

Univerzita Karlova v Praze

Pedagogická fakulta

Katedra biologie, geologie a environmentálních studií

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Želvušky (Tardigrada) a jejich schopnost přežití v extrémních podmínkách

Tardigrada and their ability to survive in extreme conditions

Zuzana Gruntová

Vedoucí práce: Mgr. Dagmar Říhová
Studijní program: Specializace v pedagogice
Studijní obor: Biologie, geologie a environmentalistika se zaměřením na
vzdělávání – Výchova ke zdraví se zaměřením na vzdělávání

2015

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma Želvušky (Tardigrada) a jejich schopnost přežití v extrémních podmínkách vypracovala pod vedením vedoucího práce samostatně za použití v práci uvedených pramenů a literatury. Dále prohlašuji, že tato práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

3.4. 2015

.....

podpis

Děkuji Mgr. Dagmar Říhové za odborné vedení, cenné připomínky a laskavý přístup při zpracování mé bakalářské práce. Také děkuji svým rodičům za neutuchající podporu při psaní práce a během celého studia.

Anotace

Kmen Tardigrada čítá asi tisíc známých druhů. Jeho zástupci jsou mikroskopičtí živočichové s bilaterálně souměrným tělem pokrytým kutikulou a čtyřmi páry končetin zakončenými drápkami nebo přísavnými disky. Nervová soustava je uložena ventrálně v hemocoelové dutině a sestává z břišního provazce s postranními ganglii. Trávicí soustava je průchodná.

Želvušky se vyskytují ve sladkovodním, mořském i suchozemském prostředí, ke svému životu však vždy vyžadují vodu. Vyvinula se u nich řada adaptačních strategií, především diapauza a kryptobióza. Rozeznáváme čtyři základní typy kryptobiózy: anhydrobiózu, kryobiózu, anoxybiózu a osmobiózu. Tyto strategie umožňují želvuškám přežití v extrémních podmínkách. Dokážou přežít vysychání, nízké nebo naopak vysoké teploty, vystavení vakuu či radiaci. Některé druhy dokážou tyto nepříznivé vlivy přečkat i v hydratovaném stavu. Když želvušky vstupují do anhydrobiózy, tvoří stádium označované jako *tun*. Díky uvedeným adaptacím jsou želvušky schopny kolonizovat i ta nejnepříznivější prostředí na světě.

Klíčová slova: želvušky, extrémní podmínky, kryptobióza, tun stádium, mechová fauna

Annotation

The phylum Tardigrada includes approximately 1000 known species. Tardigrades are microscopic, bilaterally symmetrical animals with four pairs of legs, which terminate in claws or sucking discs. Their body is covered with cuticle. Nervous system is placed in hemocoel-type of body cavity and consists of a lobed dorsal brain with a ventral nerve cord with fused ganglia. Tardigrades have a complete digestive tract.

They require water in their environment and are found in freshwater, marine and terrestrial habitats. Tardigrades evolved two most important dormant strategies – diapause and cryptobiosis. We can distinguish four types of cryptobiosis: anhydrobiosis, cryobiosis, anoxibiosis and osmobiosis. These strategies allow tardigrades to survive under extreme conditions. They can tolerate desiccation, freezing or high temperatures, exposure to vacuum or radiation. Some species also survive such conditions in their hydrated state. When tardigrades are entering anhydrobiosis, a tun-like structure is formed. Due to these adaptations, tardigrades are able to colonize the most harsh environments throughout the world.

Keywords: tardigrades, extreme tolerance, cryptobiosis, anhydrobiosis, tun formation, bryophyte fauna

Obsah

1. Úvod	1
2. Charakteristika kmene Tardigrada	2
3. Anatomie a morfologie	4
3.1. Morfologické rozdíly tříd Heterotardigrada a Eutardigrada	9
4. Rozmnožování	10
4.1. Svlékání	10
4.2. Vajíčka	11
4.3. Limno-terestrické druhy	13
4.3.1. Želvušky odděleného pohlaví	13
4.3.2. Hermafroditismus	14
4.3.3. Partenogenetické rozmnožování	14
4.4. Mořské druhy	14
5. Systematika a fylogeneze	16
6. Schopnost přežít	18
6.1. Kryptobióza	20
6.1.1. Anhydrobióza	24
6.1.2. Anoxybióza	28
6.1.3. Osmobióza	29
6.1.4. Kryobióza	29
7. Ekologie	32
8. Sběr želvušek	35
9. Závěr	37
10. Bibliografie	38
11. Seznam obrázků	45

1. Úvod

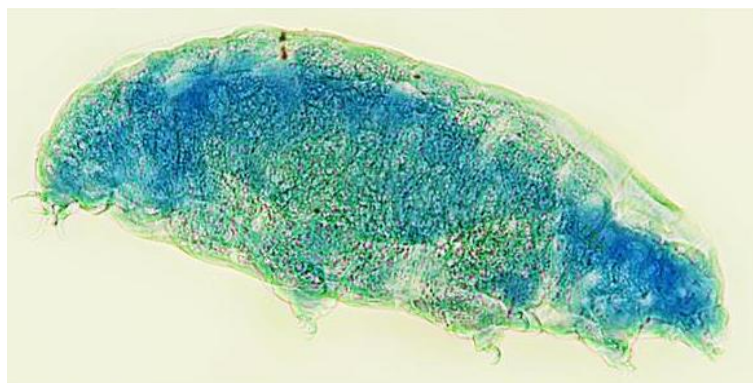
Želvušky (Tardigrada) jsou bezobratlí živočichové, jejichž nejvýznamnější vlastností je schopnost přežít v extrémních podmínkách. Jsou součástí především mechové fauny, avšak díky své odolnosti osidlují všechny typy životních prostředí. Díky schopnosti přežít „téměř cokoliv“ patří želvušky mezi nejpopulárnější organismy vůbec, avšak obecné povědomí o nich neobsahuje téměř nic jiného než právě konstatování jejich odolnosti. Přestože jsou s nimi žáci a studenti seznamováni již na základní škole, jen málokdo může říci, že želvušku alespoň spatřil.

Ve své rešeršní bakalářské práci si kladu za cíl poskytnout aktuální a ucelené informace, které by mohly být dále využívány k rozšíření povědomí o tomto živočišném kmeni. I když jsou želvušky příbuzné členovcům (Arthropoda), mají mnoho odlišných vlastností. Bakalářská práce se proto zabývá všemi aspekty jejich života. Čtenář bude nejprve seznámen s anatomií, morfologií a fylogenezí želvušek, následně s jejich rozmnožovacími a ekologickými strategiemi. Největší část práce je věnována schopnosti přežít fyzikální a chemické extrémy jako například dehydratace, vysoké teploty nebo radiace, tedy různým typům kryptobiózy, včetně molekulárně-biochemického vysvětlení uváděných procesů. Poslední část předkládané teze představuje metodiku sběru želvušek, která umožňuje seznámit se s nimi i na základní či střední škole.

2. Charakteristika kmene Tardigrada

Poprvé želvušky (Tardigrada) zmínil v roce 1773 německý pastor Johann August Ephraim Goeze. Tři roky poté je popsal také italský biolog Lazzaro Spallanzani. Dnes jsou považovány za jeden z méně známých kmenů bezobratlých živočichů, jehož blízkými příbuznými jsou členovci (Arthropoda) a drápkovci (Onychophora) (Jørgensen, a další, 2010). Anglický název *water bears* poprvé použil Thomas Henry Huxley v roce 1869. Želvušky si ho získaly svým rozvážným, kolébavým až nemotorným pohybem, připomínajícím pohyby medvědů (Mullen, 2002). Latinský název tohoto kmene je odvozen ze slov *tardus* = pomalý a *gradus* = krok, čemuž odpovídá i slovenské pojmenování *pomalky*.

Kmen Tardigrada čítá v současnosti více než tisíc popsaných druhů, skutečný počet dosud nepopsaných druhů je patrně několikanásobně vyšší (Schill, 2013). Želvušky lze rozdělit do dvou základních tříd: Eutardigrada (převážně suchozemské a sladkovodní druhy) a Heterotardigrada (mořské druhy). Eutardigradní želvušky mají na povrchu těla hladkou kutikulu, heterotardigradní želvušky jsou obrněné silnými kutikulárními pláty (viz obrázky 1 a 2).



Obrázek 1: Želvuška druhu *Hypsibius chilensis* patřící do třídy Eutardigrada (převzato ze Smithsonian Institution, National Museum of Natural History).

Želvušky jsou kosmopolitně rozšířeny po celém světě, vyskytují se jak v mořském, sladkovodním i terestrickém prostředí. Osídlily širokou škálu rozdílných ekosystémů – od tropických deštných pralesů, přes mechy, hluboké oceány, moře a vysoké hory až po Antarktidu. Želvušky jsou však výhradně vodní živočichové. Vodu potřebují k tomu, aby mohly žít, dýchat, pohybovat se, hledat si potravu, rozmnožovat se.

Přestože se suchozemské druhy želvušek nacházejí především v mechu, půdě a lišejnících, jejich těla jsou kryta tenkým vodním filmem. Proto je nazýváme limno-terestrickými živočichy (McInnes, 2010).



Obrázek 2: Želvuška druhu *Echiniscus jenningsi* patřící do třídy Heterotardigrada (převzato ze Smithsonian Institution, National Museum of Natural History).

Rozměry želvušek se pohybují v rozpětí od 250–1200 μm u dospělců a kolem 50 μm u juvenilních jedinců (Nelson, 2002). Okem jsou viditelné jen velmi vzácně, a to pouze při velmi dobrých světelných podmínkách. Tito drobní živočichové mají bilaterálně souměrné tělo, které je členěno na 5 segmentů: hlavový segment, tři tělní segmenty a jeden terminální segment. Mají čtyři páry krátkých, lobopodních končetin umístěných pod tělem, které jsou obvykle zakončeny drápkou nebo přísavnými disky. Želvušky vykazují velkou barevnou variabilitu. Najdeme mezi nimi téměř průhledné druhy, ale také druhy s kutikulou zbarvenou oranžově, růžově, bíle, červeně, žlutě či šedě. Také vykazují řadu reprodukčních strategií, které závisí především na prostředí, ve kterém se jedinci vyskytují (Bertolani, 2001). Nejčastěji se rozmnožují partenogeneticky a jen zřídka mezi nimi najdeme hermafrodity. Mořské druhy jsou převážně odděleného pohlaví.

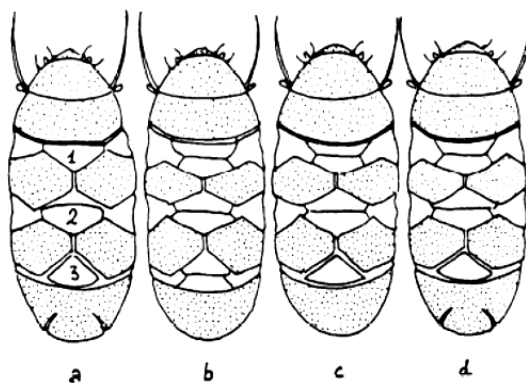
Želvušky svou vysokou odolností vůči extrémním podmínkám představují ideální model pro studium evoluce. Tato role v současnosti patří výhradně hlísticím, především druhu *Caenorhabditis elegans* (Miller, 2011). Kmen Tardigrada disponuje stejnými vlastnostmi, tj. fyziologickou jednoduchostí a rychlým rozmnožovacím cyklem, které učinily *C. elegans* tak cenným pro vývojové studie.

3. Anatomie a morfologie

Želvušky jsou eutelní, což znamená, že počet jejich tělních buněk je v průběhu života konstantní – okolo 40 tisíc (Gagyi-Palffy, a další, 2011). V rámci růstu a vývinu jedince se zvětšuje velikost buněk, nikoli jejich počet (Nelson, 2002).

Tělo želvušek je cylindrické, bilaterálně souměrné. Obvykle je dorzálně konvexní a na ventrální straně zploštělé. Je rozděleno na pět segmentů: první cefalický segment a tři následující korespondují s prvními třemi páry končetin, poslední terminální segment koresponduje s posledním párem končetin. Hemocoel umožňuje efektivní výživu a výměnu plynů bez potřeby samostatného oběhového a dýchacího systému (Miller, 2011). Dýchání je uskutečňováno přes povrch těla, tedy přes epidermis i kutikulu.

Tělo želvušek je kryto kutikulou. Stejně jako u příbuzných z kmene členovců (Arthropoda) obsahuje vnitřní vrstva kutikuly želvušek chitin. Ten poskytuje pevnost a tuhost. Vnější vrstva kutikuly je tvořena proteinem albuminoidem (Gagyi-Palffy, a další, 2011). Kutikula může být hladká, otrněná či hrbolkovaná, případně vyztužena pancéřovými pláty (Biodiversity Institute of Ontario, a další, 2008). Třída Eutardigrada (například druh *Macrobiotus intermedius*) má kutikulu hladkou, protknutou póry, které se při pohledu mikroskopem jeví jako drobné rozptýlené tečky. Kutikula třídy Heterotardigrada (například druh *Echiniscus testudo*) je zpevněna pláty, jejichž tvar a počet je determinačním znakem (viz obrázek 3). Kutikulu sekretuje epidermis, která je uložena pod ní a je tvořena velkými plochými buňkami s velkými jádry a vysokým počtem vakuol (Ramazzotti, a další, 1983).



Obrázek 3: Uspořádání kutikulárních plátů u rodů: a) *Echiniscus*, b) *Bryochoenus*, c) *Bryodelphax*, d) *Hypechiniscus* (Ramazzotti, a další, 1983).

