikům. Tento způsob vývoje je primitivnější a umožňuje velkou flexibilitu včetně reverzního svlékání nymf do pseudergátů. Typickými čeledmi jsou Kalotermitidae, Archotermopsidae a některé rody Rhinotermitidae.

U rozvětveného typu vývoje dochází k brzkému rozdělení na dvě větve a to *apterní* a *nymfálně-alátní*. Tím jsou od sebe během vývoje odděleny sterilní a fertilní kasty. Toto schéma je typické pro čeledi Mastotermitidae, Hodotermitidae, Termitidae a pro některé rody Rhinotermitidae (Roisin a Korb 2011).



Obr. 1. Schémata lineární (a) a větvené (b) ontogeneze termitů (převzato z Roisin a Korb 2011).

Překlad: Egg-vajíčko, Larvae-larva, Nymph-nymfa, Primary Reproductive-primární pohlavní jedinec, Pseudergate- pseudergát, nepravý dělník, Soldier-voják, Workers-dělníci,

Vývoj jedince v jednotlivé kasty není předem daný a je regulován pomocí feromonů, který produkují členové jednotlivých kast (Krishna 1969). Na druhou stranu se v poslední době začínají objevovat důkazy o vlivu genetických faktorů na budoucnost daného jedince (Hayashi *et al.* 2007). Rychlost vývoje je také proměnlivá a je ovlivněná řadou faktorů, jako je dostupnost potravy či počty jedinců u jednotlivých kast (Krishna 1969).

3.5. Vývoj z nymfy v příslušníka kasty

Nejvíce podporovaná teorie kastovní diferenciacce je teorie inhibice, která byla poprvé navržena Pickensem (1932) a později vypracována a doložena experimenty Casteleho (1934), Lighta (1942-1943, 1944), Lüschera (1952, 1960, 1961) a dalšími. Tato teorie říká, že dospělci schopní reprodukce a vojáci produkující feromony (dříve nazývané ektohormony nebo sociální hormony) jsou přenášeny na nymfy skrze celou kolonii, prostřednictvím vzájemného krmení a čištění. Tímto způsobem působí na vývoj jednotlivých forem. Když se z důvodu zvýšení počtu obyvatel v důsledku růstu kolonií, nebo kvůli ztrátám, nebo snížení reprodukčních jedinců a vojáků některé nediferencované nymfy dostanou pod tento inhibiční vliv, vyvinou se v další členy těchto kast. Takto je řízena produkce jednotlivých kast a poměr je udržován v rovnováze (Krishna 1969).

4. Kasty

V termitím hnízdě jsou pevně rozdělené role pro jednotlivé kasty. Prakticky zde jedince dělíme na tři hlavní kasty: dělníci, vojáci a královský pár. Jsou zde ještě nedospělí jedinci, kteří se mohou podle aktuální potřeby vyvinout v jednotlivé představitele kast (Krishna 1969). Ačkoliv každý jedinec plní svou předem danou úlohu a přispívá tím k prospěchu celé kolonie, speciálně u bazálních skupin termitů pozorujeme řadu fenoménů napovídajících maximalizaci vlastních sobeckých zájmů jedince (Korb 2011)

4.1. Nymfy a larvy

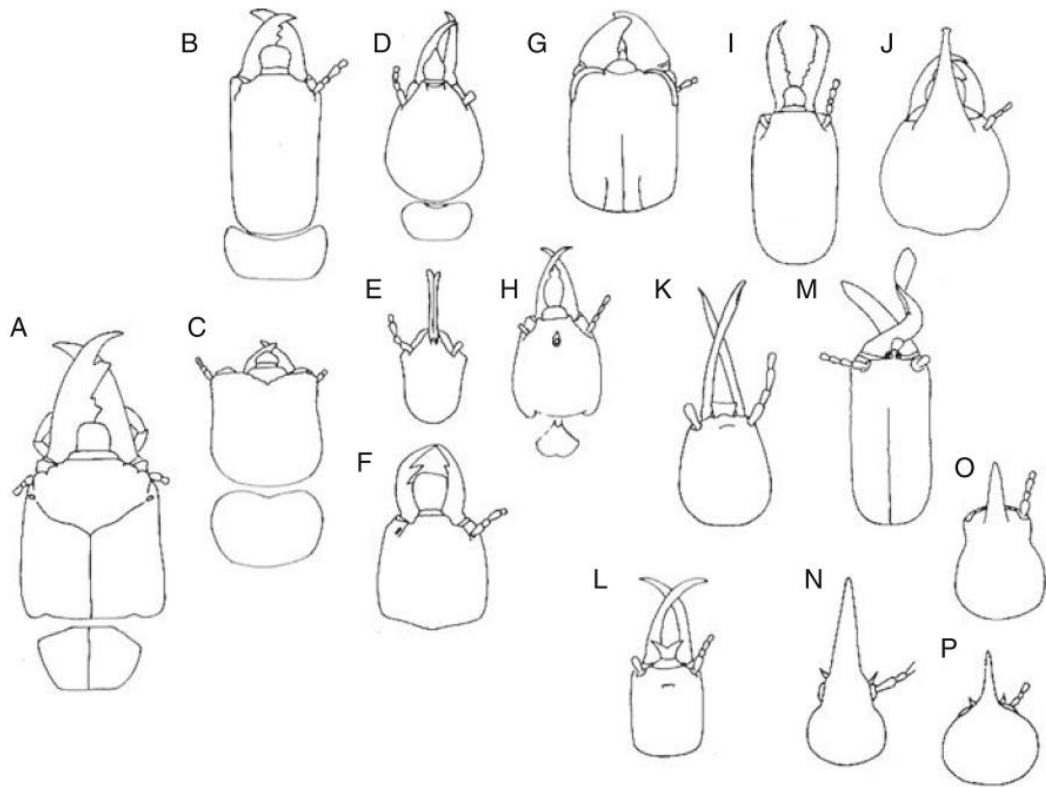
Termití vývoj lze charakterizovat jako proměnu nedokonalou (*hemimetabolie*), typicky zahrnující řadu instarů, jež vykazují rostoucí základy křídel a končí vývojem v okřídlené imago (*alate*). U termitů jsou termínem nymfa chápáni pouze jedinci vykazující viditelné základy křídla, mladší nediferencovaná stadia se nazývají larvy (Bignell *et al.* 2011).

4.2. Dělník

Kasta dělníka je zodpovědná za plnění běžných úkolů v hnízdě, jako je sběr potravy, stavba a opravování hnízda, krmení závislých kast, či péče o potomstvo. Dělníci jsou obvykle obou pohlaví a jsou sterilní, ačkoliv jsou u některých skupin schopni diferenciovat se v neotenické (nedospělé) pohlavní jedince. Valnou většinu svého života tráví pod zemí. Mají měkké tělo. U některých druhů je možné nalézt na hlavě pár složených očí, které však umožňují pouze rozeznání světla a tmy (Krishna 1969). V prostředí se pohybují především pomocí komunikačních feromonů a dále využívají vysoké citlivosti na otřesy půdy. Vnější stavba dělníků je přizpůsobena pro jejich práci. Nemají křídla a jejich kousací ústrojí je uzpůsobeno pro zpracovávání potravy. Jsou tak dobře patrné rozdíly kousacího ústrojí u hlínožravých a dřevožravých druhů. Dělníků mají dobře vyvinutý pár kusadel, maxilu a labium. V ústní dutině ústí párová labiální žláza, která vylučuje sliny a trávicí enzymy napomáhající trávení, stejně tak je i zdrojem cementu pro výstavbu termitiště (Noirot 1969).

4.3. Voják

Vojáci jsou stejně jako dělníci samčího a samičího pohlaví, ale jejich pohlavní orgány jsou většinou zakrnělé (s výjimkou plodných vojáků u čeledi Archotermopsidae). U kasty vojáků jsou nejlépe pozorovatelné změny stavby těla a to jak mezi odlišnými druhy, tak i v rámci jednoho druhu. Mnoho jich má hned několik změn různých typů podle způsobu jimi aplikované obrany. Valnou většinu těchto změn můžeme pozorovat v oblasti hlavové kasule (obr. 2). Jejich hlava je oproti dělníkovi značně zvětšená a sklerotizovaná. Modifikace se dají dobře pozorovat u labra, které může být přeměněno do různých tvarů. Stejně tak kousací ústrojí je modifikováno většinou ve velká kusadla, sloužící výhradně k obraně před nepřítelem (především mravenci) (Weesner 1970). Často také disponují různými druhy chemické obrany (Prestwich 1984). Například u některých odvozených termitů je hlava protažena do nosce, na jehož konci je umístěno vyústění obranné frontální žlázy (viz obr. 2 (j,n,p,o)). Vojáci jsou však čistě obranný prvek společenstva a slouží pouze k ochraně hnízda. Vojáci jsou slepí i přesto že mohou mít zakrnělé oči, ve většině případů jim však zcela chybí. Vzhledem k uzpůsobení kusadel nejsou jedinci schopni samostatného získávání potravy a jsou tak závislí na dělnících (Bignell *et al.* 2011).



Obr. 2. Pohled na hlavy vojáků shora (upraveno z Weesner 1970). Druhy: A- *Archotermopsis wroughtoni*; B- *Rugitermes bicolor*; C- *Cryptotermes verruculosus*; D- *Coptotermes sjostedti*; E- *Rhinotermes hispidus* (malý voják); F- *Rhinotermes hispidus* (velký voják); G- *Jugositermes tuberculatus*; H- *Acanthotermes acanthothorax* (malý voják); I- *Microcerotermes fuscotibialis*; J- *Armitermes grandidens*; K- *Promirotermes orthocopes*; L- *Procubitermes niapuensis*; M- *Pericapritermes urgens*; N- *Angularitermes nasutis-simus*; O- *Coarctotermes suffuscus*; P- *Nasutitermes octopilis*

4.4. Pohlavní jedinci

Pohlavní jedinci jsou dvojího typu. Do prvního typu se řadí okřídlení *aláti*, již zahazují křídla a stávají se druhým typem *deláty*. Tito jsou tzv. primární pohlavní jedinci, zatímco sekundární jsou ti, kteří po smrti původního krále, či královny zaujali uvolněné místo, nebo se rozmnožují zároveň s nimi. Sekundární pohlavní jedinci mohou vznikat z *alátů*, kteří neopustili mateřskou kolonii, či z nedospělých stádií, pak jsou nazýváni *neoteniky*. *Nymfoidní neotenici* vznikají z nymf, zatímco *ergatoidní* z dělníků či vzácně larev (Noirot 1969).

