

OBSAH

1. Úvod	1
2. Literární přehled	3
2.1. Základní studie	3
2.2. Souborné studie	3
2.3. Popisy ontogenese DAGs	4
2.4. Perzistence DAGs u imag ploštic, sexuální dimorfismus.....	4
2.5. Histologické studie DAGs	5
2.6. Ontogenetické studie DAGs	5
2.7. Situace u čeledi Acanthosomatidae	6
2.8. Obecná charakteristika DAGs	7
3. Materiál a metodika	12
3.1. Materiál.....	12
3.2. Metodika.....	12
3.2.1. Sběr materiálu, chovy	13
3.2.2. Fixace a konzervace materiálu	14
3.2.3. Zpracování materiálu	14
3.2.3.1. Pitvy.....	14
3.2.3.2. Studium optickým mikroskopem a stereolupou	15
3.2.3.2.1. Barvení	15
3.2.3.2.2. Zpracování	16
3.2.3.3. Příprava a studium vzorků skenovacím elektronovým mikroskopem.....	17
3.2.3.3.1. Čištění.....	17
3.2.3.3.2. Sušení	18
3.2.3.3.3. Lepení	19
3.2.3.3.4. Pokovení	19
3.2.4. Terminologie	19
4. Výsledky.....	22
4.1. Anteriorní žláza	22
4.1.1. První larvální instar	23
4.1.2. Druhý larvální instar	25
4.1.3. Třetí larvální instar	27
4.1.4. Čtvrtý larvální instar	29

4.1.5. Pátý larvální instar	30
4.1.6. Imago	33
4.1.6.1. Samice	35
4.1.6.2. Samec	36
4.2. Mediální žláza.....	37
4.2.1. První larvální instar	38
4.2.2. Druhý larvální instar	39
4.2.3. Třetí larvální instar	41
4.2.4. Čtvrtý larvální instar	43
4.2.5. Pátý larvální instar	45
4.2.6. Imaga	48
4.3. Posteriovní žláza	50
4.3.1. První larvální instar	50
4.3.2. Druhý larvální instar	52
4.3.3. Třetí larvální instar	53
4.3.4. Čtvrtý larvální instar	56
4.3.5. Pátý larvální instar	57
4.3.6. Imaga	59
5. Diskuze	61
6. Závěry	68
7. Přehled citované literatury	70
8. Přílohy	73

1. ÚVOD

Hmyzí řád plošnice (Heteroptera) je charakterizován kombinací existence metathorakálních pachových žláz u imag, dále MTG(s) (poprvé publikováno Dufour 1833) a dorsoabdominálních pachových žláz u larev, dále DAG(s) (poprvé pozorováno Künckel d'Herculais 1866). Základní funkcí MTGs i DAGs je ochrana, odpuzení predátora/nepřítele a/nebo parazitoida (Remold 1962, 1963). Tato autapomorfie definuje plošnice v rámci Hemiptera oproti ostatním taxonům (Schaefer 1972). Znaky na obou typech žláz jsou často využívány v taxonomických a fylogenetických studiích.

Dříve se předpokládalo, že DAGs jsou obecně pouze larvální strukturou, během posledního svlékání zanikají a jejich funkci přebírají imaginální MTGs (např. Staddon 1979). Například ještě Gupta (1964) považuje, na základě histologické struktury, MTGs a DAGs za homologické. V posledních desetiletích však byla prokázána perzistence DAGs u imag plošnic, s funkcí pozměněnou na produkci feromonů (přehled např. Davidová-Vilímová & Podoubský 1999, Staddon 1999, Weirauch 2006), a u některých druhů, hlavně dravých zástupců podčeledi Asopinae (Pentatomidae), i s prokázaným pohlavním dimorfismem (souhrn viz Dupuis 1947, Aldrich 1988a).

Zevně jsou zřetelná vlastní vyústění žláz (= ostioly) a velmi často, výrazněji u MTGs, s nimi asociovaná oblast kutikuly s modifikovanou strukturou. Vnitřními strukturami jsou rezervoáry a vlastní sekreční jednotky.

Za důkazy perzistence DAGs u imag jsou však považovány různé situace. Od přítomnosti ostiol, jako první publikoval již Verhoeff (1893), přes zachování kutikulární výstelky (intimy) rezervoáru (např. Davidová-Vilímová & Podoubský 1999) nebo kutikulárních struktur sekrečních jednotek (Hamilton *et al.* 1985, Staddon 1999, Weirauch 2006) až po analýzu samotné sekrece DAGs (např. Ho *et al.* 2003). Až Weirauch (2006) poprvé využila kombinace různých přístupů ke studiu DAGs (optický mikroskop, konfokální mikroskop, skenovací elektronový mikroskop).

U druhů, u kterých perzistují DAGs u imag, byla většinou srovnávána pouze situace u 5. larválního instaru versus imaga (např. Podoubský 1997, Davidová-Vilímová & Podoubský 1999, Weirauch 2006), nebo jen jedna struktura během celé ontogenese, např. přítomnost intimy rezervoáru (Davidová-Vilímová 2006 u *Aradus betulae*, Aradidae).