Želvušky mohou nabývat různého zbarvení. Zatímco juvenilové jsou často bezbarví, dospělci mohou být zbarvení poměrně výrazně. Barevnost je individuální, může se lišit i mezi jedinci stejného druhu. Je závislá na několika faktorech:

Zbarvení želvušky je způsobeno **prosvítajícím barevným obsahem žaludku** (viz obrázek 4), což je dobře viditelné především u transparentních želvušek. Zbarvení závisí na typu pozřené potravy (Glime, 2013).

Zbarvení vzniká díky **přítomnosti pigmentových granulí a pigmentaci buněk tělní dutiny**. U některých zástupců čeledi Macrobiotidae přítomnost pigmentovaných zásobních buněk (*storage cells*) způsobuje jasně žluté až oranžové zbarvení (Ramazzotti, a další, 1983). U čeledi Echiniscidae jsou pigmenty způsobující červené až hnědé zbarvení uloženy volně v tělní dutině. Guidetti a kolegové (2012) prokázali, že jedním z pigmentů jsou karotenoidy, které želvušky získávají z potravy.

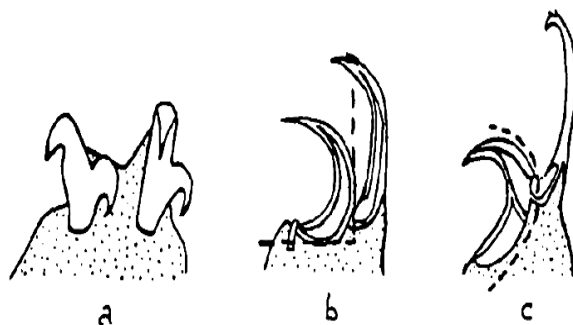
Barva je způsobena **zabarvením kutikuly**. Příkladem jsou želvušky obrněného druhu *Echiniscus viridis*, které mají zelené zbarvení; zástupci druhu *Hypsibius oberhauseri*, kteří mají podélné nahnědlé pruhy na hladké kutikule, nebo druh *Milnesium tardigradum*, který má kutikulu zbarvenou růžově, hnědě či žlutě (Ramazzotti, a další, 1983).



Obrázek 4: Zelená skvrna je pravděpodobně cytoplasma řasy nebo lišejníku, prosvítající zevnitř trávicího traktu želvušky (fotografie Paul Davison).

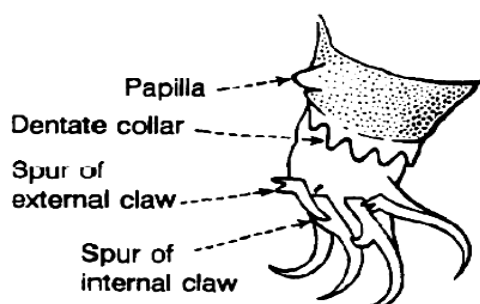
Končetiny želvušek jsou válcovitého tvaru, na distálním konci zaoblené. První tři páry končetin směřují ventrolaterálně a slouží především k zajištění pohybu, čtvrtý pár směřuje kaudálně a slouží k uchycení na substrátu (Romano, 2003).

Ve většině případů jsou nožky zakončeny drápků různého počtu i tvaru, které slouží také k přichycení na substrát (viz obrázek 5). Při svlékání kutikuly se želvušky zbavují kromě jiných sklerotizovaných částí také drápků. K syntéze nových drápků slouží tzv. pedální žláza epidermálního původu, umístěná na distálním okraji každé končetiny (Ramazzotti, a další, 1983).



Obrázek 5: Typy drápků: a) *Calohypsibius*, b) *Isohypsibius*, c) *Hypsibius* (Ramazzotti, a další, 1983).

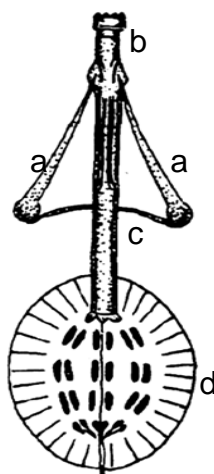
Tvar a počet drápků je důležitým determinačním znakem. Kromě drápků můžeme u některých druhů (převážně mořských) najít také přísavné disky, které rovněž slouží k efektivnějšímu přichycení na substrát (Biodiversity Institute of Ontario, a další, 2008). Končetiny některých želvušek (například rod *Echiniscus*) jsou vybaveny ozubeným límcem (*dentate collar*, viz obrázek 6), který zabraňuje zachycování substrátu na končetině a umožňuje živočichovi volný pohyb (Mach, 2014).



Obrázek 6: Končetina želvušky rodu *Echiniscus* vybavená ozubeným límcem (*dentate collar*) (Ramazzotti, a další, 1983).

Všechny želvušky mají pouze příčně pruhované svalstvo (Nelson, 2002). Počet jednotlivých svalů je vyšší na ventrální straně živočicha. Jelikož želvušky nemají vnitřní kostru, svaly se upínají na jiné pevné struktury v těle. Z tohoto důvodu jsou na kutikule vyvinuty kutikulární výběžky (Mach, 2014). Spojení hřbetních skupin svalů s břišními umožňuje kontrakci celého těla. Třída Eutardigrada má na dorzální straně čtyři podélné svaly, což umožňuje vyšší flexibilitu, než je známa u třídy Heterotardigrada, která má tyto svaly pouze dva. Pohyb končetin je řízen skupinami svalů uloženými v distální části končetin (za bází drápků), připojenými k dorzální i ventrální části kutikuly. Svaly v zadní části těla ovládají kladení vajec a defekaci. Trávicí soustava je tvořena také příčně pruhovaným svalstvem (Ramazzotti, a další, 1983).

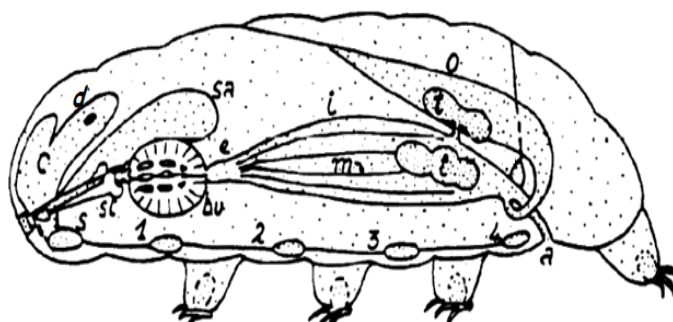
Želvušky se živí nejen buňkami bakterií, řas a rostlin (především mechů a lišejníků), ale také organismy jako jsou vířníci, hlístice nebo jednobuněčná eukaryota (Romano, 2003). Některé želvušky (například rody *Milnesium* nebo *Macrobiotus*) konzumují menší druhy želvušek (Glime, 2013). Ústa želvušek se nacházejí na předním konci živočicha (viz obrázek 8). K příjmu potravy využívají bukofaryngeální aparát (viz obrázek 7). Je to komplexní struktura, která se skládá z kutikulárního prstence, osvalené bukální trubice, párových styletů a savého hltanu (Šatkauskienė, 2012).



Obrázek 7: Náčrt bucofaryngeálního aparátu: a) stylety, b) bukální trubice, c) podpora styletů, d) hltanový bulbus (Ramazzotti, a další, 1983).

Párové stylety (viz obrázek 7) představují prodloužení úst, kterými želvušky propichují buňky potravy a vysávají cytoplazmu pomocí hltanu fungujícího jako pumpa (Nelson, 2002). Sací funkci hltanu umožňují silné svaly, které se v mikroskopu jeví jako výrazný hltanový bulbus (Mach, 2014). Stylety se nacházejí po stranách bukální trubice. Jsou obměňovány při každém svlékání kutikuly spolu se sklerotizovanými částmi hltanu a výstelkou předního a zadního střeva. Nové stylety jsou syntetizovány pomocí žláz umístěných po stranách úst. Ovládání je zajištěno příčně pruhovaným svalstvem procházejícím od báze styletů až k sacímu hltanu. Pomocí svalstva je ovládáno vysunutí a opětovné zasunutí styletů (Clothier, 1963).

Hltan ústí do krátkého jícnu, který je napojen na přední střevo. Střevo pokračuje konečníkem a řití. Většina trávení se odehrává ve střevě. Řiť obvykle ústí mezi posledním párem nohou (viz obrázek 8). Vylučování bylo pozorováno pouze u zástupců třídy Eutardigrada.



Obrázek 8: Laterální pohled na želvušku rodu *Macrobiotus*: a) řiť; bv) hltan; c) mozek; d) oko; e) jícn; i) střední střevo; m) příčně pruhované svaly předního střeva; o) vaječníky; s) podjícnový ganglion; sa) slinná žláza; st) stylet; t) Malpighiho trubice; 1,2,3,4) ventrální ganglia (Ramazzotti, a další, 1983).

Nervová soustava želvušek je stejně jako u ostatních členovců žebříčkovitá. Nervový systém je tvořen ganglii, ze kterých vystupují nervové provazce probíhající tělem. Nadjícnový neboli cerebrální ganglion je s podjícnovým propojen objícnovým prstencem a k tomuto celku jsou připojeny čtyři ventrální páry periferních ganglií. Každé z periferních ganglií odpovídá jednomu segmentu těla a vychází z něj boční nervová vlákna, která inervují končetiny (viz obrázek 8) (Ramazzotti, a další, 1983).

O smyslech želvušek toho není mnoho známo. Popsány byly zatím pouze dva typy smyslových orgánů: círy a oční skvrny. Círy jsou umístěny v hlavové části želvušky a slouží pravděpodobně jako hmatový orgán (Clothier, 1963). Oči jsou umístěny v anteriorní části živočicha v závislosti na velikosti a délce vnějšího laloku mozku, ze kterého se pravděpodobně vyvinuly. Obecně se oči želvušek skládají z jednoho pigmentového pohárku. Oko pravděpodobně postrádá čočku. Pigment je obvykle černý, hnědý nebo červený (barva je druhově specifická) a jeho množství je individuální pro každé oko (Greven, 2007).

3.1. Morfologické rozdíly tříd Heterotardigrada a Eutardigrada

Kmen Tardigrada bývá dělen do dvou tříd: Heterotardigrada a Eutardigrada (Miller, 2011). Obě třídy odlišují nejen genetické rozdíly, ale také řada morfologických charakteristik (např. stavba kutikuly, bukálního aparátu, přítomnost drápků či disků na konci končetin, stavba rozmnožovací soustavy) (Nelson, 2002).

Pro třídu **Heterotardigrada** je charakteristická přítomnost trupových a končetinových přívěsků, gonopór oddělený od řiti, nepřítomnost Malpighiho trubice a kutikula vyztužená obrněnými pláty (Ramazzotti, a další, 1983). Končetiny zástupců této třídy jsou obvykle teleskopické s čtyřmi až šesti články, které nesou komplex drápků. Mořské druhy jsou vybaveny přísavnými disky.

Želvušky třídy **Eutardigrada** mají kutikulu hladkou, gonopór a řiť jsou spojeny do kloaky, je přítomna Malpighiho trubice, končetiny jsou bez článků a končí drápkou (Nelson, 2002).

4. Rozmnožování

Ačkoli se zájem a s ním i znalosti kmene Tardigrada v dnešní době rozšiřují, neexistuje mnoho prací, které by se věnovaly rozmnožovacím strategiím želvušek. V následující kapitole se tedy pokusím alespoň stručně shrnout základní poznatky dostupné z literárních a internetových zdrojů.

Želvušky nejsou schopny nepohlavního rozmnožování. Během evoluce se u nich vyvinula řada reprodukčních strategií v závislosti na prostředí, které kolonizovaly (Bertolani, 2001). Zároveň jim tyto odlišné strategie umožňují osidlovat stále nové ekosystémy.

Jedinci po většinu života žijí odděleně, bez zjevných vzájemných interakcí. Změny chování byly pozorovány především u samců v době, kdy byla těla samic zaplněna vajíčky. Za takových okolností se samci snažili k samicím přiblížit za účelem páření (Baumann, 1961, cit. dle Macha, 2014).

Ke správnému pochopení reprodukčních strategií je vhodné si nejdříve vysvětlit několik základních pojmů a také od sebe odlišit strategie mořských a limno-terestrických druhů želvušek, které jsou různé stejně jako prostředí, ve kterém žijí.

4.1. Svlékání

Kmen Tardigrada stejně jako jeho příbuzní členovci procházejí několikrát za život svlékáním kutikuly. Tento proces obvykle vyžaduje 5–10 dnů, probíhá i po dosažení pohlavní zralosti a umožňuje tak želvuškám růst. Během svlékání (viz obrázek 9) se želvuška zbavuje staré kutikuly, drápků a výstelky předního a zadního střeva. Po svléknutí jedinec setrvává v tzv. simplex fázi, což je doba, ve které želvušky nepřijímají potravu, a to vlivem absence sklerotizovaných částí buko-faryngeálního aparátu. Svlékání probíhá asi 4–12x za aktivní život želvušky, který obvykle trvá 3–30 měsíců (Nelson, 2002).



Obrázek 9: Želvuška svlékající kutikulu, ve které zůstala nakladená vajíčka (převzato z <http://www.dailymail.co.uk/>).