Tělo pohlavních jedinců je větší než u ostatních kast a je sklerotizované. *Aláti* jsou jedini okřídlení jedinci v hnízdě a reprezentují hlavní způsob, jakým se termity šíří a zakládají nové kolonie. Uvnitř kolonií dospívají ve velkých počtech a při příhodných podmínkách opouštějí hromadně hnízdo s cílem založit novou kolonii (Jeschke & Tollrian 2007). Po svatebním letu jedinci křídla odpadají a na hřbetě jsou po nich vždy zanechané pahýly. Následně pár zbuduje a zajistí svatební komůrku a dojde ke spáření. Během následného života páru dochází u obou jedinců ke změnám ve stavbě těla. Postupně degenerují letové svaly a královně se zvětšuje abdominální část, až na mnohonásobek původní velikosti (tzv. *fyzogastrie*). Pár zůstává po zbytek života uvnitř komůrky a jejich potřeby jsou obstarávány dělnickou kastou (Krishna 1969).



Obr. 3. Jednotlivé kasty *Embiratermes neotenicus*: Q- královna, K- král, V- voják, D- dělník (Se svolením Jana Šobotníka)

5. Hnízdo

Tři základní typy hnízdní ekologie jsou jednokusoví termity (*single-site nesters*), mnohokusoví termity (*multiple-site nesters*) a centrálně hnízdící termity (*central-site nesters*) (Hanus 2003).

5.1. *Single-site nesters*

Tato kategorie zahrnuje druhy, jejichž kolonie obývají jediný kus dřeva, který neopouštějí pro získání potravy ani za účelem založení nové kolonie migrací (Hanus, Šobotník 2003). Hnízda jsou zakládána v mrtvých kmenech nebo větvích, tlejících kládách či pařezech (Myles 1999). Objem a kvalita dřeva určují životnost kolonie i počet jedinců kolonie. Doba existence kolonie se pohybuje většinou v jednotkách let, a počty jedinců ve stovkách až tisících (Shellman-Reeve 1997).

5.2. *Multiple-site nesters*

Rozvinutá kolonie obvykle obývá několik hnízd ve dřevě, které slouží jako zdroj potravy, nicméně zůstává propojená systémem podzemních tunelů a galerií (Hanus, Šobotník 2003). Hlavním zdrojem potravy je dřevo, nikoliv však nutně materiál vlastního hnízda, dále též jiné rostlinné tkáně, ale i houby (Gay a Callaby 1970, Noirot 1970). Schopnost rozšiřování potravního teritoria je činitelem, který zásadně zvyšuje stabilitu kolonie a umožňuje její dlouhověkost a vysoký počet jedinců (např. více než milion jedinců v jediné kolonii *M. darwiniwensis* (Jones *et al.* 1988)

5.3. *Central-site nesters*

Složitě strukturovaná hnízda jsou tunely a galeriemi propojeny se širokým potravním teritoriem. Dřevo je pouze jedním ze zdrojů potravy, dalšími jsou semena, plody, listy, květy, houby, lišejníky, opad, humus apod. (Boulin 1970).

Podle lokalizace hnízda v prostředí můžeme rozlišit tři hlavní typy: podzemní hnízda, nadzemní hnízda a stromová hnízda.

Termitiště mohou vznikat ve dřevě, často alespoň v jeho blízkosti. Jsou zbudována z trusu, hlíny a dalších materiálů, které jsou spojovány cementem. Ten termity produkují v labiálních žlázách a za jeho pomoci pak lepí materiál k sobě. Systém chodeb vzniká systematicky a vnitřní konstrukce jsou znovu zpevňovány výměšky žláz a cementem tak, aby se zabránilo jejímu zborcení. Z termitiště je vybudován

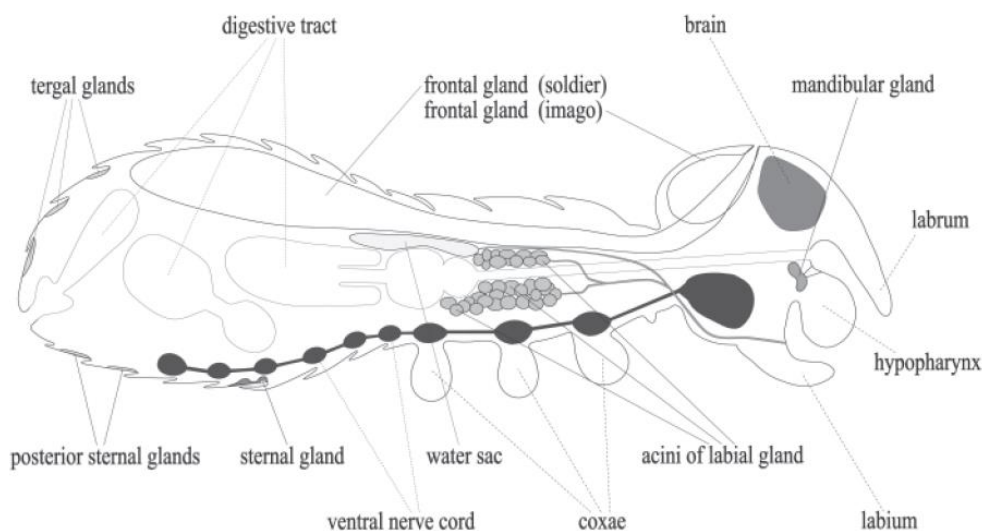
system cest a chodeb přímo ke zdrojům potravy a vody a dělníci jí pak zprostředkovávají zbytku kolonie (Hanus 2003).

Hnízda jsou budována tak, aby udržovala konstantní teplotu a vysokou vlhkost, která je pro termity velmi důležitá. Vnitřní prostředí těchto staveb se často značně liší od vnějšího a vlhkost uvnitř hnízda může dosahovat až 90% (Krishna & Weesner 1969). Pro termity je dostatek vody limitujícím faktorem a vzhledem k citlivosti ke ztrátám vody si své prostředí přizpůsobují tak, aby se co nejvíce minimalizovalo riziko vyschnutí.



Obr. 4. Hnízdo *Embirationes neotenicus* (se svolením Jana Šobotníka)

6. Stavba těla



Obr. 5. Obecné schéma těla termita (převzato z Šobotník & Hubert 2003)

Překlad: tergal glands - tergální žláza, digestive tract - trávicí trakt (střevo), frontal gland - frontální žláza, brain - mozek, mandibular gland - mandibulární žláza, labrum - labrum, hypopharynx - hypofarynx, labium - labium, acini of labial gland - acini labiální žlázy, coxae - koksy (kyčle), water sac – rezervoár labiální žlázy, nerve cord - nervová soustava, sternal gland - sternální žláza, posterior sternal gland - posteriorní sternální žláza

6.1. Centrální nervová soustava

Obecný plán centrálního nervového systému je u termitů stejný jako u ostatního hmyzu, tzn. jedná se o žebříčkovou nervovou soustavu složenou z ganglií, podélných konektiv a příčných komisur (s výjimkou *suboesofageální* komisury přítomné uvnitř jednotlivých ganglií). Mozkové ganglium a podjícnové (*subesophageální*) ganglium jsou obsaženy v hlavové kapsuli. Jedinci mají tři hrudní ganglia a šest abdominálních. Také mají nervy, které patří do sympatického systému a jsou připojeny k centrálnímu nervovému řetězci (Zuberi 1963).

Mozkové ganglium je obvykle složeno ze tří částí stejně jako u jiného hmyzu: *protocerebrum*, *deutocerebrum* a *tritocerebrum*. *Protocerebrum* zpracovává optické podněty a je spojeno s očima, a dále obsahuje asociační centra v *pars intercerebralis* a *korpora pedunculata*. *Deutocerebrum* je napojeno na tykadla a zodpovídá za

zpracování čichových stimulů; *tritocerebrum* inervuje zbytek hlavy. Mozkové ganglium se nachází v hřbetní (dorzální) části hlavové kapsule, a liší se relativním objemem v závislosti na kastě nebo věku jedince. U mladých larev zabírají ganglia relativně velký objem, zatímco u dospělých vojáků mají poměrně malý objem (Richard 1969). Absolutní objem mozku je u *Macrotermes bellicosus* (Termitidae: Macrotermitinae) téměř stejný u malých dělníků, velkých dělníků a malých vojáků, bez ohledu na různé velikosti hlav (Hecker 1966). Obecně platí, že zadní část mozkového ganglia tvoří dva vypouklé oblouky, lehce od sebe oddělené uprostřed. Přední část je mírně zploštělá a naklání se ve vztahu k rovině labia. Tento sklon se mění s jednotlivci z různých kast (Richard 1969). U vojáků rodu *Nasutitermes* může, díky vývoji ohromné frontální žlázy, dojít k posunu mozku hlouběji do hlavy a zároveň k bočnímu vychýlení (Zuberi 1963).

6.2. Trávicí soustava

U bazálních čeledí je střevo velmi podobné jako u švábů, ale u Termitidae je silně pozmeněno směrem k větší komplexitě. Hmyzí trávicí trakt je rozdělen do tří odlišných částí: přední střevo (*stomodeum*), střední střevo (*mesodeum*) a zadní střevo (*proktodeum*). Potrava přechází do *stomodea*, které se skládá z hltanu (*farynx*), jícnu (*oesophagus*), volete (*crop*) a žvýkacího žaludku (*proventrikulus*), který slouží jako mlecí orgán. Z proventrikulu potrava postupuje do středního střeva (*mesodeum*), které je hlavním zdrojem enzymů u většiny hmyzu (Noirot 2001). Střední střevo je místem produkce většiny trávicích enzymů (celulázy jsou produkovány zde u Termitidae, ale labiálními žlázami u bazálních skupin termitů) a absorpce výživných látek. Na spojení mezi *mesodeum* a *proktodeum* se do střeva otevírají *Malpighické* trubice, které mají vylučovací funkci. Částečně využitá potrava pak přechází do *proktodea*, které je mezi jednotlivými zástupci značně proměnlivé co se týká délky a struktury, ale vždy končí konečníkem (rektum) a řitním otvorem (anus) (Bignell *et al.* 2011).