Diplomová práce si proto klade za cíl podrobné srovnávací studium kutikulárních struktur DAGs, interních i externích, během celé ontogenese. Jako model byl vybrán

zástupce čeledi Acanthosomatidae (Pentatomomorpha: Pentatomoidea), druh *Elasmucha ferrugata* (Fabricius, 1787), u kterého jsou prokazatelně DAGs perzistentní u imag (Podoubský 1997, Davidová-Vilímová & Podoubský 1999) a zároveň je u něho prokázána péče o potomstvo (souhrn viz Hanelová 2005). Lze předpokládat, že by samice mohla při tomto typu chování používat sekreci DAGs.

Ke studiu byly použity různé metodické přístupy, jejichž výsledky jsou porovnány a zkompletovány. V předkládané práci jsou popsány změny kutikulárních struktur DAGs druhu *E. ferrugata* během celého ontogenetického vývoje. Je také navržena jednotná terminologie pro interní i externí struktury DAGs.

2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

Literární rešerši k tématu diplomové práce obsahuje bakalářská práce (Kutalová 2007). V následujícím textu je proto uveden pouze přehled základních studií a recentně publikované studie týkající se pachových žláz ploštic.

2.1. Základní studie

Dufour (1833) první publikoval zjištění o existenci MTGs u imag ploštic a uvedl přehled jejich výskytu. Künckel d'Hercule (1866) pak jako první pozoroval přítomnost DAGs u larev ploštic. Přehled historie bádání o MTGs a DAGs publikoval Gupta (1961).

Gulde (1902) publikoval první detailní morfologickou a histologickou studii pachových žláz ploštic, provedenou hlavně na modelovém druhu *Pyrrhocoris apterus* (Linnaeus, 1758). Na základě svých výsledků diskutoval možnou fylogenezi řádu ploštic, za ancestrální stav považoval párové uspořádání DAGs. Na tuto studii navázala až Brindley (1931) soubornou fylogenetickou studii řádu Heteroptera založenou na pachových žlázách. Autorka jako první nastínila myšlenku homologizace larválních DAGs a imaginálních MTGs.

Schaefer (1972) navrhl použití rozsahu plochy evaporatoria MTGs jako podkladu fylogenetické hypotézy skupiny Trichophora. Dále řada autorů využila znaky na DAGs i MTGs k závěrům o příbuznosti a fylogenezi řady čeledí (např. Weirauch 2006).

Další důležitou prací byla studie Kershaw & Muir (1907) obsahující první detailnější morfologický popis DAGs zástupce čeledi Tessaratomidae během celého ontogenetického vývoje. Pilotní studii, obsahující detailní znalosti o morfologii, tracheizaci a svalovině a stručné údaje o histologii pachových žláz druhu *Anasa tristis* (De Geer, 1773) (Coreidae) publikoval Moody (1930). Obdobně popsal Gupta (1964) detailně svalovinu ovládající DAGs u zástupce čeledi Alydidae.

2.2. Souborné studie

Studie Remolda (1962, 1963) se týkaly převážně chemismu pachových žláz ploštic a fyzikálními vlastnostmi speciální kutikuly evaporatorií. Rozsáhle monografie Cobbena (1968, 1978) obsahují všechny, do té doby známé, poznatky o pachových žlázách ploštic, včetně přehledu známých případů perzistence DAGs u imag, viz. dále.

Stěžejní se stala studie pachových žláz ploštic Staddon (1979), která shrnuje všechny aspekty studia, včetně detailní anatomie, histologie a obsáhlé diskuze o biologii

žláz. Autor se zabývá funkcí i chemickým složením sekrece pachových žláz, včetně jednotlivých složek sekrece, shrnuje poznatky o jejich morfologii i histologii. Obdobnou studii publikoval Pavis (1987).

Aldrich (1988a, b) rozebral hlavně podrobně chemismus sekrece žláz. Uvedl podrobný přehled doposud izolovaných chemických látek, které mohou skládat sekreci, a diskutoval funkci jednotlivých látek. Navrhl možný průběh evoluce pachových žláz řádu Heteroptera.

Nejpropracovanější studií pachových žláz, týkající se zástupců čeledi Reduviidae, je práce Weirauch (2006). Autorka shrnula dosavadní znalosti, hlavně o perzistenci DAGs u imag ploštic, sama studovala zákeřnice pomocí skenovacího elektronového mikroskopu (= SEM), optického i konfokálního mikroskopu.

2.3. Popisy ontogenese DAGs

Kershaw & Muir (1907) popsali poprvé všechny larvální instary druhu *Tessaratomia papillosa* (Drury, 1770) (Tessaratomidae), včetně rezervoárů DAGs. Takovýchto dílčích studií existuje dále celá řada, ať již obsahují i údaje o rezervoárech (např. Davidová-Vilímová 1993) nebo pouze o externích strukturách (např. Matesco *et al.* 2008). Davidová-Vilímová (2006) popsala ontogenezi rezervoárů DAGs od druhého instaru u druhu *Aradus betulae* (Linnaeus, 1758) (Aradidae), u kterého minimálně rezervoáry těchto žláz perzistují u imag.