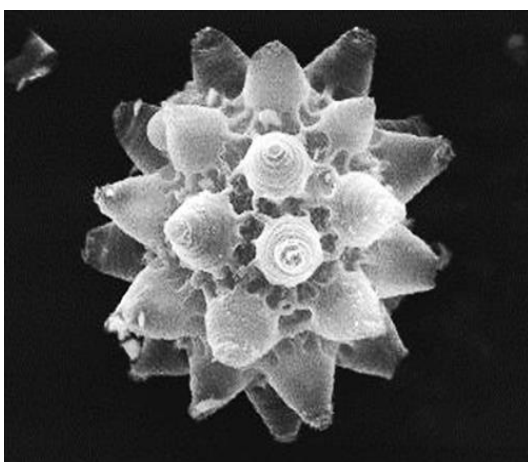
4.2. Vajíčka

Vajíčka želvušek (viz obrázek 10) jsou velmi rozmanitá, liší se tvarem, velikostí i počtem, proto často slouží jako dobrý determinační znak. Obal vajíček se skládá z polysacharidů, peptidů a lipidů (Poprawa, 2005). Množství vajíček se různí nejen mezi druhy, ale také mezi jedinci téhož druhu. Pro jednu snůšku bývá uváděna horní hranice okolo 30–40 vajíček (Altiero, a další, 2009). Velký vliv na velikosti snůšky má nutriční status samice. Výzkumy naznačují, že některé samice želvušek pojídají svá vlastní vajíčka za účelem zlepšení výživy (Glime, 2013).



Obrázek 10: Želvuška rodu *Echiniscus* s vajíčky (Mach, 2014).

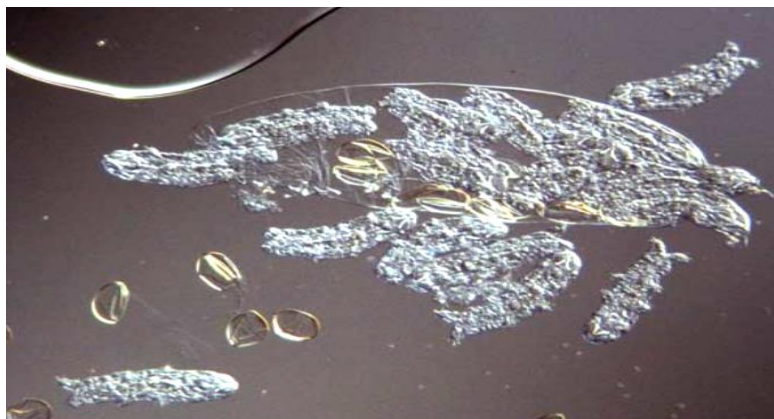
Způsob kladení vajíček se mezi jednotlivými zástupci liší. Některé želvušky, jako je například rod *Pseudobiotus*, kladou vajíčka zabalená v exuvii (svlečka kutikuly), jiné želvušky kladou vajíčka přímo na substrát. Exuvie ve většině případů zůstává připojeno k tělu samice do doby vylíhnutí mladých jedinců (Czerneková, 2011). Vajíčka, která jsou kladena volně na substrát, mají výrazně skulpturovaný povrch (viz obrázek 11). Tyto ornamenty pravděpodobně slouží jako ochranné struktury před predátory a vysycháním, regulují výměnu plynů mezi vajíčky a vnějším prostředím a v neposlední řadě mohou také sloužit k ukotvení na substrát (Glime, 2013).



Obrázek 11: Vajíčko želvušky třídy Eutardigrada *Paramacrobiotus richtersi* (Guidetti, a další, 2011).

Vajíčka lze dle jejich dalšího osudu rozdělit do dvou kategorií. Vývoj tzv. klidových vajíček (*resting eggs*) je pozastaven vyschnutím. V tomto stavu mohou vajíčka setrvat až 90 dnů (Altiero, a další, 2009). Druhým typem jsou vajíčka s rychlým vývojem, která neupadají do klidového stavu a líhnou se po 30–40 dnech.

Obecně lze říci, že se vajíčka vyvíjejí v exuvii nebo volně na substrátu do té doby, než jsou noví jedinci zcela připraveni vajíčko opustit. Mladé želvušky se ihned po vylíhnutí podobají dospělcům, jsou však drobnějších rozměrů (viz obrázek 12) (Glime, 2013).



Obrázek 12: Líhnutí mladých jedinců želvušky rodu *Hysibius* (fotografie Yuuji Tsukii).

4.3. Limno-terestrické druhy

Stejně jako se liší suchozemská prostředí, liší se také reprodukční strategie, které se u limno-terestrických želvušek vyvinuly a umožnily jim tak kolonizovat nové a mnohdy velmi nehostinné ekosystémy.

4.3.1. Želvušky odděleného pohlaví

Tyto terestrické želvušky se rozmnožují pohlavně, takzvanou amfimixií, při které embryo vzniká splynutím gamet samčího a samičího pohlaví. Tato rozmnožovací strategie zaručuje vysokou míru genetické rekombinace u nových populací. Způsob oplození není znám. Patrně se jedná o oplození vnitřní, na rozdíl od mořských druhů želvušek. Kladení a samotný vývoj vajíček je u těchto terestrických druhů spojen se svlékáním kutikuly (Rebecchi, a další, 1994).

Samičky jsou iteroparní, tedy kladou různě velké snůšky vajíček opakovaně po celý život. Kladení vajec je úzce propojeno se svlékáním kutikuly. Samotný vývoj a zrání oocytů lze rozdělit do čtyř základních stádií. První stádium je charakteristické absencí vitelogeneze, zatímco ve druhém stádiu oocyty začínají zrát a želvuška si prozatím ponechává kutikulu. Ve třetím stádiu jsou vajíčka velká se zachovalým jaderným obalem, avšak bez rozpoznatelných chromozomů, a samička svléká kutikulu. V posledním stádiu vajíčka dokončují vitelogenezi.

Pohlavní dimorfismus byl pozorován u terestrických druhů jen velmi zřídka. Samečci se od samiček liší především menším vzrůstem. Typická je pro ně semelparie, což znamená, že jakmile pohlavně dozrají, kopulují a následně umírají.

Výjimkou je druh *Amphibolus volubilis*, u kterého bylo v dospělosti pozorováno rozmnožování opakované (Bertolani, 2001).

4.3.2. Hermafroditismus

Tato rozmnožovací strategie je mezi želvuškami velmi ojedinělá a byla doložena pouze u několika málo rodů jako například *Amphibolus*, *Isohypsibius* a *Macrobiotus* (Czerneková, 2011). Samooplození představuje významnou výhodu při osidlování odlehlých oblastí. Jediný exemplář je sám schopen produkce potomků (Bertolani, 2001). Nevýhodou je klesající míra genetické variability mezi populacemi.

Rozmnožovací aparát je tvořen společnou samčí a samičí zárodečnou oblastí (ovotestis), ve které dochází ke zrání buněk obou pohlaví, přičemž spermie dozrávají dříve a ve větším počtu než vajíčka (Czerneková, 2011).

4.3.3. Partenogenetické rozmnožování

V oblastech, které jsou chudé na populace samečků, se u samic vyvinulo asexuální rozmnožování pomocí partenogeneze (Middleton, 2014). Ta rovněž želvuškám poskytuje adaptaci ke kolonizaci nových a izolovaných stanovišť. Rozeznáváme několik typů partenogeneze. Jedním z nich je thelytokie, která byla popsána v roce 2003 Suzukim (2003) u želvušek druhu *Milnesium tardigradum*. Thelytokie představuje zajímavý druh reprodukční strategie. Při tomto asexuálním rozmnožování totiž vznikají pouze nové populace samiček.

4.4. Mořské druhy

V mořském prostředí se vyskytují především želvušky třídy Heterotardigrada, které jsou téměř vždy gonochoristy, někdy s pohlavním dimorfismem. Hermafroditismus byl popsán pouze jednou (Bertolani, 2001).

U želvušek obou pohlaví jsou gonády (pohlavní žlázy) uloženy v dorzální části břišní oblasti nad středním střevem (Middleton, 2014). Jejich velikost se mění v závislosti

na instaru. Dospělí samci mají v semenných váčcích pouze zcela vyvinuté spermie, kdežto u jedinců, kteří dosud svlékají kutikulu a nejsou pohlavně zralí, najdeme i buňky zárodečné. Samci jsou stejně jako u limno-terestrických druhů želvušek semelparní, navíc jsou drobnější než samice (Šatkauskienė, 2012).

V těle samic nacházíme zralé oocyty již v době, kdy ještě dochází k ekdysi, jsou iteroparní stejně jako limno-terestrické druhy (Bertolani, 2001). Většina samic mořských želvušek má vyvinuté dvě vnější semenné schránky, které spolu s vejcovodem ústí do preanálního gonopóru (pohlavní otvor) umístěného na spodní straně těla. Pohlavní dimorfismus se projevuje v utváření gonopóru – u samců je oválný a umístěný více vzadu, u samic jej obklopuje růžice kutikulárních rýh a je posunut poněkud dopředu.

Při páření se samec pevně přimyká k samici a přidržuje se její hlavové části. Oplození je pravděpodobně vnější (Czerneková, 2011).

5. Systematika a fylogeneze

V minulosti byly želvušky spojovány s řadou systematických skupin. Moderní morfologické i molekulární studie zařazují želvušky do skupiny Ecdysozoa. Většina odborných studií se shoduje na tom, že existuje úzký vztah želvušek se členovci a drápkovci. Konkrétně jsou želvušky označovány za sesterskou skupinu členovců a jsou blízkými příbuznými drápkovců (Dunn, a další, 2014).

Marcus (1929) poprvé rozdělil kmen Tardigrada do dvou tříd a pojmenoval je Eutardigrada, což znamená „pravé želvušky“, a Heterotardigrada neboli „rozmanité želvušky“ (Romano, 2003).

Třída Heterotardigrada zahrnuje převážně druhy mořské a limno-terestrické. Je rozdělena do dvou řádů: Echiniscoidea a Arthrotardigrada (Jørgensen, a další, 2004). U řádu Echiniscoidea můžeme dále rozlišit čtyři čeledi: Echinisdicadae, Oreellidae, Echiniscoididae a Carphaniidae. Molekulární analýzy podporují názor, že je řád Arthrotardigrada nejzákladnější linií želvušek a sesterskou skupinou řádu Echiniscoidea (Sands, a další, 2008).

Třída Eutardigrada zahrnuje druhy limno-terestrické a sladkovodní. Je členěna do dvou řádů: Apochela a Parachela. Řád Apochela obsahuje pouze jedinou čeleď – Milnesiidae (Pilato, 2013). Řád Parachela je členěn složitěji. Na základě nových molekulárních studií byla přehodnocena morfologická data a uspořádání řádu bylo rozčleněno pouze do čtyř nadčeledí z původních sedmi rodů (viz obrázek 13). Tyto nadčeledi: Eohypsibioidea, Hypsibioidea, Isohypsibioidea a Macrobiotioidea byly stanoveny na základě strukturálních rozdílů drápků a apofýz k připojení svalů stylet (Marley, a další, 2011).

Řídce je zmiňována také třetí třída Mesotardigrada, která zahrnuje jediný rod *Thermozoidum* získaný z oblasti horkých pramenů blízko japonského Nagasaki. Od doby svého nálezu však nebyla tato třída znovu objevena a typová lokalita zanikla po druhé světové válce (Jørgensen, a další, 2010).

I. Třída Heterotardigrada	
Řád Arthrotardigrada	Mnoho mořských čeledí a rodů, kromě <i>Styraconyx hallasi</i> (sladkovodní).
Řád Echiniscoidea	Mořské, sladkovodní, terestrické rody
Čeď Echiniscoididae	Mořské rody <i>Echiniscoidea</i> a <i>Anisonyches</i>
Čeď Oreellidae	Terestrický rod <i>Oreella</i>
Čeď Carphaniidae	Sladkovodní rod <i>Carphania</i>
Čeď Echiniscidae	Terestrické rody, kromě několika druhů <i>Echiniscus</i> , <i>Hypechiniscus</i> a <i>Pseudechiniscus</i> , které příležitostně žijí ve sladkovodním prostředí
II. Třída Mesotardigrada	
Řád Thermozodia	
Čeď Thermozodiidae	Rod obývajících horké prameny
III. Třída Eutardigrada	
Řád Parachela	
Čeď Macrobiotidae	Terestrické a sladkovodní rody <i>Adorybiotus</i> , <i>Calcarobiotus</i> , <i>Dactylobiotus</i> , <i>Macrobiotus</i> , <i>Macroversum</i> , <i>Minibiotus</i> , <i>Murrayon</i> , <i>Pseudodiphascion</i> , <i>Pseudohexapodibius</i> , <i>Richtersius</i> , <i>Xerobiotus</i>
Čeď Calohypsibiidae	Terestrické rody <i>Calohypsibius</i> , <i>Haplohexapodibius</i> , <i>Haplomacrobiotus</i> , <i>Hexapodibius</i> , <i>Parhexapodibius</i>
Čeď Eohypsibiidae	Terestrické a sladkovodní rody <i>Eohypsibius</i> , <i>Amphibolus</i>
Čeď Microhypsibiidae	Terestrické rody <i>Microhypsibius</i> , <i>Fractonotus</i>
Čeď Hypsibiidae	Mořské rody: <i>Halobiotus</i> , <i>Ramajendas</i> (1 sp.) a <i>Isohypsibius</i> . Terestrické a sladkovodní: <i>Acutuncus</i> , <i>Astatumen</i> , <i>Diphascion</i> , <i>Doryphoribius</i> , <i>Eremobiotus</i> , <i>Hebesuncus</i> , <i>Mesocrista</i> , <i>Hypsibius</i> , <i>Paradiphascion</i> , <i>Isohypsibius</i> , <i>Itaquascon</i> , <i>Fujiscon</i> , <i>Mixibius</i> , <i>Parascon</i> , <i>Platicrista</i> , <i>Thulinia</i> , <i>Pseudobiotus</i> , <i>Ramajendas</i> , <i>Ramazottius</i>
Čeď Necopinatidae	Terestrický rod <i>Necopinatum</i>
Incerta sedis	Terestrický rod <i>Apodibius</i>
Řád APOCHELA	
Čeď Milnesiidae	Terestrické rody: <i>Milnesium</i> , <i>Limmenius</i> , <i>Milnesioides</i>

Obrázek 13: Tabulka shrnující vnitřní systematiku kmene Tardigrada (Nelson, 2002).