U čeledi Termitidae vymizeli z trávicího traktu bičíkovci a to zřejmě urychlilo vývoj fyziologických a anatomických inovací. Hlavní změny jsou zjednodušení proventrikulu, vývoj smíšeného (*mixed*) segmentu mezi *mesodeum* a *proktodeum*, snížení počtu malpighických trubic, rozvoj sklerotizované enterické valvy mezi

druhým a čtvrtým segmentem *proktodea* a rozsáhlý (a velmi variabilní) vývoj a fragmentace zadního traktu. Díky těmto změnám jsou jedinci schopni efektivnějšího trávení typické potravy (dřevo, tráva) a rozšíření potravního spektra o humus a vrchní vrstvy půdy (Bignell *et al.* 2011).

6.2.1. Malpighické trubice

Zplodiny metabolismu jsou z těla hmyzu odváděny pomocí *Malpighických* trubic. Jedná se o dlouhé tenké trubice, které distálně končí slepě a proximálně se otevírají do trávicí trubice na pomezí *mesodea* a *proktodea*. Trubice jsou tvořeny jednou vrstvou buněk s *mikrovili* v apikální části. *Malpighické* trubice jsou hlavním místem resorpce odpadních látek z hemolymfy (Šobotník 2003).

6.3. Žlázy v těle termitů

Žlázy termitů se dělí do dvou hlavních skupin: endokrinní žlázy (žlázy s vnitřní sekrecí) a exokrinní žlázy (žlázy s vnější sekrecí).

Endokrinní žlázy jsou takřka vždy odvozeny od nervové soustavy, a produkují pestrou škálu hormonů regulujících životní funkce. Mezi nejznámější patří *retrocerebrální* komplex (tvoří ho *korpora cardiaca* a *korpora allata*) a svlékač (moulting) žlázy (Noirot 1969).

Do exokrinního systému řadíme 19 zatím známých žláz. Jsou to: epidermální tegumentální žláza, dvoubuněčná tegumentální žláza (*bicellular unit tegumental glands*), frontální žláza, labrální žláza, bazální mandibulární žláza (*mandibular base gland*), mandibulární žláza, labiální žláza, chodidlová (*tarsální*) žláza, boční hrudní žláza, dehiscentní žlázy (*dehiscent glands*), tergální žlázy, sternální žláza, posteriorní sternální žláza, spermatéckální žláza (*spermathecal gland*), pleurální zadečková žlázy (*pleural abdominal glands*) (Gonçalves *et al.* 2010), hypofaryngeální žláza (Brossut 1973), krystalová žláza (Šobotník *et al.* 2012, 2014) a klypeální žláza (*clypeal gland*) (Křížková *et al.* 2014).

O většině žláz se toho příliš neví, popřípadě na nich momentálně probíhá výzkum mého školitele s cílem doložit jejich využití. Většinou se však jedná o žlázy sloužící obraně a komunikaci, popřípadě jsou využívány k jiným účelům (Křížková *et al.* 2014). Níže se zabývám těmito hlavními žlázami, vyskytujícími se u dělníka a

vojáka *Embiratermes neotenicus*: labiální, labrální, mandibulární, frontální a sternální žlázou. Ostatní žlázy se u mého modelového druhu nevyskytují.

6.3.1. Exokrinní žlázy

Labiální žláza

Párová labiální žláza je přítomna u všech termitů a to bez rozdílu druhu, příslušnosti ke kastě či vývojovému stádiu (Noirot 1969; Billen *et al.* 1989; Šobotník & Weyda 2003). Žláza je tvořena shluky sekrečních buněk (*acini*), rezervoárem (obvykle označován jako *water sac*) a dukty spojujícími jednotlivé části. *Acini* se nachází v thoraxu a anteriorním abdomenu poblíž trávicí trubice, rezervoáry jsou obvykle posunuty posteriorně od *acinů* (Šobotník & Weyda 2003).

Využití žlázy se liší podle příslušnosti daného jedince ke konkrétní kastě. U dělníků slouží sekrece této žlázy hned k několika účelům. Sekrety usnadňují trávení potravy (zejména produkce celuláz u bazálních skupin), dále jsou využívány ke krmení závislých kast (vojáci, královský pár, larvy, nymfy), ke stavební činnosti, kdy sliny fungují jako cement a jsou využívány ke spojování materiálů, a ke značení potravních zdrojů (Noirot 1969; Grasse' 1982; Reinhard *et al.* 2002; Tokuda *et al.* 2002; Fujita *et al.* 2008).

Další využití labiálních žláz je k obraně, především u vojáků, kdy sekrece obsahuje jedovaté látky, jež využívají vojáci k poškození nepřítele. Využití labiálních žláz k obraně však bylo potvrzeno i u dělníků, zejména u bezvojákatých druhů termitů (Sands 1982; Sillam-Dussès *et al.* 2012).

Mandibulární žláza

Tyto žlázy byly pozorovány u všech druhů a kast termitů. Existují dokonce i u vojáků *Nasutitermes*, jejichž čelisti jsou atrofované, a jedinou zbraní jsou sekrety objemné frontální žlázy. Jejich vyústění je na vnější straně těla, a proto se předpokládá, že slouží k vylučování feromonů (Costa-Leonardo a *et al.* 2009), popřípadě k produkci lubrikantů sloužících ochraně mandibulární kloubů (Šobotník & Hubert 2003).

Labrální žláza

Labrální žlázu lze najít u vojáků i dělníků. Vyskytuje se v podobě zesílené vrstvy na ventrální straně labra, ale také ji můžeme nalézt na dorzální straně hypofaryngu. Její pozice naznačuje, že může sloužit k impregnování dolní čelisti a u některých druhů, u kterých vojáci disponují velkými kusadly, může proniknout společně s kusadly, do těla protivníka. Její jasné využití a chemické vlastnosti produkované sekrece jsou však stále blíže nejasné (Deligne *et al.* 1981; Quennedey 1984; Šobotník *et al.* 2010a)

Frontální žláza

Frontální žláza u vojáků je bezpochyby nejčastěji studovaným orgánem u termitů. Reprezentuje apomorfii u nejvíce pokročilých čeledí Rhinotermitidae, Serritermitidae a Termitidae, i když může také být druhotně zmenšená nebo dokonce zcela chybět (Noirot 1969; Prestwich & Collins 1982; Quennedey 1984, Šobotník *et al.* 2010b, Kotalová *et al.* 2013). Její přítomnost u vojáků je notoricky známá, ale existují pouze omezené zprávy o jejím výskytu i u jiných kast: předvoják (Prestwich 1984b; Lelis & Everaerts 1993; Bordereau *et al.*, 1997; Šobotník *et al.*, 2004), imago (Holmgren 1909; Feytaud 1912; Bugnion 1913; Noirot 1969; Šobotník *et al.* 2004; Piskorski *et al.* 2009; Šobotník *et al.* 2010b, Kotalová *et al.* 2013) nebo dělník (Šobotník *et al.* 2010b). Ultrastruktura žlázy byla studována u vojáků téměř všech vývojových linií (viz Quennedey 1984, Costa-Leonarda 1998; Šobotník *et al.* 2010a). Universálním znakem je přítomnost 1. třídy sekrečních buněk (Noirot a Quennedey 1974). Navíc byly v sekrečním epithelu nalezeny buňky 3. třídy u *Coptotermes* a *Heterotermes* (Quennedey 1984; Šobotník *et al.* 2010b). Frontální žlázu tvoří velký nepárový vak ústící frontanelou jedince. Relativní velikost je největší u čeledí Rhinotermitidae a Serritermitidae, u kterých často sahá až hluboko do abdomenu. Sekrece žlázy může sama o sobě představovat až jednu třetinu živé váhy jedince (např. u *Coptotermes*, Waller & La Fage 1987). U čeledi Termitidae se však frontální žláza nachází pouze v hlavě (s několika výjimkami, např. u *Globitermes*, Bordereau *et al.*, 1997; *Dentispicotermes*, Bourguignon a Šobotník nepublikováno), s množstvím sekrece nepřesahujícím jednu desetinu tělesné váhy jedince (Prestwich 1977).

Jednotlivé složky sekrece frontální žlázy mohou vykazovat následující funkce:

(I) lepkavé a znehybňující látky (typicky Nasutitermitinae) způsobující omezení pohybu oponenta, a blokování senzil a průduchů

(II) iritanty vyvolávající svědivost a čistící chování u mravenců, kteří zastaví útok a tráví dlouhé minuty čištěním

(III) repelenty odpuzující nepřátele

(IV) kontaktní jedy jakožto silně reaktivní látky narušující v raně metabolismus nepřítele (typicky Rhinotermitidae)

(V) poplašný (alarm) feromon, který koordinuje obranné činnosti

(viz Deligne *et al.* 1981; Prestwich 1984; Roisin *et al.* 1990).

Sternální žláza

Hlavní funkce žlázy tkví v produkci značkových feromonů, které dělníci využívají ke značení tras mezi hnízdem a potravou. Látky jsou uvolňovány přitlačením zadečku k povrchu, kde jsou zanechávány drobné kapky feromonů. Sternální žláza je nepárový orgán nalézající se u všech kast (Costa-Leonardo 2009), u larev však není funkční (Šobotník & Hubert 2003). Poloha a počet sternálních žláz se liší podle čeledí. U čeledi Mastotermitidae mají jedinci tři sternální žlázy umístěné uprostřed spodní strany třetího, čtvrtého a pátého článku. U všech ostatních druhů je žláza jen jedna a nachází se někdy na spodní přední části čtvrtého článku (podčeledi Stolotermitinae, Archotermopsidae a Hodotermitidae) a někdy i na spodní přední části pátého článku (podčeledi Kalotermitidae, Rhinotermitidae a Termitidae) (Noirot & Noirot-Timothee 1965).