Fylogenetické vztahy mezi jednotlivými třídami nejsou stále zcela jasné a názory se v jednotlivých zdrojích liší. Většina studií označuje želvušky za monofyletické, některé studie však naznačují možnost, že je řád Arthrotardigrada a s ním i celý kmen parafyletický (Jørgensen, a další, 2010). Je obecně uváděno, že třída Heterotardigrada zahrnuje nejvíce bazální formy, což vyplývá i z omezených fosilních nálezů.

Fosilní nálezy z křídového jantaru naznačují, že třída Eutardigrada se objevila minimálně před 90 miliony let (Jørgensen, a další, 2004). Nové nálezy ze sibiřského vápence (stáří asi 530 milionů let) odhalily přítomnost želvušek třídy Heterotardigrada, což podporuje názor, že kmen Tardigrada vznikl již v kambriu. Fosilní želvušky vykazují podobnost s novodobými druhy, mají však jen tři páry končetin (Schmidt-Rhaesa, 2001).

6. Schopnost přežít

Želvušky jsou právem označovány jako jedny z nejodolnějších organismů na Zemi. Jejich schopnost přestát chemické i fyzikální extrémny je neobyčejná (Copley, 1999). Tuto odolnost poprvé popsal v roce 1842 francouzský přírodovědec Doyère. Při svých výzkumech zjistil, že jsou želvušky schopny přežít několikaminutové ohřátí na 125 °C, později v roce 1929 teplotu zvýšil až na 150 °C. (Middleton, 2014). Dospělci želvušek byli schopni přežít zchlazení na teplotu téměř absolutní nuly (-272,8 °C), kde není drtivá většina organismů schopna existovat.

Resistence vůči chemickým a fyzikálním extrémům souvisí se schopností želvušek pozastavit nebo zcela přerušit chod svého metabolismu (Wright, 2001). Zhorší-li se podmínky v prostředí, želvušky jsou schopné přejít do dvou typů klidových forem: cysty a kryptobiotického stavu. Touto strategií mohou nepříznivě působící vlivy přečkat a poté se opět vrátit do aktivního stádia (Ramazzotti, a další, 1983). Řadu nepříznivých vlivů však dokážou přečkat i v aktivním stavu.

Želvušky jsou odolné vůči vakuu, ultrafialovému záření a také snesou vyšší hladinu salinity (Halberg, a další, 2009). Zmiňujeme-li odolnost vůči chemickým látkám, dokážou želvušky přežít nadměrnou koncentraci dusivých plynů (oxidu uhelnatého, oxidu uhličitého, dusíku, oxidu siřičitého, sirovodíku) i vystavení methyl bromidu (CH₃Br) nebo vystavení etanolu po dobu několika minut (Ramløv, a další, 2001).

Želvušky jsou také schopny odolávat vysokým tlakům. Dle výzkumu, který provedl Ono s kolegy (2008) z japonské univerzity v Okyamě, byly zkoumané exempláře schopny téměř ve 100 % přežít vystavení hydrostatickému tlaku o síle 7,5 Gpa (gigapascal, tj. 10⁹ Pa) po dobu 6 hodin (Faltus, 2013). Vědci také odhalili vztah mezi délkou působení vysokého tlaku a schopností želvušek vrátit se k aktivnímu životu. Po 12 hodinách působení tlaku přežila asi jen čtvrtina zkoumaného vzorku.

Tlak o síle 7,5 Gpa odpovídá tlaku v hloubce asi 180 km pod povrchem země (hloubka odpovídající horní vrstvě zemského pláště). Tento projekt tak zadal předpoklady myšlenky, že by želvušky mohly být schopny cestovat uvnitř meteoritu vesmírem a vrátit se na Zem živé (Ono, a další, 2008).

Další velmi zajímavou oblastí řady výzkumů je schopnost želvušek tolerovat vysoké dávky radioaktivního záření. Jedinci v anhydrobiotickém stavu (viz obrázek 14) byli schopni

přežít dávky gama záření o síle mezi 1000 až 9000 Gy (Jönsson, a další, 2005). Mechanismy zodpovědné u želvušek za schopnost vysoké tolerance radiace nebyly doposud zcela objasněny. Po určitou dobu se vědci domnívali, že je odolnost vůči radiaci spojena zejména s fyziologickými procesy anhydrobiotického stavu. Nové poznatky však prokázaly stejnou odolnost i u jedinců v hydratovaném stavu (Jönsson, a další, 2008).

Druhým typem záření, vůči kterému jsou želvušky odolné, je UV záření. Při pokusech byla prokázána schopnost jedinců přežít v anhydrobiotickém stavu dávky o velikosti 23 kJ/m^2 (přežití asi 80 % vzorku) a některé druhy byly schopny dokonce odolat dávkám mezi 75 až 88 kJ/m^2 (přežití 10 % vzorku) (Altiero, a další, 2011).



Obrázek 14: Želvuška v anhydrobiotickém stavu tvořící tun formaci (Mach, 2014).

Želvušky jsou díky své schopnosti přežít v extrémních podmínkách vhodným modelem pro výzkum vlivů kosmického prostředí na mnohobuněčné organismy. Kromě odolnosti vůči nehostinným podmínkám činí želvušky vhodnými kandidáty také jejich relativně krátký životní cyklus. Ten umožňuje vyhodnocení dopadu vesmírného prostředí na velký počet generací i po časově omezenou periodu (Guidetti, a další, 2012).

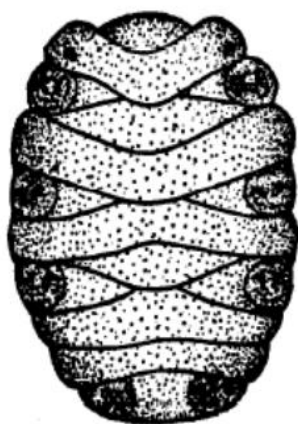
Důležitým prvkem je také mikroskopická velikost želvušek, díky níž je lze velmi snadno uchovávat. Na malém kusu papíru (cca 55 mm^2) lze dle standardizovaného protokolu, při kontrolované teplotě a vlhkosti usušit stovky jedinců. Takto uchovávaní jedinci vydrží až desítky let bez ztráty vitality a jsou tak schopni přežít i delší vesmírné lety (Rebecchi, a další, 2009). K jejich oživení pak postačí pouze papír navlhčit.

V roce 2007 se želvušky staly prvním mnohobuněčným organismem, který přežil vystavení prostředí vesmíru. Vědci z evropské vesmírné agentury Biopan zahájili misi 6/Foton–M3, ve které byly želvušky v dehydratovaném stavu vystaveny přímé radiaci, vysokým teplotám a vakuu vesmíru. Zatímco experimentální modul obíhal 260 km nad Zemí, vědci otevřeli nádoby s želvuškami uvnitř a vystavili je působení Slunce. Po návratu na Zem byli jedinci rehydratováni a byl zaznamenán jejich úspěšný návrat k aktivnímu životu. Želvušky byly schopny příjmu potravy, reprodukce i růstu. V roce 2011 byly želvušky v rámci projektu Biokis, podporovaného italskou vesmírnou agenturou Agenzia Spaziale Italiana (ASI), vyneseny do vesmíru na americkém raketoplánu Endeavor a jedinci zde byli vystaveni různým hladinám ionizujícího záření (Miller, 2011). Zkoumané želvušky vykazovaly velmi vysokou míru přežití bez ohledu na stav beztlíže a kosmické záření. Samice kladly vejce normálního tvaru, která se byla schopna vylíhnout. Novorození jedinci vykazovali normální morfologii, chování, pohlavně dozrávali a také byli schopni klást vajíčka. Expozice kosmickému prostředí může vyvolat rychlé změny v živých systémech a tato studie si kládla za cíl analyzovat působení vesmírného prostředí a definovat potřebná protipatření pro ochranu citlivých organismů (včetně lidí), které nejsou přirozeně schopny odolávat extrémním podmínkám. V budoucnu by získané poznatky mohly být použity k vytváření nových ochranných molekul a metabolitů pro tkáň a buňky, které by mohly být využity jako protipatření proti záření a stárnutí (NASA, 2014).

6.1. Kryptobióza

Maďarský biochemik Albert Szent-Gyorgyi v minulosti prohlásil: „*Voda je médiem, formou a matkou života. Život bez vody nemůže existovat*“ (Glime, 2013). Želvušky se však v kryptobiotickém stavu dostaly velmi blízko k vyvrácení tohoto tvrzení. Poprvé kryptobiózu popsal Anthony van Leewenhoek v roce 1702 při pozorování vzorků sesbíraných ze střeš. Samotný pojem zavedl v roce 1959 David Keilin (Wright, 2001). Kryptobióza je popisována jako zvrtný stav, ve kterém ustává metabolická aktivita (Bordenstein, 2014). Tento jev není typický jen pro želvušky, ale také pro řadu dalších organismů jako například vířníci, hlístice a někteří prvoci (Šatkauskienė, 2012). Živočich v tomto latentním stádiu nepřijímá potravu, neroste, nedochází k reprodukci a je pozastaven i proces stárnutí (senescence).

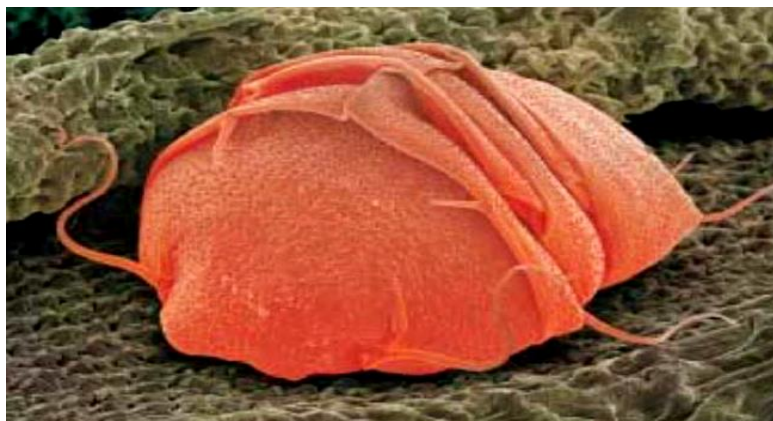
Při vstupu do kryptobiózy želvušky vytvářejí stádium, které je v anglickém jazyce označováno jako „tun“ a pro které český jazyk nemá plně ekvivalentní pojem. Nejblíže je mu označení „stádium soudku“ (viz obrázek 14 a 15). Tento útvar je drobného soudkovitého tvaru o velikosti asi jedné třetiny původní velikosti živočicha. Tělo se složí a jeho přívěsky jsou staženy dovnitř. V takovémto stavu je ztráta tělních tekutin větší než 95% (Bertolani, a další, 2004). Vosková vrstva kutikuly je vytlačována na povrch, čímž chrání živočicha před větší ztrátou vody, ale i přes tento druh ochrany dochází při kryptobióze ke snížení obsahu vody až na 1% (Lindahl, a další, 1999).



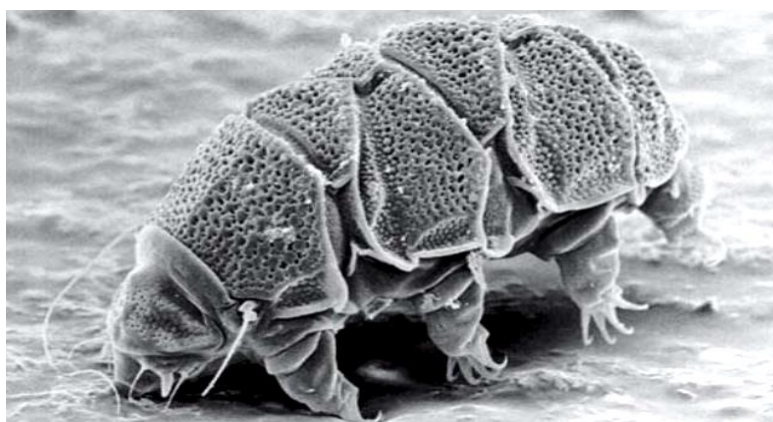
Obrázek 15: Stádium soudku želvušky rodu *Macrobiotus* (Ramazzotti, a další, 1983).

Bylo prokázáno, že želvušky, které jsou schopny výraznějšího zmenšení původního objemu a tím i větší redukce povrchu svého těla, vykazují vyšší schopnost přežití (Wright, 1991). To znamená, že druhy s tvrdými a tlustými dorzálními pláty (viz obrázek 17) na povrchu těla, tedy především zástupci třídy Heterotardigrada, jsou v tomto ohledu znevýhodněni. Jak Wright posléze prokázal, druh *Echiniscus testudo* vykazoval jen minimální schopnost redukce povrchu svého těla (viz obrázek 16).

Nutno také podotknout, že kryptobiózy nejsou schopny všechny druhy želvušek. Kryptobiotické druhy se vyskytují u všech čeledí želvušek patřících do třídy Eutardigrada, kdežto u třídy Heterotardigrada byla kryptobióza zaznamenána jen u řádu Echiniscoidea (Guidetti, a další, 2011).



Obrázek 14: *Echiniscus testudo* – tun formace (převzato ze Science Photo Library).



Obrázek 17: *Echiniscus maucii* s výraznými dorzálními pláty (fotografie Diane Nelson a Paul Bartels).

Kryptobiotická stádia jsou velmi významným přizpůsobením, které organismům umožňuje přežít nepříznivé podmínky prostředí. Odolnost vůči environmentálním extrémům jako je zima, vysoká salinita, sucho, teplo a působení chemických látek či radiace se po vstupu do kryptobiózy výrazně zvyšuje (Nelson, a další, 2000).

Kryptobióza má řadu selektivních výhod. První z nich umožňuje živočichům využít nových ekologických mezer v prostředí. Zejména, vezmeme-li v úvahu, že jsou želvušky z podstaty vodními živočichy, jim tato výhoda dovoluje osídlit rozsáhlá suchozemská prostředí.

Za druhé kryptobióza slouží ke snížení počtu konkurentů, predátorů a parazitů, protože extrémní prostředí jsou kolonizována jen omezeným počtem druhů, u kterých se vyvinuly adaptační strategie (Guidetti, a další, 2011).

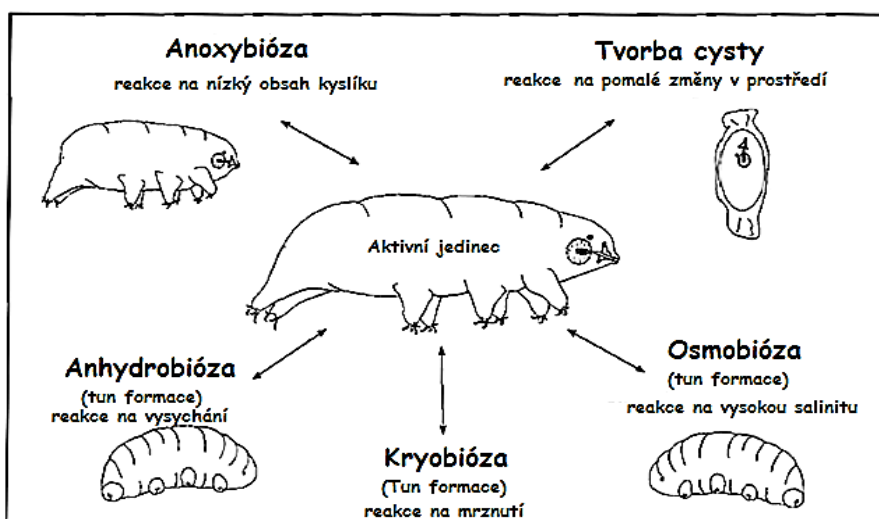
Třetí výhodou představuje únik v čase, který je příliš nehostinný pro aktivní život. Kryptobióza je protikladem schopnosti některých živočichů migrovat ze stanovišť s nepříznivými podmínkami (Jönsson, 2005). A v poslední řadě se v novějších výzkumech

hovoří o schopnosti disperze želvušek a způsobu osidlování nových prostředí. Jedinci nacházející se v tun formaci mohou překonávat fyzické překážky, které by aktivní živočichové nemohli snést, tudíž i osidlovat nové a nehostinné ekosystémy. V této souvislosti je zkoumána možnost rozptylu želvušek pomocí větru tak, jak je to možno u dalších kryptobiotických organismů (Guidetti, a další, 2011).

Přestože tun formace želvušky činí velmi odolnými vůči okolním vlivům, je i zde řada faktorů, které je mohou ohrozit na životě. Pravděpodobně největším rizikem kryptobiózy samotné je hrozba poškození DNA volnými radikály a degenerace buněk (Rebecchi, a další, 2009). Čím delší dobu stráví želvušky v kryptobióze, tím vyšší je riziko poškození. Šance na úplné zotavení se s časem snižují.

Kryptobiózu lze rozdělit na čtyři typy: **anoxibiózu**, která je speciálním typem a nastává při nedostatku kyslíku; **anhydrobiózu**, pravděpodobně nejčastější druh, který se uplatňuje při vysychání prostředí; **osmobiózu**, kterou vyvolává vysoký obsah solí v okolním prostředí; **kryobiózu**, která je vázána na snížení teplot (viz obrázek 18).

Další adaptační strategií je **diapauza**. Jedná se o spontánní přerušení vývoje, které se vyznačuje snížením nebo úplným pozastavením metabolické aktivity. Nastává v okamžiku snížení tělních hormonů vlivem pomalých změn v prostředí, jako je změna délky dne, teploty nebo nedostatek potravy. Diapauza je typická pro řadu živočichů, převážně pro hmyz a roztoče (Encyclopædia Britannica, 2015). Želvušky při ní vytvářejí cystu. (Guidetti, a další, 2008).



Obrázek 15: Typy kryptobiózy známé u kmene Tardigrada (Miller, 2011).

6.1.1. Anhydrobióza

Nejčastějším druhem kryptobiózy je anhydrobióza. Je to stav způsobený dehydratací, při kterém živočich vysychá do rovnováhy s okolním mírně suchým až suchým vzduchem a po rehydrataci se opět vrací k aktivnímu životu. Vyschnutí je bezprostředně smrtelné pro většinu živočichů a rostlin a činí tak dostupnost vody jedním z nejdůležitějších ekologických faktorů. Anhydrobiotický stav je omezen jen na živočichy, kteří jsou menší než 1 mm délky, někteří jsou anhydrobiózy schopni jen ve svém juvenilním stádiu. Mezi živočichy je tolerance vůči vysychání známa jen u tří kmenů: hlístic, vírníků a želvušek (Alpert, 2005).

Pojem anhydrobióza je odvozen z řečtiny a doslova znamená „život bez vody“ (Rebecchi, a další, 2007). Technicky lze absolutní vyschnutí definovat jako vyschnutí na méně než $0,1\text{g H}_2\text{Og}^{-1}$ suché hmoty, což je ekvivalentní k suchému vzduchu 50% relativní vlhkosti při $20\text{ }^\circ\text{C}$ (Alpert, 2005).

Poprvé tento stav popsal v roce 1702 nizozemský přírodovědec a průkopník mikroskopie Anton van Leewenhoek. Sbíral suchý materiál ze střešního okapu, který rehydratoval a posléze v něm objevil několik drobných animakul, které se začaly ve zkoumané nádobě pohybovat. Animakuly, jak je Leewenhoek pojmenoval, byli ve skutečnosti vírníci ze třídy pijavenek, kteří se díky rehydrataci „probudili“ ze stavu anhydrobiózy (Rebecchi, a další, 2007).

Na tento objev navázal v roce 1743 Needham, který anhydrobiózu popsal u hlístic, a v roce 1778 Spallanzani, který tuto výjimečnou schopnost přežít vysušení objevil u želvušek (Wright, 2001).

Není náhodou, že řada experimentů se želvuškami probíhá s jedinci, kteří se nacházejí v anhydrobiotickém stavu. Tyto želvušky vykazují mimořádnou odolnost vůči fyzikálním i chemickým extrémům, jak je uvedeno výše (Jönsson, 2005). Anhydrobióza je charakteristická úplným nebo téměř úplným pozastavením měřitelného metabolismu. Takto inaktivní želvušky v ní dokážou setrvat po delší časové periody a poté se opět vrátit k aktivnímu způsobu života (Sømme, 1996).

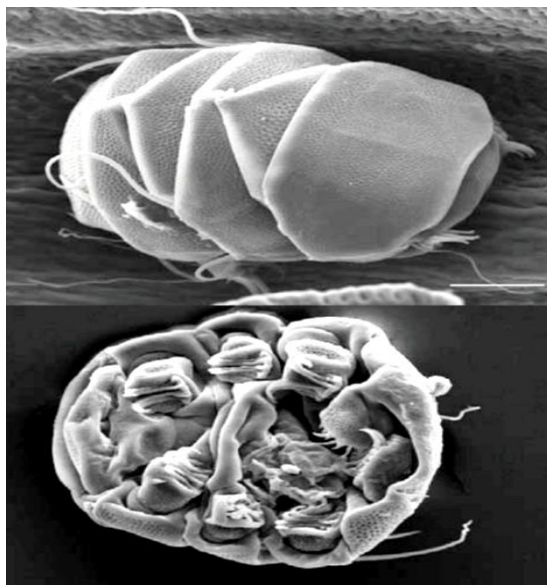
Želvuškám však musí být umožněno vysychat pomalu, aby se mohly na vstup do anabiotického stavu připravit (Crowe, 1972). Pozorování naznačují, že schopnost vstupu do anhydrobiózy a její úspěch souvisí s celkovým stavem živočicha,

především s dostatečnými zásobami vhodných lipidů. Přípravy na anhydrobiózu také vyžadují velké množství energie. Přestože jsou želvušky schopny opakovaných vstupů do tohoto latentního stavu, vždy potřebují čas k rekonvalescenci a vytvoření nových látkových a energetických zásob (Kinchin, 2008).

Želvušky vstupují do stavu anhydrobiózy v reakci na pokles vlhkosti okolního prostředí pod kritickou hranici, která se může u každého jedince různit. Mezidruhové srovnání prováděné Wrightem (1989) ukázalo, že se míra tolerance vysychání i stupeň vlhkosti, při které je vstup do anhydrobiózy iniciován, mezi jednotlivými druhy liší. Pozdější výzkumy Jönssona (2001) prokázaly také rozdílnost mezi jednotlivými živočichy stejného druhu. Obvykle se však hodnoty, při kterých želvušky vstupují do anhydrobiózy, pohybují v rozpětí 53–80% poklesu relativní vlhkosti (Wright, 1991).

Vstupu do anhydrobiózy předchází tvorba tun formace (Welnicz, a další, 2011). Při její tvorbě dochází k smrštění kutikuly a tím snižování velikosti povrchu těla přibližně na polovinu původní velikosti živočicha a invaginaci lobopodních končetin. Mezi schopností tolerance vysychání a efektivitou zmenšení povrchu těla byla prokázána korelace – želvušky třídy Eutardigrada mají vysokou efektivitu smrštění kutikuly, zatímco želvušky ze třídy Heterotardigrada s kutikulou vyztuženou pláty ji mají nižší (Jönsson, 2001). Tun formace chrání vnitřní orgány a také představuje strukturní adaptaci na vysychání, která ovlivňuje propustnost povrchu těla želvušky.

Vytvoření tohoto stádia snižuje odpar vody a zabraňuje vysoké propustnosti kutikuly, která je v přímém kontaktu s okolním prostředím. Záhyby kutikuly, které jsou místem ohybu, mají tenčí povrch a jsou tedy propustnější. Tělo želvušek se při tvorbě tun formace smršťuje (viz obrázek 19), přičemž dochází k vtažení těchto oblastí blíže k tělu živočicha, což má za následek snížení ztrát tělních tekutin (Crowe, 1972).



Obrázek 16: Heterotardigradní zástupce druhu *Echiniscus trisetosus* tvořící tun formaci (Bertolani, a další, 2004).

Po prvotní rychlé dehydrataci dochází během indukce anhydrobiotického stavu, ale až po vytvoření tun formace, k prudkému snížení propustnosti kutikuly želvušek (Wright, 1989). Tento významný pokles propustnosti je vyvolaný dehydratací kutikuly. Zamezuje dalším ztrátám vody transpirací a umožňuje tak želvuškám ponechat si dostatek tekutin pro udržení metabolických procesů jako např. tvorba bioprotektantů (Wright, 1988).

Druhy více odolné vůči vysychání iniciují prudký pokles propustnosti své kutikuly dříve, čímž si po vytvoření tun formace uchovávají více vody. Množství ztráty vody po snížení propustnosti kutikuly se mezidruhově neliší, odlišná je však doba iniciace změny propustnosti kutikuly.

Dříve se proměňující druhy si zachovávají větší množství vody, což jim poskytuje více času k metabolické přípravě na vstup do anhydrobiózy (Jönsson, 2001). Tvorba tun formace vyžaduje aktivní metabolismus. Narkotizovaní jedinci, vystavení suchu, se pouze oploští nebo svraští a následně umírají (Crowe, 1972).

Biochemické principy přežití v anhydrobiotickém stavu

Anhydrobiotické organismy jsou schopny úspěšného zotavení z extrémních stresových situací spojených s absolutní dehydratací. Tato schopnost zahrnuje zachování membránových struktur a látek nezbytných pro buněčnou, tkáňovou a orgánovou integritu i opravy DNA a katabolizaci poškozených proteinů a lipidů (Clegg, 2001). Schopnost tolerance absence vody je spojena se syntézou bioprotektantů a také aktivací antioxidantů a *heat shock* proteinů (Rizzo, a další, 2010).

Akumulace sacharidů o nízké molekulární hmotnosti se zdá být dobrým způsobem, jak uchovat vysušené buňky a zvýšit úspěšnost přežití v průběhu anhydrobiózy (Jönsson, a další, 2001).

Jedním z těchto sacharidů je trehalosa (TRH). Je to neredukující se disacharid tvořený dvěma glukózovými jednotkami spojenými 1–1 glykosidovou vazbou. Přirozeně se vyskytuje také v kvasnicích nebo houbách. Syntetizuje se nejen ve stresových situacích jako je anhydrobióza, ale také u dalších kryptobiotických stavů, např. při nepříznivých osmotických nebo teplotních podmínkách. Výzkum Pereiry a spolupracovníků (2004) odhalil působení trehalosy na fosfolipidovou dvojvrstvu membrány. Trehalosa nahrazuje vodu z membrán, o kterou buňky přišly vlivem vysychání, a vytváří vodíkové můstky, které stabilizují membrány, čímž umožňuje zachování integrity buněk v suchém stavu. Tento výzkum představil hlavní hypotézu interakce mezi membránami a trehalosou.

Na uvedenou problematiku ovšem existuje více rozdílných názorů, tudíž bude třeba dalších výzkumů k objasnění biochemických mechanismů, které se při procesu vysychání uplatňují.