6.3.2. Endokrinní žlázy

Corpora cardiaca

Je umístěná za mozkem ve stěnách aorty. Tvoří jí dvě srdeční těla, která jsou protáhlá od přední k zadní části a mají trojúhelníkové průřezy. Žláza produkuje

neurohormony, které se pak hromadí ve vnitřní části (proti aortě) a mají vliv na sekreci a svlékání (Noirot 1969).

Corpora Allata

Je malý párový orgán, který je obecně kulovitěho tvaru, ale může být i podélně podlouhlý (zejména u vojáků). Nachází se na zádech. Někdy může být vychýlený do stran, ale vždy směřuje dorzálně k jícnu. Když jsou žlázy malé, jádra jsou poměrně pravidelně uspořádána na periférii, a vnitřní částí buňky jsou uspořádány spirálně, když se pak zvětší, jádra se rozptýlí po celé mase. Tato žláza je zodpovědná za hormony řídící ontogenezi a rozmnožování jedince (Noirot 1969).

6.4. Svaly

Termiti mají stejně jako ostatní hmyz příčně pruhovanou svalovinu. Velikost různých svalů se však diametrálně liší podle druhů a kast. Rozdíly jsou výsledkem uzpůsobení jednotlivých kast svým daným úkolům a zároveň i způsobu získávání potravy či obrany hnízda u jednotlivých druhů a kast.

Svaly v hlavě:

Mandibulární svaly

Nacházejí se v zadní části hlavové kapsule. Tyto svaly slouží jako flexor pro ovládání mandibul (kusadel). Jejich velikost je rozdílná u dělníka i u vojáka. Zatímco u dělníka jsou relativně menší, vyplňují okolo poloviny objemu hlavové kapsule vojáka, což je dáno nutností ovládání mandibul jako největší zbraně. Jejich pomocí jsou schopni způsobit značná poranění, která jsou v kombinaci se sekrecí některých žláz smrtelnou zbraní (Bignell 2011). Z mandibulárních svalů je veden svalový tendon, pomocí kterého se přenáší svalový pohyb na bázi kusadla. Další svalové skupiny v hlavě jsou poměrně malé ve srovnání s mandibulárními svaly.

Svaly v thoraxu a abdomenu:

Inter segmentální svaly

Upínají se přes jednotlivé články skrz celé tělo a slouží k několika účelům. Hlavní využití je při dýchání. Za jejich pomoci termit vytlačí najednou veškerý vzduch ze

vzdušnic zatažením zadečku do těla a následně roztažením znovu načerpá maximální objem. Další využití těchto svalů může být například u dělníků při vytlačování sekretů z exokrinních žláz pomocí zvýšení vnitřního tlaku v těle.

Létací svaly

Tyto svaly se dají pozorovat u královského páru, dospělců určených k rozmnožování a u některých stádií nymf. Tito jedinci jsou jediná, kteří během svého života disponují křídly, popřípadě k tomu mají předpoklady. U mnou porovnávaných kast však tyto svaly nenalezneme, proto se zde jimi dále nezabývám (Bignell 2011).

Pohybové svaly

Sem řadíme série svalů ovládající pohyby nohou či hlavy apod. Termiti jsou přizpůsobeni pohybu pod zemí a jejich končetiny a tělo jsou k tomu speciálně tvarované. Stejně tak tomu odpovídá i svalová stavba. Termiti mají 3 páry nohou připojených k thoraxu, které jsou umístěných blízko u sebe. Jeden segment thoraxu na pár (Chapman *et al.* 2013). To umožňuje vysokou koncentraci pohybových svalů v thoraxu a jejich lepší ovladatelnost a efektivnost. Pohyb je prováděn za stálého kontaktu se zemí, kdy jsou vždy 3 nohy v kontaktu s podkladem, což dává jedinci velkou stabilitu (Gullan & Crantson 2014).

6.5. Oběhový systém

Tělní tekutina (*hemolymfa*) volně cirkuluje kolem vnitřních orgánů (otevřená cévní soustava). Hlavním pulsujícím orgánem je dorzální céva, která je tvořena jednou vrstvou plochých myokardiálních buněk. Anteriorní trubicovitá část dorzální cévy je nazývána aorta, typicky je pouze v hlavě, ústí u mozku a nemá žádné otvory (*ostie*). Posteriořním úsekem dorzální cévy je komůrkovité srdce, které může mít až dvanáct párů ostií (tři thorakální a devět abdominálních). Má kruhový průřez a je uchyceno ke kutikule pomocí alárních svalů. Ostie jsou uspořádány segmentálně na každém článku a čerpají do srdce hemolymfy. Tok hemolymfy do srdce je usměrňován chlopněmi v ostiích, které typicky umožňují pouze jednosměrné proudění (Šobotník 2003).

Nefrocyty

Jejich úkolem je filtrovat hemolymfu a zachycovat především koloidní částice, které nelze vyloučit malpighickými trubicemi. Nasedají přímo na srdce v přední části těla (Šobotník 2003).

6.6. Tukové těleso

Tukové těleso hraje zásadní roli při skladování energie a jejím pozdějším využití. Energie je uskladněna v podobě triglyceridů, glykogenu a proteinových (hexamerinových) biokrystalů. Kromě toho je to orgán velké biosyntetické a metabolické aktivity (Law, Wells 2010). Tukové těleso nejen řídí syntézu a využití energetických zásob tuku a glykogenu, ale také syntézu většiny hemolymfových proteinů a cirkulujících metabolitů. Většina z intermediárního metabolismu hmyzu se odehrává v tomto orgánu, včetně metabolismu lipidů, dusíku, sacharidů (Arrese, Soulages 2010).

6.7. Gonády

Reprodukční systém samic termitů zahrnuje vaječníky, které se skládají z vaječnicků připojených k párovému vejcovodu. Vaječníky leží po obou stranách trávicí soustavy v dorzolaterální části abdomenu. U mladých imag primitivních druhů, zabírají pouze posterolaterální část abdomenu. U královen a imag čeledi Termitidae se vaječníky mohou několika násobně zvětšit po celé délce a výrazně tak roztáhnout abdome. Pravý i levý vaječník směřují téměř kolmo k trávicí trubici. Z nich vedou vejcovody těsně podél trávicí trubice a spojují se v krátký společný vejcovod zhruba na úrovni předního okraje sedmého sternitu. Společný vejcovod následně ústí do přední stěny genitální komory (Weesner 1969).

Primární struktury reprodukčního systému u samců jsou párová varlata ležící na obou stranách trávicí trubice v zadní části abdomenu. Z každého varlete vychází chámovod, který sestupuje ve svislém směru a ústí do společné ejakulační trubice. Semenné vajíčky jsou přítomny u nižších termitů, ale zdá se, že chybí u čeledi Termitidae (Weesner 1969).

6.8. Dýchací systém

U hmyzu probíhá dýchání přímou výměnou plynů mezi tkání a vzduchem pomocí tracheálního systému. Termiti disponují otevřeným tracheálním systémem. Základní plán dýchací soustavy zahrnuje průduchy (*spirakula*), vzdušnice (*tracheje*) a *tracheoly*. *Spirakulem* je do těla přiváděn kyslík a odváděn je oxid uhličitý, ale i voda, proto termiti optimalizují dobu otevření spirakul tak, aby získaly dostatek kyslíku bez přílišné ztráty vody. *Tracheoly* jsou terminálními větvemi trachejí. Jsou rozvětvené, vnitrobuněčné, tvořené specializovanými buňkami, *tracheoblasty* (Šobotník 2003).

7. Metodika

Ve své práci jsem pracoval s pryskyřicovými řezy, které jsem řezal pomocí klasického mikrotomu. Bohužel pro řezání na skleněném ostří je nezbytné předem odstranit střevo jedince, aby se zabránilo poškozování ostří. Níže je proto vložen obrázek histologického řezu tělem dělníka, na kterém je jasně patrné střevo plné hlíny.

7.1. Vybavení pro tvorbu vzorků

K řezání pryskyřice byl použit mikrotom Reichert-Jung a skleněné nože. Vzorky byly umístěovány na sklíčka, která bylo nezbytné předem očistit pomocí 80% etanol a vatových tampónů. Pro přemístěování vzorků z mikrotomu na sklíčka byla užita skleněná tyčka s kuličkou na konci. Dále byla nezbytná plotýnka pro zahřívání sklíček, na které se sušili vzorky. Na úpravu tvaru pryskyřice byly použity žiletky. Pro dávkování 10% roztoku acetonu jsem užíval pipety a injekční stříkačku s jehlou. Pro barvení bylo použito modré barvivo, pipety a k jeho splachování byla nezbytná destilovaná voda. K pozorování jsem užil optický mikroskop Nikon Eclipse Ei.

7.2. Příprava chemikálií

Acetonový roztok: k přípravě roztoku využijeme odměrný válec. Roztok získáme smícháním koncentrovaného acetonu (99,8%) a destilované vody. Pro běžné užití se využívá 10% směs, která se ukázala i pro moji práci jako dostatečně silná. Pokud by se vzorky dostatečně nenapínaly na sklíčku, bylo by nezbytné namíchat silnější koncentraci např. 20% roztok acetonu ve vodě.

Modré barvivo (azur 2): nejprve se připraví 1% roztok boraxu (tetraboritan sodný). Následně se odměří 99 ml roztoku a do něho se přidá 1 g azuru 2.

7.3. Příprava vzorků, fixace a vymývání vzorků

Vzorky bylo před fixací nezbytné upravit. Jelikož je druh *Embiratermes neotenicus* především hlínožravý termít, bylo před fixací nutné z jeho těla odstranit střevo se zbytky potravy, aby se zabránilo poškození ostří skleněného nože kamínky obsaženými ve střevě. Odstraňování je velice citlivá záležitost s důrazem na detailní odebrání veškerých částí střeva.