Není také zcela jasné, jak se trehalosa uplatňuje u různých organismů. Přestože je přítomna u velké řady anhydrobiotických organismů, zdaleka není přítomna u všech. Výzkum Hengherra a kolegů (2008) ukázal, že pouze sedm z osmi zkoumaných želvušek obsahovalo trehalosu, avšak pouze u jediného druhu náležícího čeledi Macrobiotidae bylo prokázáno výraznější zvýšení její hladiny ve spojitosti s vysycháním. U třídy Heterotardigrada a rovněž u druhu *Milnesium tardigradum* patřícího do třídy Eutardigrada nebyla trehalosa prokázána vůbec. Tato zjištění poukazují na vývoj hned několika způsobů, jak mohou želvušky tolerovat vysychání (Jönsson, a další, 2010).

Kromě stabilizace membrán se trehalosa také podílí na stabilizaci proteinů a nukleových kyselin. Umožňuje tak organismu přežít potenciálně ničivé podmínky.

Heat shock proteiny (označované také jako Hs proteiny), běžně rovněž nazývané stresové proteiny, se vyskytují nejen u želvušek, ale také v řadě dalších organismů. U kmene *Tardigrada* se uplatňuje stresový protein Hps70, který se v jejich tělech akumuluje ve větší míře především během rehydratace. To naznačuje, že se podílí spíše na opravných procesech po vyschnutí než na samotné stabilizaci organismu během vysychání (Schill, a další, 2009).

6.1.2. Anoxybióza

Anoxybióza je kryptobiotický stav vyvolaný nízkou hladinou kyslíku v okolním prostředí (vodě) (Lindahl, a další, 1999). Technicky vzato není anoxybióza pravou formou kryptobiózy, jelikož se při ní netvoří tun formace jako u jiných anabiotických stavů. Také mechanismus uchovávání vody se odlišuje od ostatních typů anabiózy – jedná se o pravý opak anhydrobiózy, při které se voda z buněk organismu ztrácí. Zajímavostí je, že vstupu do anoxybiózy jsou schopni i jedinci, kteří právě svlékají kutikulu.

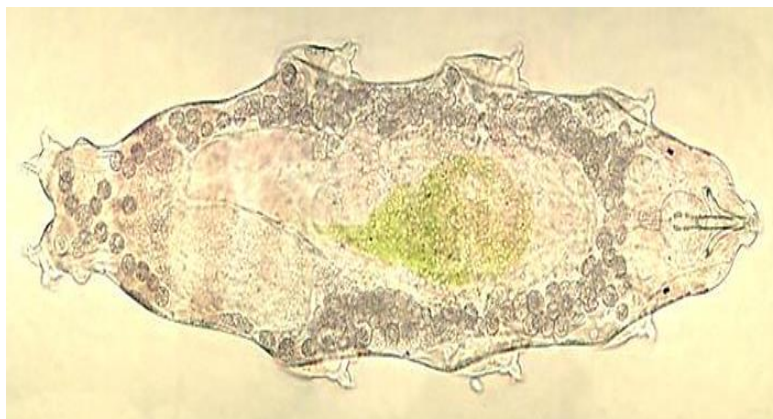
Želvušky jsou velmi citlivé na změny koncentrace kyslíku a jeho dlouhodobější výrazný nedostatek u nich vede k asfyxii¹, která se projevuje neschopností řízení osmoregulace. Vlivem selhání této funkce do buněk organismu vstupuje přes kutikulu velké množství vody, což má za následek celkové zduření těla želvušky a živočich se tak stává zcela nepohyblivým. V tomto stavu dochází k uvolnění svalstva a želvušky se stávají pod mikroskopem snadno rozpoznatelnými, což můžeme pozorovat na obrázku 20 (Mach, 2014).

Názory autorů na úspěšnost zotavení po asfyxii jsou velmi odlišné. Obvykle uváděná doba, po kterou mohou želvušky v anoxybióze setrvat, se pohybuje mezi třemi až pěti dny (Mach, 2014). Jiní odborníci se na základě pokusů s rodem *Echiniscoides* domnívají, že v uzavřené nádobě je možné přežití až po dobu šesti měsíců (Glime, 2013).

Reálná doba se však pravděpodobně pohybuje pouze v rozpětí několika hodin, maximálně do tří dnů. Návrat do aktivního stádia je vyvoláván obohacením vody kyslíkem a trvá několik minut.

¹ Asfyxie – dušení způsobené nedostatkem kyslíku, při kterém želvuška upadá do koma a stává se zcela nepohyblivou.

Želvušky, které byly ve stavu asfyxie, se po zlepšení podmínek buďto ihned vrátí do aktivního života nebo zůstávají v pasivním, nehybném stavu po různou dobu. Časové rozpětí rekonvalescence je závislé na době, po kterou se živočich nacházel ve stavu anoxybiózy (Nelson, a další, 2000).



Obrázek 17: Želvuška třídy Eutardigrada nacházející se v anoxybióze (dorzální pohled) (Mach, 2014).

6.1.3. Osmobióza

Osmobióza je druh kryptobiózy, který nastává, je-li koncentrace solí v okolí vyšší než uvnitř organismu želvušky. Nárůst vnější koncentrace anorganických iontů funguje jako signál pro organismus, aby se začal připravovat na vstup do osmobiózy (Bjørn-Mortensen, 2006). Želvušky upadající do tohoto stavu vytváří stejně jako v případě anhydrobiózy tun formaci. (Wright, a další, 1992).

Osmobióza zatím není popsána tak dobře jako ostatní kryptobiotické stavy především proto, že pro želvušky není vstup do tohoto stavu ve většině případů nezbytný, jelikož většina z nich má vysokou toleranci salinity přirozeně (Glime, 2013). Není ani známa maximální doba přežívání želvušek v hyperosmotickém médiu. Většina zkoumání osmobiózy byla provedena na hlísticích, u kterých bylo popsáno vytváření trehalosy při vyšší koncentraci salinity v okolním prostředí (Watanabe, a další, 2003).

6.1.4. Kryobióza

Kolonizace prostředí, pro které jsou typické velmi nízké teploty, vyžaduje určité adaptace, které snižují dopad chladu na organismus. U řady živočichů se proto vyvinuly adaptace, které zvyšují šanci na přežití v teplotně nehostinných oblastech (Hengherr, a další, 2010).

Jedním z takových organismů jsou i želvušky, které, aby se vyhnuly negativním dopadům mrazu, jsou schopny vstoupit do stavu kryobiózy. Kryobióza je dalším druhem kryptobiózy. Při snížení teplot v okolí ustává molekulární aktivita organismu, což umožňuje želvuškám tyto nepříznivé podmínky přečkat a vrátit se k aktivnímu životu až ve chvíli, kdy dojde ke zlepšení podmínek (McInnes, a další, 1998).

Želvušky jsou považovány za mráz tolerující organismy. Jsou schopny snášet extracelulární zmrznutí (Wright, 2001). Vlivem vymrznání vody do ledových krystalků se při něm koncentrace extracelulární tekutiny zvyšuje, což vede k osmotické dehydrataci (Hengherr, a další, 2010). Zde můžeme najít souvislost s anhydrobiotickým stavem, u kterého taktéž dochází k dehydrataci. Výzkumy také ukázaly, že schopnost přežít zmrznutí je úzce spjata právě se schopností přežít dehydrataci organismu. Druhy želvušek neschopné dehydratace mají jen malou, obvykle však žádnou schopnost kryobiózy (Guidetti, a další, 2011).

Detaily biochemických a fyziologických procesů uplatňovaných při kryobióze nebyly ještě zcela odhaleny. Výzkumy prováděné na třídě Eutardigrada však naznačují, že hlavní roli hrají látky schopné vyvolávat tvorbu ledových krystalků (tzv. „ice nucleating agents“). Tyto látky jsou podobné proteinům, které byly nalezeny u dalších živočichů tolerujících zmrznutí (Westh, a další, 1991). Jsou umístěny vně buněk a fungují jako „magnety“, které přitahují vodu ven z buněk. K tomuto procesu dochází již při relativně vysokých teplotách blízkých se nule (-5 až -10 °C). To vede k pomalému procesu tvorby ledu, při němž může být růst ledových krystalků kontrolován, což má za následek vznik menších a potenciálně méně škodlivých krystalků ledu (Hengherr, a další, 2010).

Jako antioxidant, který zabraňuje poškození buněk a DNA, je zde uplatňován glycerol. Želvušky mohou bez následků přežít v kryptobiotickém stavu desetiletí a poté se vrátit k aktivnímu životu (Glime, 2013).

Příčina smrti při kryobióze je připisována několika faktorům:

Při rapidním mrazu může dojít k fyzickému poškození nebo k přerušení určitých biochemických a fyziologických procesů. Rychlé ochlazení vede k poruše syntézy tzv. kryoprotektantů, které hrají významnou roli v ochraně želvušky před nízkými teplotami.

Živočich nemusí mít dostatek energie k řízení metabolických procesů potřebných k přežití (Rizzo, a další, 2010).

Může dojít k poškození buněk a DNA vlivem působení volných radikálů (Halberg, a další, 2009).

Úspěšnost přežití v kryobiotickém stavu také závisí na typu prostředí. Na rozdíl od vodního prostředí půda, mechy a lišejníky mohou poskytnout želvuškám více času připravit si fyziologické adaptace pro vstup do kryobiózy (Sømme, a další, 1995). Rychlost ochlazování, jak prokázal Guidetti s kolegy (2011) ve svých pokusech, také negativně ovlivňuje rychlost rekonvalescence a návratu želvušek z kryobiotického stavu. Tato studie prokázala různou míru kryobiotické schopnosti testovaných vzorků želvušek zmrazených v aktivním hydratovaném stavu. Tyto rozdíly jsou pravděpodobně spojeny s typem substrátu, ve kterém se živočichové vyskytují. Druhy želvušek žijící v meších a lišejnících vykazují vyšší míru odolnosti než druhy vodní. Substráty želvušky chrání před rychlým zmrznutím, které by organismus mohlo ohrozit na životě. Obecně platí, že nastupují-li nepříznivé podmínky postupně, živočichové mají větší šanci na přežití. Tyto poznatky spolu s testy na želvuškách pocházejících z rozdílných teplotních pásem vedly Guidettiho k závěru, že schopnost anabiózy je ovlivněna selektivními tlaky spojenými s adaptací na vlastnosti prostředí a nikoli samotným původem jednotlivých druhů.

7. Ekologie

Kmen Tardigrada je rozšířen kosmopolitně. Obývá stanoviště po celém světě, a to především díky své odolnosti (Nelson, 2002). Přestože všechny aktivní želvušky vyžadují ke svému životu vodu, prostředí, ve kterých žijí, můžeme obecně rozdělit na: terestrické, sladkovodní a mořské (Nelson, a další, 2000).

Největší počet druhů obývá terestrická prostředí, jako jsou mechy, lišejníky, listová hrabanka a půdy. Želvušky jsou sbírány především z mechů a lišejníků, avšak komunita želvušek sídlících v listové hrabance bývá často početnější a je charakteristická vysokou druhovou diverzitou. Hustota želvušek v půdě je také vysoká – pohybuje se v rozmezí od 300 do 33600 jedinců na m² (Hohberg, 2006). Velmi vhodné prostředí pro želvušky poskytují stromy. Redukují ztráty vody a stíní mechovou či lišejníkovou faunu před přímým sluncem (Glime, 2013).

Sladkovodní želvušky se vyskytují v jezerech, rybnících, pramenech, potocích i dočasných vodních plochách. Obývají lentická i lotická stanoviště. Obvykle jsou bentické, pohybují se na vegetaci vod nebo v substrátech dna. Existují ale i jedinci, kteří byli sbíráni z jezer až v hloubce 150 m (Ramazzotti, a další, 1983). Sladkovodní želvušky jsou méně početnou součástí fauny sedimentů. Často představují méně než 1% bezobratlých živočichů ve sladkých vodách (Strayer, a další, 1994). V písčitéch sedimentech se počet zastoupených želvušek s hloubkou zvyšuje, mohou dominovat meiofauně v hlubších sedimentech s redukčním prostředím (Nalepa, a další, 1981).

Mořské želvušky obývají všechna moře – od intertidálních zón až po hlubiny. V Indickém oceánu byly želvušky nalezeny ve hloubce -4690 metrů (Nelson, 2002). V intertidální zóně želvušky obývají písčité či kamenité pobřeží, kde pobývají na řasách a svijonožcích (Grimaldi, a další, 2000). Když nastane odliv, želvušky se uchylují ke krátkodobému stavu kryptobiózy nebo jsou schopny přesunu do míst, která obsahují vodu. V subtidálních zónách se želvušky nacházejí na všech typech substrátu. Některé druhy jsou semi-bentické a občas se vyskytují ve vodním sloupci, zatímco jiné se nacházejí na dně v kalu, na řasách nebo korálech (Nelson, 2002).

I v arktických oblastech se můžeme setkat s několika druhy želvušek. Obvykle jsou bentické a žijí na mořských řasách. Specializovaným stanovištěm arktických želvušek jsou kryonitové² otvory v ledovcích, které vznikly absorpcí tepla vzniklého povrchovou akumulací. Toto prostředí poskytuje útočiště nejen želvuškám, které se živí zde přítomnou mikroflórou, ale také vířníkům (Nelson, a další, 2000).

Ačkoliv by želvušky pravděpodobně nikdo v suchých pouštních oblastech nehledal, vyskytují se zde také. Pro tato místa jsou typické dlouhé periody sucha střídající se s občasnými obdobími vlhka, proto jsou vhodná pro želvušky, které zde žijí na meších, řasách nebo lišejnících (Glime, 2013).

Distribuce a hustota populací želvušek je vysoce variabilní. I přes jejich kosmopolitní rozšíření a široké spektrum obývaných ekosystémů je tak velmi snadné najít nové druhy. Jejich distribuci ovlivňuje řada faktorů, kterými jsou především vlhkost, znečištění, struktura půdy a dostupnost potravy (Ramazzotti, a další, 1983). Zda má vliv na hustotu populací želvušek roční období, zatím není zcela jasné. Názory na tuto problematiku se mezi autory liší.

Predátoři lovící želvušky zahrnují hlístice, roztoče, pavouky, larvy hmyzu a jiné želvušky. Dochází také k pozření ekosystémovými spásací, jako jsou členovci, žížaly a sladkovodní korýši (Nelson, a další, 2000). Populace želvušek jsou často infikovány parazitickými houbami (viz obrázek 21) a prvoky. Přestože jsou želvušky považovány za jedny z nejdolnějších živočichů, kromě predátorů a parazitů pro ně představuje nebezpečí také okolní znečištění. Stejně jako mechorosty a lišejníky můžeme i želvušky v nich žijící označit za bioindikátory (Glime, 2013). Ohrožení představuje znečištěný vzduch, kyselé deště a přítomnost těžkých kovů.

² Kryonit – meteoritický prach na ledovcích v polárních a vysokohorských oblastech.



Obrázek 21: Zygospory parazitické houby *Ballocephala sphaerospora* uvnitř těla želvušky (fotografie George Barron).

Nejčastějším způsobem rozptýlení želvušek na nová stanoviště je přesun pomocí větru (Nelson, 2002). Aktivní jedinci se ale nešíří větrem lehce, pravděpodobně se tedy želvušky rozšiřují především vajíčky, která jsou podobné velikosti jako zrnko pylu, a jedinci v kryptobiotickém stavu v tun formaci. Dalšími možnými faktory způsobujícími disperzi želvušek z místa na místo jsou voda, hmyz nebo jiní bezobratlí (Glime, 2013).

8. Sběr želvušek

Nejlepším zdrojem želvušek je mech rostoucí na kůře živých stromů, lišejníky nebo listová hrabanka. Mech rostoucí na skalách je také bohatým zdrojem, ale obsahuje velké množství nečistot (Romano, 2003). Odběr vzorků limno-terestrických želvušek je v literatuře popisován jako velmi snadný, záleží ale na lokalitě a typu vzorku. Želvušky se nevyskytují ve všech typech mechu a často může být velmi obtížné najít lokalitu, kde je jejich výskyt hojný. Jakmile ale najdeme zdroj želvušek, je tato aktivita snadná a proto se hodí i ke školním pokusům. Vyučující musí předem otestovat, odkud želvušky se studenty odebrat.

K oddělení želvušek od substrátu je možno využít několika metod. Nejsnadnější metodou je nasbírané vzorky mechu namočit do vody a nechat je přes noc nebo alespoň několik hodin odstát. Poté stačí mech vyždímat do jiné nádoby, aby se z něj želvušky uvolnily. Takto získaný vzorek lze pozorovat pod mikroskopem, přičemž je vždy vhodné začít s nejmenším rozlišením (např. 4/0,10).

Osobně se mi nejlépe osvědčila metoda s využitím tzv. Baermanovy nálevky (viz obrázek 23), díky které lze získat „čistší“ vzorek než při pouhému vyždímání mechu, při němž se do sběrné nádoby uvolňují drobné kamínky a mechové lístky (Devetter, 2010). K její výrobě postačí několik základních pomůcek, které je možné zakoupit ve všech prodejnách s domácími potřebami. Lze ji sestavit z několika komponentů: jemné plastové sítko, filtrační papír nebo buničina, plastová nebo skleněná nálevka, gumová hadička a nádobka, ve které se budou koncentrovat želvušky (viz obrázek 22). K následnému pozorování želvušek je nezbytný mikroskop.



Obrázek 22: Potřeby ke sběru želvušek a sestavení Baermanovy nálevky.

Do sítka pod vzorek mechu vložíme buničinu nebo filtrační papír, který zadrží případné nečistoty. Takto připravené sítko položíme do nálevky, na jejímž konci je připevněna gumová trubice, která vede do pečlivě upevněné nádoby (viz obrázek 23). Sestavená Baermanova nálevka se naplní vodou tak, aby byl mech zcela ponořen, a nechá se stát na klidném místě nejvýše 24 hodin. Živočichové (želvušky, ale také vířníci a hlístice) se pak díky vlastnímu pohybu a hmotnosti dostávají do vody, kterou „putují“ až do sběrné nádoby. Takto získaný vzorek pozorujeme pod mikroskopem.



Obrázek 23: „Domácí“ varianta Baermanovy nálevky.

9. Závěr

Ve své bakalářské práci jsem se věnovala želvuškám (Tardigrada) a jejich schopnosti přežít v extrémních podmínkách.

Želvušky, jejichž příbuznými jsou členovci a drápkovci, představují živočišný kmen čítající přibližně tisíc druhů. Lze je rozdělit do dvou tříd: Heterotardigrada a Eutardigrada. Hlavním determinačním znakem, na jehož základě lze tyto třídy rozlišit, je struktura kutikuly kryjící povrch těla. Želvušky heterotardigrádní mají kutikulu vyztuženou obrněnými pláty, zatímco kutikula želvušek eutardigrádních je hladká.

Tělo želvušek je rozděleno do pěti segmentů: první hlavový, tři tělní a jeden terminální segment. Na tělní a terminální segmenty jsou připojeny čtyři páry lobopodních končetin zakončených drápkou. Nervová soustava je uložena ventrálně v hemocoelové dutině a sestává z břišního provazce s postranními ganglii. Trávicí soustava je průchodná. Rozmnožování je uskutečňováno především partenogeneticky.

Želvušky si vyvinuly adaptační strategie, díky kterým přežívají fyzikální i chemické extrémy, jako jsou vysoké teploty, radiace nebo vakuum. Jednou z těchto strategií je kryptobióza, při které želvušky tvoří stádium označované jako „tun“. Kryptobiózu lze rozdělit na čtyři typy: anhydrobiózu – nejčastější druh, který se uplatňuje při vysychání prostředí; kryobiózu, která je vázána na snížení teplot; osmobiózu, která je vyvolána vysokou salinitou v okolním prostředí; anoxybiózu, která je speciálním typem (želvušky při ní netvoří stádium soudku) a nastává při nedostatku kyslíku.

Želvušky jsou díky své vysoké odolnosti rozšířeny kosmopolitně po celém světě. Osídlují řadu různorodých ekosystémů od lesů, přes moře, jezera, až po antarktické oblasti. Ke svému aktivnímu životu však vždy vyžadují alespoň tenký vodní film. Nejhojnější jsou na výskyt želvušek mechy, zastoupeny jsou však i v lišejnících, půdě a listové hrabance. Odtud lze jedince sbírat a následně za pomoci Baermanovy nálevky extrahovat k následnému pozorování.

10. Bibliografie

Alpert, P. 2005. The Limits and Frontiers of Desiccation Tolerant Life. *Integrative and Comparative Biology*. 5, Sv. 45, stránky 685–695.

Altiero, T., Guidetti, R., Caselli, V., Cesari, M. a Rebecchi, L. 2011. Ultraviolet radiation tolerance in hydrated and desiccated eutardigrades. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*. s1, Sv. 49, stránky 104–110.

Altiero, T., Bertolani, R. a Rebecchi, L. 2009. Hatching phenology and resting eggs in tardigrades. *Journal of Zoology*. 3, Sv. 280, stránky 290–296.

Baumann, H. 1961. Der Lebenslauf von *Hypsibius* (H.) *convergens* Urbanowicz (Tardigrada). *Zoologischer Anzeiger*. Sv. 167, stránky 362–381. Citováno z: **Mach, M.**

2014. Bärtierchen. [Online] [Citace: 23. prosinec 2014.]

<http://www.baertierchen.de/wbwb.html>.

Bertolani, R. 2001. Evolution of the Reproductive Mechanisms in Tardigrades – A Review. *Zoologischer Anzeiger*. 3–4, Sv. 240, stránky 247–252.

Bertolani, R., Guidetti, R., Jönsson, I. K., Altiero, T., Boschini, D. a Rebecchi, L. 2004. Experiences with dormancy in tardigrades. *The Journal of Limnology*. Sv. 63, stránky 16–25.

Biodiversity Institute of Ontario a Hebert, P. D. N. 2008. *Tardigrada*. [Online] 25. srpen 2008. [Citace: 5. únor 2015.] <http://www.eoearth.org/view/article/156414/>.

Bjørn-Mortensen, M. 2006. Osmoregulation and osmobiosis in the eutardigrade *Richtersius coronifer*. Institute for Biology and Chemistry.

Bordenstein, S. 2014. Microbial Life. *Tardigrades (Water Bears)*. [Online] 2014. [Citace: 11. listopad 2014.] <http://serc.carleton.edu/microbelife/topics/tardigrade/index.html>.

Clegg, J. S. 2001. Cryptobiosis – a peculiar state of biological organization. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 4, Sv. 128, stránky 613–624.

Clothier, G. W. 1963. Water Bears. *Bios*. 3, Sv. 34, stránky 121–128.

Copley, J. 1999. Indestructible. *New Scientist*. 2209, stránky 44–46.

Crowe, J. H. 1972. Evaporative Water Loss by Tardigrades under Controlled Relative Humidities. *The Biological Bulletin*. 3, Sv. 142, stránky 407–416.

- Czerneková, M. 2011.** „Pomalé“ želvušky a jejich rozmnožování. *Živa*. Sv. 6, str. 285.
- Devetter, M. 2010.** Akvatická fauna v půdním prostředí – jak ji pozorovat? *Živa*. Sv. 2, str. 94.
- Dunn, C. W., a další. 2014.** Animal Phylogeny and Its Evolutionary Implications. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. Sv. 45, stránky 371–395.
- Encyclopædia Britannica, 2015.** Diapause. [Online] [Citace: 31. březen 2015.]
<http://www.britannica.com/EBchecked/topic/161575/diapause>
- Faltus, Z. 2013.** Přehled jednotek tlaku. [Online] 25. březen 2013. [Citace: 27. říjen 2014.]
http://www.bdsensors.cz/fileadmin/user_upload/05_Kalibrace/Prehled_jednotek_tlaku.pdf.
- Gagy-Palfy, A. a Stoian, L. C. 2011.** A short review on tardigrades – some lesser known taxa of polyextremophilic invertebrates. *Extreme Life, Biospeology & Astrobiology Journal*. 1, Sv. 3.
- Glime, J. 2013.** *Bryophyte Ecology*. Sv. 2. Bryological Interactions, E-book. Michigan Technological University and the International Association of Bryologists.
- Greven, H. 2007.** Comments on the eyes of tardigrades. *Arthropod Structure & Development*. 4, Sv. 36, stránky 401–407.
- Grimaldi, S., D'Addabbo, M. G. a Pietanza, R. 2000.** Two new sub-Antarctic Echiniscoididae from Marion Island (Heterotardigrada, Echiniscoidea). *Italian Journal of Zoology*. Sv. 67, 2, stránky 221–228.
- Guidetti, R., Boschini, D., Altiero, T., Bertolani, R., & Rebecchi, L. 2008.** Diapause in tardigrades: a study of factors involved in encystment. *Journal of Experimental Biology*. 14, Sv. 211, stránky 2296–2302.
- Guidetti, R., Altiero, T., Bertolani, R., Grazioso, P. a Rebecchi, L. 2011.** Survival of freezing by hydrated tardigrades inhabiting terrestrial and freshwater habitats. *Zoology*. 2, Sv. 114, stránky 123–128.
- Guidetti, R., Altiero, T. a Rebecchi, L. 2011.** On dormancy strategies in tardigrades. *Journal of Insect Physiology*. 5, Sv. 57, stránky 567–576.

- Guidetti, R., Rizzo, A. M., Altiero, T. a Rebecchi, L. 2012.** What can we learn from the toughest animals of the Earth? Water bears (tardigrades) as multicellular model organisms in order to perform scientific preparations for lunar exploration. *Planetary and Space Science*. 1, Sv. 74, stránky 97–102.
- Halberg, K. A., Persson, D., Ramløy, H., Westh, P., Kristensen, R. M. a Møbjerg, N. 2009.** Cyclomorphosis in Tardigrada: adaptation to environmental constraints. *The Journal of Experimental Biology*. 17, Sv. 212, stránky 2803–2811.
- Hengherr, S., Heyer, A. G., Köhler, H. R. a Schill, R. O. 2008.** Trehalose and anhydrobiosis in tardigrades – evidence for divergence in responses to dehydration. *FEBS Journal*. 2, Sv. 275, stránky 281–288.
- Hengherr, S., Reuner, A., Brümmer, F. a Schill, R. O. 2010.** Ice crystallization and freeze tolerance in embryonic stages of the tardigrade *Milnesium tardigradum*. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 1, Sv. A 156, stránky 151–155.
- Hohberg, K. 2006.** Tardigrade species composition in young soils and some aspects on life history of *Macrobiotus richtersi* J. Murray, 1911. *Pedobiologia*. Sv. 50, 3, stránky 267–274.
- Jönsson, I. K. 2001.** The nature of selection on anhydrobiotic capacity in tardigrades. *Zoologischer Anzeiger*. 3–4, Sv. 240, stránky 409–417.
- Jönsson, I. K., Borsari, S. a Rebecchi, L. 2001.** Anhydrobiotic Survival in Populations of the Tardigrades *Richtersius coronifer* and *Ramazzottius oberhaeuseri* from Italy and Sweden. *Zoologischer Anzeiger*. 3–4, Sv. 240, stránky 419–423.
- Jönsson, I. K. 2005.** The Evolution of Life Histories in Holo-anhydrobiotic Animals: A First Approach. *Integrative and Comparative Biology*. 5, Sv. 45, stránky 764–770.
- Jönsson, I. K., Harms-Ringdahl, M. a Torudd, J. 2005.** Radiation tolerance in the eutardigrade *Richtersius coronifer*. *International Journal of Radiation Biology*. 9, Sv. 81, stránky 649–656.
- Jönsson, I. K., Rabbow, E., Schill, R. O., Harms-Ringdahl, M. a Rettberg, P. 2008.** Tardigrades survive exposure to space in low Earth orbit. *Current Biology*. 17, Sv. 18, stránky R729–R731.