Obr. 6. Histologický řez tělem dělníka *Embiratermes neotenicus*. Na obrázku je jasně patrné střevo plné hlíny. (ze sbírky Jana Šobotníka)

Fixace vzorků a jejich vymývání: Nejprve byla provedena fixace dělníka. Jedinec byl zaživa umístěn do kapky primární fixáže, kterou tvořil kakodylátový pufr (0.2M kakodylát sodný ve vodě, pH 7.1), 8% glutaraldehydem a destilovanou vodou v poměru 5:3:2. Následně byl rozříznut na dvě části, hlavu (kusadla opatrně odstraněna) a zbytek těla (nohy odstraněny od kyčle níže). Samotná fixace vzorku trvala 28 hodin a následně byla fixáž nahrazena promývacím pufrem. Složení vypíracího pufru je kakodylátový pufr (0.2M kakodylát sodný ve vodě, pH 7.1) a roztok glukózy [2.7g v 50 ml vody] v poměru 1:1. Vypírací pufr bylo nutné obměňovat novým roztokem každých 10 až 14 dní do úplného pročištění. Během procesu bylo nezbytné vzorky skladovat v ledničce.

Následná fixace: Byla provedena pomocí roztoku 3% oxidu osmičelého a 0.2M kakodylátu sodného v poměru 1:1 po dobu dvou hodin.

Promývání destilovanou vodou: Po fixaci bylo nezbytné vzorky třikrát promýt destilovanou vodou v intervalech po dvaceti minutách.

Dehydratace: Byla provedena postupným zvyšováním koncentrace roztoku acetonu, až na čistý 100% koncentrát. Intervaly pro jednotlivé koncentrace byly: 30% roztok acetonu po dobu dvaceti minut, 50% po dobu dvaceti minut, 70% po dobu třiceti minut, 80% po dobu třiceti minut, 90% po dobu dvaceti pěti minut, 95% po dobu třiceti pěti minut a na závěr byly nechány vzorky ve 100% acetonu po dobu sedmnácti hodin v lednici.

Prosyčení pryskyřicí: Provádí se pomocí postupného zvyšování koncentrace Spurr pryskyřice (standardní směs) v acetonu. Nejprve jsou vzorky uloženy po dobu jedné hodiny v roztoku pryskyřice Spurr a acetonu v poměru 1:2, následně je upravena koncentrace do poměru 1:1 na dobu jedné hodiny a na závěr se zvýší koncentrace Spurr v poměru 2:1 znovu na dobu jedné hodiny. Poté se vzorek nechá dvacet hodin při teplotě 4 ° C v čisté Spurr pryskyřici.

Polymerizace: Poslední krok fixace se a provádí se při 70°C v peci po dobu osmi hodin.

7.4. Řezání vzorků

Vzorek bylo nezbytné před zahájením řezání upravit. Pryskyřice se upevnila do jednoho z nástavců mikrotomu, který se vložil pod optiku mikrotomu a pomocí ostří žiletky se odstranila přebytečná pryskyřice v okolí fixovaného vzorku tak, aby vznikla pokud možno co nejmenší řezná plocha. Vzorek tak získal seřezáváním přebytečného materiálu tvar pyramidy. To vedlo ke zmenšení tlaku na nůž, díky čemuž se vzorky nemačkaly a bylo možné lépe posunovat vzorek po ostří tak, aby byla řezná hrana co nejostřejší. Pokud se ostří neposunovalo dostatečně často, nebo se nevyměňoval pravidelně nůž, docházelo k poškození řezů poškrábáním a tím pádem k jejich definitivnímu znehodnocení.

Po úpravách a očištění se upevnil vzorek do hlavy kyvadla mikrotomu a na místo předchozí nástavce určeného k úpravě vzorku, se upevnil nástavec na skleněný nůž s prostorem naplněným 10% acetonovým roztokem. Následně mohlo být zahájeno řezání vzorku na tloušťku řezů 0.5 μm. Řezy po odříznutí sklouzávaly z ostří do

prostoru s acetonovým roztokem, kde po zbežném prohlédnutí byly nekvalitní vzorky odstraňovány a kvalitní namotávány pomocí skleněné kuličky na tyčince a přemísťovány na skleněná sklíčka. Tato sklíčka bylo nejprve nezbytné odmastit pomocí etanolu a poté na ně byly nanесeny kapky acetonového roztoku. Ty tvořili jednotlivé sekce po 20 nebo po 30 řezech.

Dále byla jednotlivá sklíčka očíslována kódem, který se skládal z čísla vzorku (např. 120/15), označení konce, ze kterého byly dané vzorky odříznuty (a či b) a dále čísla, které označovalo pořadí sklíčka a za lomítkem písmeno a, b či c podle počtu sekcí, které byly na sklíčku vytvořeny. Číselný kód poté vypadal například takto 120/15a,7/a, b, c.

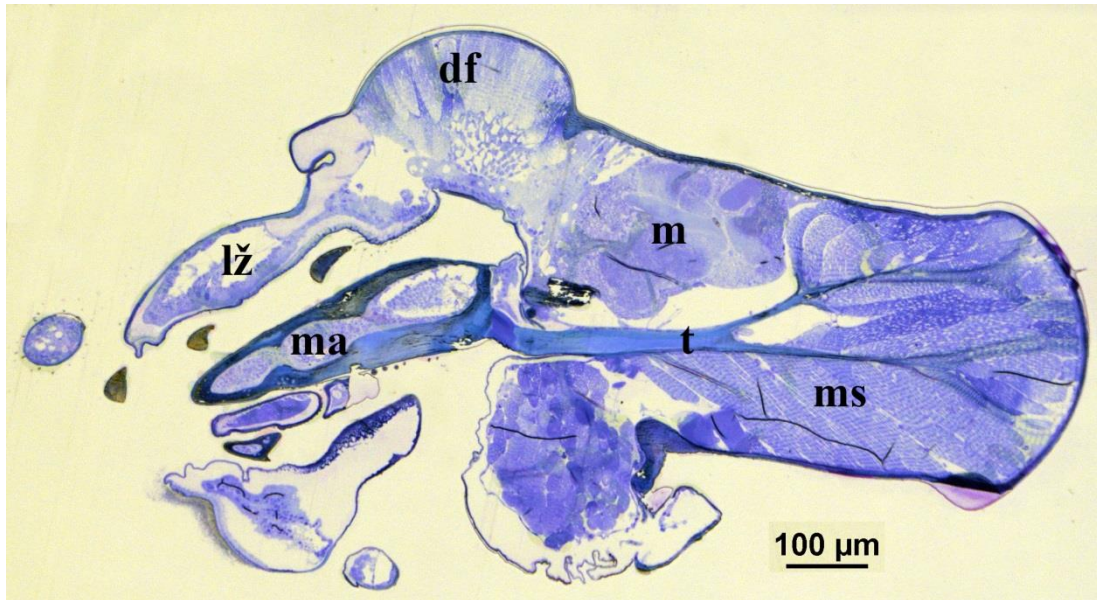
Poté bylo sklíčko přemístěno na plotýnku rozehrátou na 60°C. Po zaschnutí roztoku byly jednotlivé řezy přilepeny ke sklíčku.

Následně se jednotlivé sekce zakáplí barvivem Azur II a přemístili zpět na plotýnku na cca 1,5 minuty. Po uplynutí určené doby se sklíčko sundá z plotýnky a opláchně se od barviva destilovanou vodou. Vrátime vzorky zpět na plotýnku a již je necháme jen oschnout a poté jsou připravené pro pozorování optickým mikroskopem Nikon Eclipse *Ei*.

8. Vlastní pozorování

8.1. Dělník

Hlava



Obr. 7. Řez hlavou dělníka *Embiratermes neotenicus*: df-dilatátor faryngu, lž-labrální žláza (labrum), ma-mandibula, m-mozek, ms-mandibulární svaly, t-tendon,

Hlavová kapsule má oválný tvar. Šířka hlavové kapsule (podle fotografií) je cca 1150 μm a 630 μm na výšku. Na řezech je dobře patrná kutikula. Jedinec má dobře vyvinuté kousací ústrojí s vcelku mohutnými mandibulami. Stejně tak jsou dobře pozorovatelné svaly. Zadní část hlavové kapsule vyplňují mandibulární svaly, které slouží jako flexor pro ovládání mandibul. Z mandibulárních svalů je také dobře vidět svalový tendon vedoucí k mandibulám. Stejně tak jsou vidět i svaly dilatátory faryngu, které fungují jako extensor umožňující polykání potravy. Dále jsou dobře pozorovatelné svaly vyplňující labium a série svalů sloužících pro ovládání pohybů hlavy. Na některých okrajových řezech jsou pak pozorovatelné antenální svaly a nervy vyplňující tykadla. V celé hlavové kapsuli můžeme pozorovat nerovnoměrně rozptýlené tukové těleso a vzdušnice.

Mozek dělníka má typické umístění ve vrchní části střední hlavové kapsule. Pod mozkem se pak nachází suboesofageální ganglium, které je s mozkem spojeno

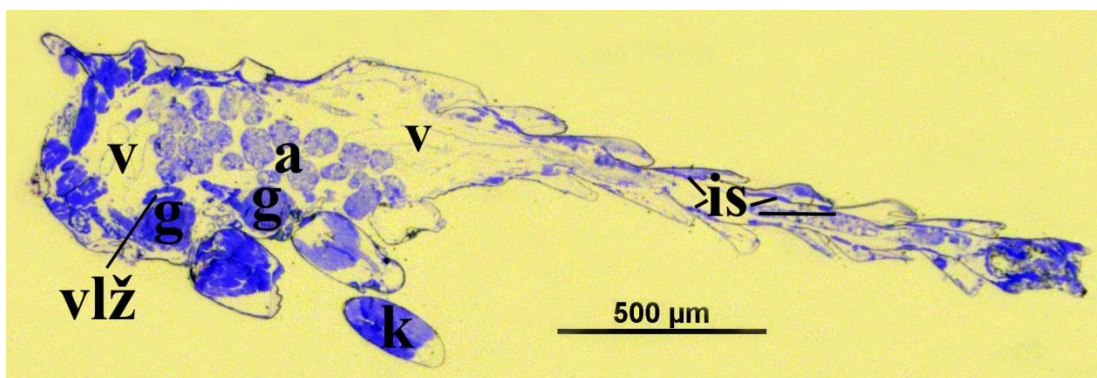
pomocí paroesofageálních konektiv. Za mozkem se nalézá frontální žláza. Její velikost změřena v maximu je $2090 \mu\text{m}^2$.