- Jönsson, I. K. a Persson, O. 2010.** Trehalose in Three Species of Desiccation Tolerant Tardigrades. *Open Zoology Journal*. Sv. 3, stránky 1–5 .
- Jørgensen, A. a Kristensen, R. M. 2004.** Molecular phylogeny of Tardigrada – investigation of the monophyly of Heterotardigrada. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. Sv. 32, 2, stránky 666–670.
- Jørgensen, A., Faurby, S., Hansen, J. G., Møbjerg, N. a Kristensen, R. M. 2010.** Molecular phylogeny of Arthrotardigrada (Tardigrada). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 3, Sv. 54, stránky 1006–1015.
- Kinchin, I. M. 2008.** Tardigrades and anhydrobiosis: Water bears and water loss. *The Biochemist*. 4, Sv. 30, stránky 18–20.
- Lindahl, K. a Balsler, S. 1999.** Species Distribution Project. *Tardigrade Facts*. [Online] 2. listopad 1999. [Citace: 30. září 2014.] http://sun.iwu.edu/~tardisd/tardigrade_facts.html
- Mach, M. 2014.** Bärtierchen. [Online] [Citace: 12. říjen 2014.] <http://www.baertierchen.de/wbwb.html>.
- Marley, N. J., McInnes, S. J. a Sands, Ch. J. 2011.** Phylum Tardigrada: A re-evaluation of the Parachela. *Zootaxa*. 2819, stránky 51–64.
- McInnes, S. J. a Pugh, P. J. A. 1998.** Biogeography of limno-terrestrial Tardigrada, with particular reference to the Antarctic fauna. *Journal of Biogeography*. 1, Sv. 25, stránky 31–36.
- McInnes, S. J. 2010.** Taxonomy, biodiversity and biogeography: Tardigrada and Antarctic meiofauna. Disertační práce. Anglia Ruskin University.
- Middleton, R. 2014.** Biodiversity Explorer. *Tardigrada (water bears, tardigrades)*. [Online] 2014. [Citace: 7. říjen 2014.] <http://www.biodiversityexplorer.org/metazoa/tardigrades/index.htm>.
- Miller, W. R. 2011.** Tardigrades. *American Scientist*. 5, Sv. 99, str. 384.
- Mullen, L. 2002.** Extreme animals. *Astrobiology Magazine*. [Online] 1. září 2002. [Citace: 2. listopad 2014.] <http://www.astrobio.net/topic/origins/extreme-life/extreme-animals/>.

- Nalepa, T. F. a Robertson, A. 1981.** Vertical distribution of the zoobenthos in southeastern Lake Michigan with evidence of seasonal variation. *Freshwater Biology*. Sv. 11, 1, stránky 87–96.
- NASA. 2014.** NASA. *BIOKon In Space (BIOKIS)*. [Online] 23. prosinec 2014. [Citace: 7. únor 2015.] http://www.nasa.gov/mission_pages/station/research/experiments/800.html.
- Nelson, D. R. a Marley, N. J. 2000.** The biology and ecology of lotic Tardigrada. *Freshwater Biology*. 1, Sv. 44, stránky 93–108.
- Nelson, D. R. 2002.** Current Status of the Tardigrada: Evolution and Ecology. *Integrative and Comparative Biology*. 3, Sv. 42, stránky 652–659.
- Ono, F., Saigusa, M., Uozumi, T., Matsushima, Y., Ikeda, H., Saini, N. L. a Yamashita, M. 2008.** Effect of high hydrostatic pressure on to life of the tiny animal tardigrade. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*. 9, Sv. 69, stránky 2297–2300.
- Pereira, C. S., Lins, R. D., Chandrasekhar, I., Freitas, L. C. G. a Hünenberger, P. H. 2004.** Interaction of the disaccharide trehalose with a phospholipid bilayer: a molecular dynamics study. *Biophysical Journal*. Sv. 86, stránky 2273–2285.
- Pilato, G. 2013.** The past, the present and the future of eutardigrade taxonomy. *Journal of Limnology*. 1, Sv. 72, stránky 1–7.
- Poprawa, I. 2005.** The ovary structure, previtellogenic and vitellogenic stages in parthenogenetic species *Dactylobiotus dispar* (Murray, 1907) (Tardigrada: Eutardigrada). *Tissue and Cell*. 5, Sv. 37, stránky 385–392.
- Ramazzotti, G. a Maucci, W. 1995.** The Phylum Tardigrada. McMurry University, Abilene, Texas. Přeložil C. W. Beasley.
- Ramløv, H. a Westh, P. 2001.** Cryptobiosis in the Eutardigrade *Adorybiotus (Richtersius) coronifer*: Tolerance to Alcohols, Temperature and de novo Protein Synthesis. *Zoologischer Anzeiger*. 3-4, Sv. 240, stránky 517–523.
- Rebecchi, L. a Bertolani, R. 1994.** Maturative pattern of ovary and testis in eutardigrades of freshwater and terrestrial habitats. *Invertebrate Reproduction & Development*. 2, Sv. 26, stránky 107–117.
- Rebecchi, L., Altiero, T. a Guidetti, R. 2007.** Anhydrobiosis: the extreme limit of desiccation tolerance. *Invertebrate Survival Journal*. 2, Sv. 4, stránky 65–81.

- Rebecchi, L., Cesari, M., Altiero, T., Frigieri, A. a Guidetti, R. 2009.** Survival and DNA degradation in anhydrobiotic tardigrades. *The Journal of Experimental Biology*. Sv. 212, stránky 4033–4039.
- Rebecchi, L., Altiero, T., Guidetti, R., Cesari, M., Bertolani, R., Negroni, M. a Rizzo, A. M. 2009.** Tardigrade Resistance to Space Effects: first results of experiments on the LIFE-TARSE mission on FOTON-M3 (September 2007). *Astrobiology*. 6, Sv. 9, stránky 581–591.
- Rizzo, A. M., Negroni, M., Altiero, T., Montorfano, G., Corsetto, P., Berselli, P., Berra, B., Guidetti, R. a Rebecchi, L. 2010.** Antioxidant defences in hydrated and desiccated states of the tardigrade *Paramacrobiotus richtersi*. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 2, Sv. 156, stránky 115–121.
- Romano, F. A. 2003.** On water bears. *Florida Entomologist*. 2, Sv. 86, stránky 134–137.
- Sands, Ch. J., McInnes, S. J., Marley, N. J., Goodall-Copestake, W. P., Convey, P. a Linse, K. 2008.** Phylum Tardigrada: an “individual” approach. *Cladistics*. 6, Sv. 24, stránky 861–871.
- Schill, R. O., Mali, B., Dandekar, T., Schnölzer, M., Reuter, D. a Frohme, M. 2009.** Molecular mechanisms of tolerance in tardigrades: new perspectives for preservation and stabilization of biological material. *Biotechnology Advances*. 4, Sv. 27, stránky 348–352.
- Schill, Ralph O. 2013.** Life-history traits in the tardigrade species *Paramacrobiotus kenianus* and *Paramacrobiotus palaui*. *Journal of Limnology*. S1, Sv. 72, stránky 160–165.
- Schmidt-Rhaesa, A. 2001.** Tardigrades – Are They Really Miniaturized Dwarfs? *Zoologischer Anzeiger*. 3–4, Sv. 240, stránky 549–555.
- Sømme, L. a Meier, T. 1995.** Cold tolerance in Tardigrada from Dronning Maud Land, Antarctica. *Polar Biology*. 3, Sv. 15, stránky 221–224.
- Sømme, L. 1996.** Anhydrobiosis and cold tolerance in tardigrades. *European Journal of Entomology*. 3, Sv. 93, stránky 349–357.
- Strayer, D., Nelson, D. R. a O'Donnell, E. B. 1994.** Tardigrades from Shallow Groundwaters in Southeastern New York, with the First Record of *Thulinia* from North America. *Transactions of the American Microscopical Society*. 3, Sv. 113, stránky 325–332.

- Suzuki, A. 2003.** Life History of *Milnesium tardigradum* Doyère (Tardigrada) under a Rearing Environment. *Zoological Science*. 1, Sv. 20, stránky 49–57.
- Šatkauskienė, I. 2012.** Tardigrades (Tardigrada) in Baltic States. *Biologija*. 4, Sv. 58, stránky 245–255.
- Watanabe, M., Kikawada, T. a Okuda, T. 2003.** Increase of internal ion concentration triggers trehalose synthesis associated with cryptobiosis in larvae of *Polypedilum vanderplanki*. *The Journal of Experimental Biology*. 13, Sv. 206, stránky 2281–2286.
- Welnicz, W., Grohme, M. A., Kaczmarek, Ł., Schill, R. O. a Frohme, M. 2011.** Anhydrobiosis in tardigrades – the last decade. *Journal of Insect Physiology*. 5, Sv. 57, stránky 577–583.
- Westh, P., Kristiansen, J. a Hvidt, A. 1991.** ICE-nucleating activity in the freeze-tolerant tardigrade *Adorybiotus coronifer*. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 3, Sv. 99, stránky 401–404.
- Wright, J. C. 1988.** The tardigrade cuticle. I. Fine structure and the distribution of lipids. *Tissue and Cell*. 5, Sv. 20, stránky 745–758.
- Wright, J. C. 1989a.** The tardigrade cuticle II. Evidence for a dehydration-dependent permeability barrier in the intracuticle. *Tissue and Cell*. 2, Sv. 21, stránky 263–279.
- Wright, J. C. 1989b.** Desiccation Tolerance and Water-Retentive Mechanisms in Tardigrades. *The Journal of Experimental Biology*. Sv. 142, stránky 267–292.
- Wright, J. C. 1991.** The significance of four xeric parameters in the ecology of terrestrial Tardigrada. *Journal of Zoology*. Sv. 224, stránky 59–77.
- Wright, J. C., Westh, P. a Ramløv, H. 1992.** Cryptobiosis in Tardigrada. *Biological Reviews*. 1, Sv. 67, stránky 1–29.
- Wright, J. C. 2001.** Cryptobiosis 300 Years on from van Leeuwenhoek: What Have We Learned about Tardigrades? *Zoologischer Anzeiger*. 3–4, Sv. 240, stránky 563–582.

11. Seznam obrázků

Obrázek 1: Želvuška druhu <i>Hypsibius chilensis</i> patřící do třídy Eutardigrada	2
Obrázek 2: Želvuška druhu <i>Echiniscus jenningsi</i> patřící do třídy Heterotardigrada.....	3
Obrázek 3: Uspořádání kutikulárních plátů u rodů: a) <i>Echiniscus</i> , b) <i>Bryochoenus</i> , c) <i>Bryodelphax</i> , d) <i>Hypechiniscus</i>	4
Obrázek 4: Zelená skvrna je pravděpodobně cytoplasma řasy nebo lišejníku, prosvítající zevnitř trávicího traktu želvušky	5
Obrázek 5: Typy drápků: a) <i>Calohypsibius</i> , b) <i>Isohypsibius</i> , c) <i>Hypsibius</i>	6
Obrázek 6: Končetina želvušky rodu <i>Echiniscus</i> vybavená ozubeným límcem (<i>dentate collar</i>)	6
Obrázek 7: Náčrt bukofaryngeálního aparátu.....	7
Obrázek 8: Laterální pohled na želvušku rodu <i>Macrobiotus</i>	8
Obrázek 9: Želvuška svlékající kutikulu, ve které zůstala nakladená vajíčka.....	11
Obrázek 10: Želvuška rodu <i>Echiniscus</i> s vajíčky.....	11
Obrázek 11: Vajíčko želvušky třídy Eutardigrada <i>Paramacrobiotus richtersi</i>	12
Obrázek 12: Líhnutí mladých jedinců želvušky rodu <i>Hypsibius</i>	13
Obrázek 13: Taxonomická tabulka kmene Tardigrada.....	17
Obrázek 14: Želvuška v anhydrobiotickém stavu tvořící tun formaci	19
Obrázek 15: Stádium soudku želvušky rodu <i>Macrobiotus</i>	21
Obrázek 16: <i>Echiniscus testudo</i> – tun formace	22
Obrázek 17: <i>Echiniscus maucii</i> – dorzální pláty	22
Obrázek 18: Typy kryptobiózy známé u kmene Tardigrada	23
Obrázek 19: Heterotardigradní zástupce druhu <i>Echiniscus trisetosus</i> tvořící tun formaci .	26
Obrázek 20: Želvuška třídy Eutardigrada nacházející se v anoxybióze (dorzální pohled) .	29
Obrázek 21: Zygospory parazitické houby <i>Ballocephala sphaerospora</i> uvnitř těla želvušky	34
Obrázek 22: Potřeby ke sběru želvušek a sestavení Baermanovy nálevky	36
Obrázek 23: „Domácí“ varianta Baermanovy nálevky	36