Labrální žláza je u dělníka umístěna především ve spodní části labra. Část jí je však i ve svrchní části hypofaryngu. Její plocha je $16\,716 \mu\text{m}^2$.

Mandibulární žláza se nachází u dorzální artikulace mandibuly. Velikost řezu v nejširším místě je $4614 \mu\text{m}^2$.

U některých řezů můžeme ve spodní části hlavy pozorovat vývod labiální žlázy. Tato žláza je podobná vzdušnicím. Dá se však snadno odlišit, neboť její stěna je oproti vzdušnicím několikanásobně ztlustělá.

Thorax a abdomen



Obr. 8. Řez tělem dělníka *Embiratermes notenicus*: a-acini labiální žlázy, g-ganglia, is-intersegmentální svaly, k-koxa (kyčel), vlž-vývod labiální žlázy, v-vzdušnice

Na řezech je patrná kutikula a snadno jdou rozeznat jednotlivé abdominální články. Mezi články lze pozorovat intersegmentální svaly a zároveň lze v hrudi vidět svaly, které jsou napojené na končetiny. Stejně jako v hlavě zabírá velkou část tukové těleso.

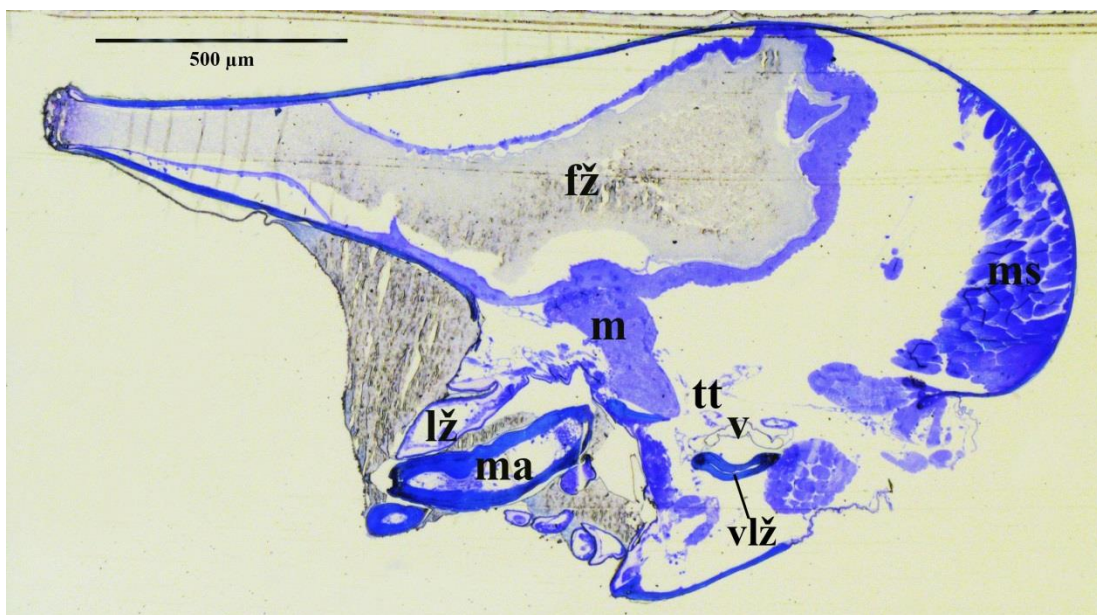
Největší objem těla termita tvoří trávicí ústrojí. *Embiratermes notenicus* je však hlínožravý termít a tudíž bylo nezbytné odstranit trávicí ústrojí před fixací vzorků, jinak by při krájení docházelo k poničení skleněného ostří. Proto bohužel střevo na pryskyřicových řezech chybí.

V oblasti okolo trávicí trubice se rozkládají *acini* labiální žlázy. Měřená hodnota velikosti *acinu* je uváděna jako průměr, který byl získán změřením velikosti 54 *acinuů*. Toto měření je provedeno v několika řezech, kde se dal pozorovat velký počet těchto žláz a výsledek byl pak zprůměrován. Takto byla získána průměrná velikost jednoho *acinu*, tedy $3150 \mu\text{m}^2$. Na řezech lze také pozorovat vývod labiální žlázy v podobě duté tlustostěnné trubice.

Sternální žláza u druhu *Embriatermes* se nachází na ventrální části pátého abdominálního článku poblíž čtvrtého ganglia. Její velikost jsem v oblasti největšího řezu naměřil $2438 \mu\text{m}^2$.

Na ventru těla se rovněž nachází série ganglií (3 hrudní a 6 abdominálních).

8.2. Voják



Obr. 9. Řez hlavou vojáka *Embriatermes neotenicus*: fž-frontální žláza, lž-labrální žláza (labrum), ma-mandibula, m-mozek, ms-mandibulární svaly, tt-tukové těleso, vlž-vývod labiální žlázy, v-vzdušnice

Hlava

Velikost hlavy (podle fotografií) je přibližně $2050 \mu\text{m}$ na šířku a $1170 \mu\text{m}$ na výšku. V zadní části hlavy se rozkládají mandibulární svaly. Jejich velikost je však relativně malá a vyplňují především laterální prostory hlavové kapsule. Ve spodní části se

znovu vyskytují svaly pohybující hlavou. V hlavě jsem zaznamenal také buňky tukového tělesa a vzdušnice.

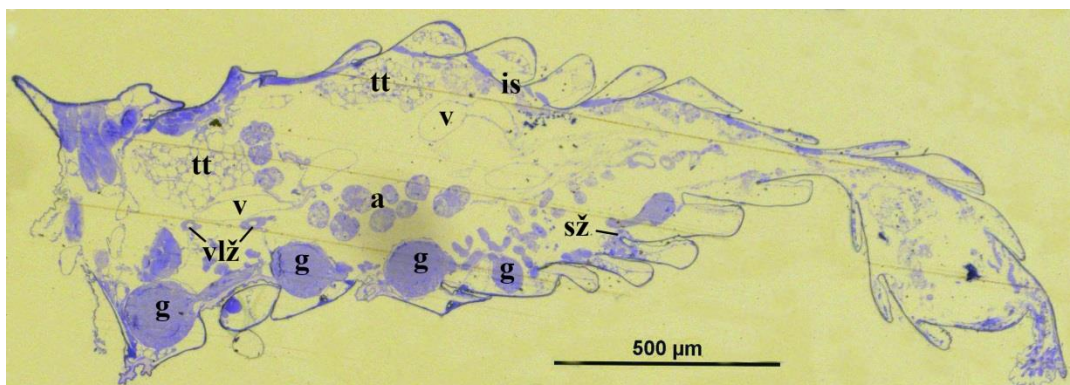
Mozek vojáka je umístěn nestandardně v centrální části přední poloviny hlavy, poblíž ústního otvoru, hned pod frontální žlázou. Tato pozice je zapříčiněna vývojem ohromné frontální žlázy, která zatlačila mozek níže do blízkosti tentoria. Stejně tak jako umístění i velikost mozku je značně ovlivněna frontální žlázou. Mozek, stejně jako suboesofageální ganglium, je vzhledem k velikosti hlavy relativně menší ve srovnání s dělníkem.

Frontální žláza je u vojáků rodu *Embriatermes*, až giganticky zvětšená. Zabírá velkou část objemu hlavové kapsule a je snadno rozeznatelná. Její velikost jsem v místě největšího řezu naměřil 432 569 μm^2 .

Labrální žláza byla u vojáka zaznamenána pouze v labru a její maximální plocha dosáhla 11 707 μm^2 .

Kusadla vojáka jsou větší a velikost mandibulární žlázy byla v nejširším místě 1116 μm^2 .

Thorax a abdomen



Obr. 10. Řez tělem vojáka *Embriatermes neotenicus*: a - acini labiální žlázy, g - ganglia nervové pásky, is - intersegmentální svaly, sž - sternální žláza, tt - tukové těleso, v - vzdušnice, vlž - vývod labiální žlázy

Uvnitř jednotlivých článků jsou dobře pozorovatelná segmentální ganglia a intersegmentální svaly. Jejich velikost, počet i tvar odpovídají normálu a jsou srovnatelná s ganglii pozorovanými u dělníka. Uvnitř thoraxu a abdomenu je nerovnoměrně rozptýleno tukové těleso a vzdušnice.

Labiální žláza se vyskytuje i u vojáka. Umístění i tvar žlázy byl u vojáka stejný jako u dělníka. Rozdíl však byl v počtu a velikosti shluků. Po stejném postupu změření 64 *acinů* jsem došel k průměrné hodnotě plochy řezu *acinem* $3650 \mu\text{m}^2$. Na obrázku je také patrný vývod labiální žlázy.

Umístění sternální žlázy je u vojáka stejné jako u dělníka, na pátém článku poblíž čtvrtého ganglia. Velikost této žlázy je $2587 \mu\text{m}^2$.

9. Diskuze

Termiti jsou nejstarší eusociální skupinou hmyzu (Bourguignon et al. 2015). Jsou rozšířeni v tropických a subtropických pásech a zatím jich bylo popsáno na 3000 různých druhů (Krishna et al. 2013). Jsou blízkými příbuznými švábů a nejdůležitějšími dekompozitory rostlinných pletiv v oblasti jejich výskytu. Pro svoje porovnání jsem si zvolil druh *Embiratermes neotenicus*, který je zajímavý svými obrannými mechanismy. Tento druh spadá do podčeledi Syntermitinae, která se řadí do čeledě Termitidae.

Rozdíl ve velikosti hlavové kapsule u dělníka a vojáka je jednoznačně patrný. U dělníka je vidět dobře vyvinuté kousací ústní ústrojí, zatímco u vojáka je v důsledku speciálního obranného zaměření ústní ústrojí přizpůsobeno hlavně zvětšením kusadel a rozvoji obranných žláz, především frontální. S tím je spojena i velikost mandibulárních a dalších svalů sloužících k ovládnutí kousacího ústrojí. Ty jsou znatelně větší u dělníka, který je potřebuje k rozmělnění potravy. U vojáka došlo ke zmenšení mandibulárních svalů a modifikaci kusadel. Kusadla směřují špičkami proti sobě tak, aby mohl, bez vyvinutí větší síly, propichovat těla nepřátel. Uvolněný prostor po svalech tak mohla vyplnit frontální žláza.

Mozek dělníka je dle relativního pozorování téměř dvakrát větší než u vojáka. Hlavním důvodem tohoto rozdílu bude zařazení do jednotlivých kast, kdy u vojáků je kvůli obraně vyvinutá ohromná frontální žláza, zabírající velké procento objemu hlavy na úkor ostatních orgánů a svalů.

Labrální žláza dosahuje většího objemu u dělníka. To je zapříčiněno především velikostí ústního ústrojí a dobře vyvinutého horního pysku. Proto se nezdá být pravděpodobná obranná funkce jak spekulováno v literatuře (Quennedey 1984; Deligne et al. 1981). Pravděpodobnější se jeví možnost použití labrální žlázy ke komunikačním účelům (viz. Palma Onetto et al. 2016).

Mandibulární žláza je v důsledku malého využití mandibul u vojáka menší. Nejspíše je to rovněž zapříčiněno tím, že u dělníků jsou mandibulární žlázy nezbytné k lubrikaci mandibulárních kloubů, což brání jejich rychlému opotřebení. Vojáci rodu *Embiratermes* mají sice kusadla větší velikosti, ale frekvence jejich použití je

menší. Proto není u vojáka tak nezbytná lubrikace mandibulárních kloubů, jako je tomu u dělníka. Voják mandibuly využívá pouze k obraně a díky tomu nejsou klouby tolik vytížené.

Frontální žláza je u vojáků největším orgánem hlavy. Dle měřených hodnot dosahuje více jak 200 násobku velikosti žlázy dělníka. Svou velikostí má značný vliv na rozvoj dalších orgánů hlavy. Její velikost je spojená s obranným posláním vojáka.

Acini labiální žlázy jsou dobře patrné u obou kast. Na základě měření je však vidět, že labiální žláza je u vojáka větší, což je nejspíš spojeno s jejím využitím. Tato žláza slouží dělníkům k několika různým činnostem zatím, co u vojáků slouží k obraně. Dělníci zde produkují trávicí enzymy, cement na stavbu hnízda, feromony a slouží také k tvorbě hmoty, kterou jsou krmeny závislé kasty. U vojáků žláza produkuje obrané látky, které voják uvolňuje poté, co uchopí nepřítele do mohutných kusadel. Velikost je ovlivněna u vojáka nezbytností velkého množství sekrece najednou.

Velikost sternální žlázy je téměř totožná u dělníka i vojáka. Sternální žláza slouží jedincům k vylučování stopovacího feromonu. Jedinci tak značí cestu k potravě, popřípadě vyznačují cestu k místu kontaktu s vetřelcem. Tato žláza je využívána jak dělníky, tak vojáky a proto nejspíš není rozdíl ve velikosti žlázy mezi kastami nijak patrný.

10.Souhrn

Během své práce jsem získal obecný přehled o vnitřní anatomii termitů a naučil jsem se potřebné laboratorní postupy pro práci s mikrotomem a optickým mikroskopem. Z pozorování, která jsem provedl, je jasně viditelné, že vnitřní uspořádání orgánů a jejich velikost je u vojáka a dělníka do značné míry odlišná. Zjistil jsem, že u vojáka díky vývoji kusadel propichovacího tvaru, mohl být zredukován prostor pro mandibulární svaly a frontální žláza tak mohla expandovat. Také mozek vojáka byl znatelně menší v porovnání s mozkem dělníka.

U žláz sloužících k produkci obraných sekretů u vojáka byly možné pozorovat často i mnohonásobné zvětší než u žláz dělníka. Naopak žlázy sloužící stejnému účelu u vojáka i dělníka mají shodné umístění i rozsah. V porovnání s dělníkem jsou tak dobře patrné změny, kterými musí voják při ontogenezi procházet. Z toho vyplývá, že zařazení jedince do kasty má vysoký vliv na vnitřní anatomii a znatelně ovlivní vývoj jednotlivých orgánů.

Dané téma mě velice zaujalo a v budoucnu bych rád pokračoval se svým výzkumem i u pohlavně aktivních jedinců a nymf druhu *Embitermes neotenicus*. Rád bych zkoumal další exokrinní žlázy, které se u sterilních kast nevyskytují a také chci provést bližší zkoumání pohlavních orgánů a jejich vývoj při ontogenezi.

11.Citace

- Arrese E.L. & Soulages J.L. 2010: Insect fat body: Energy, metabolism, and regulation. *Annu. Rev. Entomol.* **55**: 207-225.
- Bignell D.E., Roisin Y. & Lo N. 2011: *Biology of Termites: A Modern Synthesis*. New York: Springer, 576 pp.
- Billen J., Joye L. & Leuthold R.H. 1989: Fine structure of the labial gland in *Macrotermes bellicosus* (Isoptera, Termitidae). *Acta Zool.* **70**: 37-45.
- Bordereau C., Robert A., Van Tuyen V. & Peppuy A., 1997. Suicidal defensive behaviour by frontal gland dehiscence in *Globitermess ulphureus* Haviland soldiers (Isoptera). *Insec. Soc.* **44**, 289–297.
- Bouillon A. 1970 In: Krishna K. & Weesner F.M. (eds): *Biology of Termites*, vol.2. 154 pp. *Academic Press*, London
- Brossut R., 1973 Evolution du systeme glandulaire exocrine cephalique des blattaria et des isoptera. *International Journal of Insect Morphology and Embryology* **2**(1), 35-54
- Bugnion E. 1913. Le Termes horni Wasm. de Ceylan. *Revue Suisse de Zoologie* **21**, 299–330 pp.
- Castle G.B. 1934. An experimental investigation of caste differentiation in *Zootermopsis angusticollis*. *Termites and Termite Control* 2nd ed., pp. 292-310. Univ. of California Press, Berkeley, California
- Chapman R., Stephen J. & Douglas A. (eds.) 2013. *The insects: structure and function*. Fifth edition. New York: *Cambridge University Press*
- Cornette R., Hayashi Y., Koshikawa S. & Miura T. 2013. Differential gene expression in response to juvenile hormone analog treatment in the damp-wood termite *Hodotermopsis sjostedti* (Isoptera, Archotermopsidae). *Journal of Insect Physiology*, **59**(4), 509-518 pp.
- Costa-leonardo A.M. & Haifig I. 2010. MRT letter: A novel tegumental gland in female imagoes of the neotropical termite *Cornitermes cumulans* (Isoptera, termitidae, syntermitinae). *Microscopy Research and Technique* , **73**(11), 1005-1008pp.
- Costa-Leonardo A.M., 1998. The frontal weapon of the termite soldier *Serritermes serrifer* (Isoptera, Serritermitidae). *Cie`ncia e Cultura* **50**, 65–67 pp.
- Costa-Leonardo A.M., Caarin F.E. & Lima J.T., 2009. Chemical communication in Isoptera. *Neotropical Entomology* **38**, 1–6 pp.
- Davies R.G., Eggleton P. & Jones D.T. et al., 2003. Evolution of termite functional diversity: analysis and synthesis of local ecological and regional influences on local species richness. *J Biogeogr* **30**:847–877 pp.

- Deligne J., Quennedey A. & Blum M.S., 1981. The enemies and defense mechanisms of termites. In: Hermann, H.R. (Ed.), *Social Insects*, vol. II. *Academic Press*, New York, 1–76 pp.
- Engel M. S., Grimaldi D.A. & Krishna K., 2009. Termites (Isoptera): Their Phylogeny, Classification, and Rise to Ecological Dominance. *American Museum Novitates*, **3650**, 1-27 pp
- Feytaud J., 1912. Contribution a l'etudedu Termitelucifuge (Anatomie, Fondation de coloniesnouvelles). *Archivesd'anatomie Microscopique et de Morphologie Expe'rimmentale* **13**, 481–607 pp.
- Fujita A., Miura T. & Matsumoto T., 2008. Differences in cellulose digestive systems among castes in two termite lineages. *Physiological Entomology* **33**, 73–82 pp.
- Gaston R. 1969 In: Krishna K., Weesner F. M. (eds.): *Biology of Termites*, vol.1. *Academic Press*, New York, 163 pp.
- Gay F.J. & Callaby J.H., 1970. In: Krishna K., Weesner F.M. (eds.): *Biology of Termites*, vol.2. *Academic Press*, London 393pp.
- Gonçalves T. T., Desouza O. & Billen J., 2010. A novel exocrine structure of the bicellular unit type in the thorax of termites. *Acta Zoologica* **91**(2), 193-198 pp.
- Grasse' P.P., 1982. *Termitologia: Anatomie-Physiologie-Reproduction des Termites*. 1st edn. *Tome I. Masson*, Paris.
- Gullan P. & Cranston P., 2014. *The insects: an outline of entomology*. Fifth edition. Chichester, West Sussex: John Wiley & Sons, Inc.
- Hanus R. & Šobotník J. 2003 Ontogeneze termitů (Isoptera) v kontextu ekologických strategií. Přf UK, Praha 1-58 pp.
- Hanus, R., Luxová A., Šobotník J., Kalinová B., Jiroš P., Křeček J., Bourguignon T. & Bordereau C. 2009. Sexual communication in the termite *Prorhinotermes simplex* (Isoptera, Rhinotermitidae) mediated by a pheromone from female tergal glands. *Insectes Sociaux*, **56**(2), 111-118 pp.
- Hecker H. 1966. Das Zentralnerven system des Kopfes und seine postembryonale Entwicklung bei *Bellicositermes bellicosus* (Smeath.) (Isoptera.). *Acta Tropica*. – **23**(4), 297-352 pp.
- Holmgren, N., 1909. Termitenstudien. I. Anatomische Untersuchungen. *Kungliga Svenska Vetenskaps akademien Handlingar* 44, 31–215 pp.
- Inward D., Beccaloni G. & Eggleton P. 2007. Death of an order: a comprehensive molecular phylogenetic study confirms that termites are eusocial cockroaches. *Biology Letters*, **3**(3), 331-335 pp.

- Jeschke J.M. & Tollrian R., 2007. Prey swarming: which predators become confused and why? *Anim. Behav.* **74**:387–393 pp.
- Jones S.C., La Fage J.P. & Howard R.W. 1988. *Sociobiology* **14**:89-156 pp.
- Kambhampati S. & Eggleton P. 2010. Taxonomy and Phylogeny of Termites. Termites: Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology. *Dordrecht: Springer Netherlands*, 1-23 pp.
- Korb J. & Aanen D.K. 2003. The evolution of uniparental transmission of fungal symbionts in fungus-growing termites (Macrotermitinae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **53**(2):65-71 pp.
- Krishna K., Grimaldi D. A., Krishna D. A. & Engel M.S. 2013. Treatise on the Isoptera of the World. *Bulletin of the American Museum of Natural History*. 2013, **377**(7), 1-200 pp.
- Krishna K.. 1969. Biology of termites. S.I.: *Academic Press*, New York, 597 pp.
- Křížková, B., Bourguignon T., Vytisková B. & Šobotník J., 2014. The clypeal gland: A new exocrine gland in termite imagoes (Isoptera). *Arthropod Structure*. **43**(6), 537-542 pp.
- Kutalová, K., Bourguignon T., Sillam-dussès D., Hanus R., Roisin Y. & Šobotník J., 2013. Armed reproductives: Evolution of the frontal gland in imagoes of Termitidae. *Arthropod Structure & Development* **42**(4), 339-348 pp.
- Law J.H. & Wells M.A., 2010. Insects as biochemical models. *J BiolChem.* 1989; **264**:16335–16338 pp.
- Legendre F., Whiting M. F., Bordereau Ch., Canello E. M., Evans T. A. & Grandcolas P., 2008. The phylogeny of termites (Dictyoptera: Isoptera) based on mitochondrial and nuclear markers. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. **48**(2), 615-627 pp.
- Lelis A.T. & Everaerts C., 1993. Effects of juvenile hormone analog upon soldier differentiation in the termite *Reticulitermes antonensis* (Rhinotermitidae: Heterotermitinae). *Journal of Morphology* **217**, 239–261pp.
- Light S. F. 1942-1943. The determination of castes of social insects. *Quart. Rev. Biol.* **17**:312-326 pp; **18**:46-63 pp.
- Light, S. F. 1944. Experimental Studies on Ectohormonal Control of the Development of Supplementary Reproductives in the Termite Genus *Zootermopsis* (Formerly *Termopsis*). University of California *Publications in Zoology*, **43** (17).
- Lüscher M. 1952. New evidence for anectohormonal control of caste determination in termites. *Trans. 9th Intern. Congr. Entmol.*. Amsterdam, Vol. 1, 289-294 pp.
- Lüscher M. 1961. Social control of polymorphism in Termites. In *Insect Polymorphism* (ed. Kennedy J. S.), 57-67 pp.
- Lüscher, M. 1960, Hormonal control of caste differentiation in termites. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **89**: 549–563 pp.

- Martius C., Bandeira A. G. & Da Silva Medeiros L. G. 1996. Variation in termite alates warming in rainforests of central Amazonia. *Ecotropica*, **2**, 1-11 pp.
- Myles T.G. 1999. Review of secondary reproduction in termites (Insecta: Isoptera) with comments on its role in termite ecology and social evolution. *Sociobiology* **33**(1): 1-44 pp.
- Noirot C. & Noirot-Timotheé 1965. La glande sternale dans l'évolution des Termites. *Insectes Sociaux* **12**, 265-272 pp.
- Noirot C. & Quennedey A., 1974. Fine structure of insect epidermal glands. *Annual Review of Entomology* **19**, 61–80 pp.
- Noirot C. 2001. The gut of termites (Isoptera). Comparative anatomy, systematics, phylogeny. II. Higher termites (Termitidae). *Ann. Soc. Entomol. Fr.* **37**:431–471pp.
- Noirot C., 1969. Glands and secretions. In: Krishna K., Weesner F.M. (Eds.), *Biology of Termites*, vol. I. *Academic Press*, New York, 89–123 pp.
- Ohkuma M. & Brune A. 2011: Diversity, structure, and evolution of the termite gut microbial community. In: *Biology of termites: A modern synthesis*. Springer: 413-438 pp.
- Palma-Onetto V., Hošková K., Křížková B., Krejčířová R., Bubeníčková F., Pfliegerová J., Sillam-Dussès D. & Šobotník J 2016. Labral gland in termite soldiers. Praha.
- Piskorski R., Hanus R., Kalinová B., Valterová I., Křeček J., Bourguignon T., Roisin Y. & Šobotník J., 2009. Temporal and geographic variations in the morphology and chemical composition of the frontal gland in imagoes of *Prorethotermitidae* species (Isoptera: Rhinotermitidae). *Biological Journal of the Linnean Society* **98**, 384–392 pp.
- Prestwich G.D. & Collins M.S., 1982. Chemical defense secretions of the termite soldiers of *Acorhinotermes* and *Rhinotermes* (Isoptera, Rhinotermitinae): ketones, vinyl ketones, and β-ketoaldehydes derived from fatty acids. *Journal of Chemical Ecology* **8**: 147–161 pp.
- Prestwich G.D., 1984a. Defense mechanisms of termites. *Annu. Rev. Entomol.* **29**:201–232 pp.
- Prestwich G.D., 1984b. Inter specific variation of diterpene composition of *Cubitermes* soldier defense secretions. *Journal of Chemical Ecology* **10**:1219–1231 pp.
- Prestwich, G.D., Bierl B.A., Devilbiss E.D. & Chaudhury M.F.B., 1977. Soldier frontal glands of the termite *Macrotermes subhyalinus*: morphology, chemical composition, and use in defense. *Journal of Chemical Ecology* **3**: 579–590 pp.
- Quennedey A., 1984. Morphology and ultrastructure of termite defense glands. In: Hermann, H.R. (Ed.), *Defensive Mechanisms in Social Insects*. *Praeger*, New York, 151–200 pp.
- Reinhard J. & Clément J.L., 2002. Alarm reaction of European *Reticulitermes* termites to soldier head capsule volatiles (Isoptera, Rhinotermitidae). *Journal of Insect Behavior* **15**: 95–107 pp.

- Roisin Y., Everaerts C., Pasteels J.M. & Bonnard O., 1990. Caste-dependent reactions to soldier defensive secretion and chiral alarm/recruitment pheromone in *Nasutitermes princeps*. *Journal of Chemical Ecology* **16**: 2865–2875 pp.
- Sands W.A., 1982. Agonistic behavior of African soldierless *Apicotermitinae* (Isoptera: Termitidae). *Sociobiology* **7**: 61–72 pp.
- Shellman-Reeve J.S. 1997. In Choe J., Crespi B.J. (eds.): *The Evolution of Social Behavior in Insects and Arachnids*. S. **52**. Cambridge, New York, Melbourne, 52-93 pp.
- Sillam-Dussès D., Krasulová J., Vrkoslav V., Pytelková J., Cvačka J., et al. 2012. Comparative Study of the Labial Gland Secretion in Termites (Isoptera). *PLoS. ONE*. **7**(11)
- Šobotník J. & Weyda F. 2003: Ultrastructural ontogeny of the labial gland apparatus in termite *Prorethra simplex* (Isoptera, Rhinotermitidae). *Arthropod structure & development*, **31**(4):255-270 pp.
- Šobotník J. & Hubert J., 2003. The morphology and ontogeny of the exocrine glands of *Prorethra simplex* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Acta Societatis Zoologicae Bohemicae* **67**, 83–98 pp.
- Šobotník J., Bourguignon T., Hanus R., Weyda F. & Roisin Y., 2010a. Structure and function of defensive glands in soldiers of *Glossotermes oculatus* (Isoptera: Serritermitidae). *Biological Journal of the Linnean Society* **99**, 839-848 pp.
- Šobotník J., K. Kotalová, B. Vytisková, Y. Roisin & T. Bourguignon 2014. Age-dependent changes in ultrastructure of the defensive glands of *Neocapritermes taracua* workers (Isoptera, Termitidae). *Arthropod Structure & Development*, **43**(3), 205-210 pp.
- Šobotník J., Sillam-Dusse`s D., Weyda F., Dejean A., Roisin Y., Hanus R. & Bourguignon T., 2010b. The frontal gland in workers of Neotropical soldierless termites. *Naturwissenschaften* **97**, 495-503 pp.
- Šobotník, J. & P. Štys, 2003. *Obecná Entomologie: Vnitřní anatomie hmyzu část 1*. Praha: PřF UK,.
- Šobotník, J., T. Bourguignon, R. Hanus, et al. 2012. Explosive Backpacks in Old Termite Workers. *Science*. **337**(6093), 436-436 pp.
- Šobotník, J., Weyda, F., Hanus, R., Kyjaková, P. & Doubský, J., 2004. Ultrastructure of the frontal gland in *Prorethra simplex* (Isoptera: Rhinotermitidae) and quantity of the defensive substance. *European Journal of Entomology* **101**, 153–163 pp.
- Tokuda G., Saitoh H. & Watanabe H., 2002. A digestive α -glucosidase from the salivary glands of the termite, *Neotermes koshunensis* (Shiraki): distribution, characterization and isolation of its precursor cDNA by 5' and 3' RACE amplifications with degenerate primers. *Insect Biochemistry & Molecular Biology* **32**, 1681–1689 pp.

- Waller D.A. & La Fage J.P., 1987. Unpalatability as a defense of *Coptotermes for mosanus* Shiraki soldiers against ant predation. *Journal of Applied Entomology* **103**, 148–153 pp.
- Ware J. L., J. Litman, K. Klass & L. A. Spearman, 2008. Relationships among the major lineages of Dictyoptera: the effect of outgroup selection on dictyopter antreeology. *Systematic Entomology*, **33**(3), 429-450 pp.
- Weesner F., 1970. External anatomy. In: Krishna K., Weesner F. (eds) *Biology of termites*, vol I. *Academic Press*, New York, NY, 1–23 pp.
- Weesner F.M. 1969 In: Krishna K., Weesner F.M. (eds.): *Biology of Termites*, **vol.1**.125-157 pp. *Academic Press*, New York.
- Zuberi, A. 1963. L'Anatomie comparée du cerveau chez les termites' en rapport avec le polymorphisme. *Laval : Impr. Barneoud*. 204-207 pp.