2.4. Perzistence DAGs u imag ploštic, sexuální dimorfismus

Za první zmínku o DAGs perzistujících u imag ploštic je považována informace publikovaná Verhoeffem (1893). Autor popisuje existenci ostiol DAGs u imag, kterou považuje za důkaz perzistence. Prokazatelným důkazem perzistence je podle Guldeho (1902) přítomnost sekrečních jednotek v epitelu rezervoáru DAGs. Tu prokázal u modelového druhu *Pyrrhocoris apterus* a dalších druhů. Seznam druhů s perzistujícími DAGs u imag rozšířil Henrici (1939), který obdobně provedl histologická studia u dalších druhů ploštic.

Dupuis (1947) jako první autor zjistil sexuální dimorfismus ve velikosti a zřejmě i funkci perzistujících DAGs u dravých zástupců podčeledi Asopinae (Pentatomidae). V následujících pracích rozšířil autor (Dupuis 1949, 1952, 1959) seznam druhů se sexuálně dimorfními DAGs u imag. Mimo podčeledi Asopinae byl zjištěn sexuální dimorfismus

DAGs i u zástupců Scutelleridae (Hamilton *et al.* 1985, Staddon *et al.* 1987), Reduviidae (Aldrich 1991), Pentatomoidea (Staddon 1999) a posléze dalších taxonů.

Autoři publikující souborné studie o pachových žlázách ploštic většinou uvádějí jednak seznam známých případů perzistence DAGs, jednak doplňují znalosti o další vlastní výsledky (Cobben 1968, 1978, Staddon 1979, Aldrich 1988a). Staddon (1999) a Davidová-Vilímová & Podoubský (1999) rozšířili přehled perzistence v rámci nadčeledi Pentatomoidea a Weirauch (2006) v rámci čeledi Reduviidae.

2.5. Histologické studie DAGs

Gulde (1902) publikoval první detailní histologickou studii DAGs, a to druhu *Pyrrhocoris apterus*. Další, dlouhou dobu nepřekonanou studií bylo histologické zpracování DAGs opět u *P. apterus* a u několika dalších druhů ploštic (Henrici 1939). Oba autoři potvrdili i perzistentní DAGs u imag několika studovaných druhů.

Akceptovanou morfologickou klasifikaci sekrečních buněk a sekrečních jednotek epidermálních žláz publikovali Noirot & Quenedey (1991) a Quenedey (1998). Tu použili i všichni následující autoři popisující DAGs u ploštic.

Mezní studií ve studiu pachových žláz ploštic byla souborná práce Staddona (1979). Autor v ní popisuje i histologickou stavbu žláz, MTGs i DAGs. Farine (1987, 1988) detailně popisuje histologickou stavbu DAGs zástupce čeledi Pyrrhocoridae, *Dysdercus cingulatus* (Fabricius, 1755), u kterého DAGs perzistují v imaginálním stadiu. Obsáhlé studie byly publikovány o DAGs larev i imag *Nezara viridula* (Linnaeus, 1758) (Pentatomidae) (Lucchi & Solinas 1990, Lucchi 1993). U tohoto druhu byla prokázána nejen perzistence DAGs u imag, ale i sexuální dimorfismus v histologické stavbě funkční žlázy. Srovnání histologické struktury 5. larválního instaru a imaga druhu *Lincus spurcus* (Rolston, 1989) (Pentatomidae: Discocephalinae) publikovali Cassier *et al.* (1994). V souborné studii DAGs zástupců čeledi Reduviidae popisuje Weirauch (2006) také částečně struktury na buněčné úrovni. Shodnou stavbu kutikulárních struktur sekrečních jednotek žláz ploštic potvrzují i výsledky Pluot-Sigwalt (2008) o bazálních abdominálních žlázách zástupců čeledi Cydnidae.

2.6. Ontogenetické studie DAGs

Většina ontogenetických studií, zahrnujících (i) DAGs, se týká pouze porovnání situace u 5. larválního instaru versus situace u imaga. Takovéto jsou histologické studie

druhu *Dysdercus cingulatus* (Farine 1987, 1988), druhu *Nezara viridula* (Lucchi & Solinas 1990) a Lucchi (1993) a druhu *Lincus spurcus* (Cassier *et al.* 1994).

Morfologické studie buď srovnávají stav rezervoáru DAGs u 5. larválního instaru a imaga, Podoubský (1997) a Davidová-Vilímová & Podoubský (1999) – Pentatomoidea, Weirauch (2006) – Reduviidae, Ho *et al.* (2006) – *Leptocoris* spp. (Rhopalidae). Nebo mikroskulpturu externích částí DAGs, Xue & Bu (2007) – *Ischnodemus caspius* (Jakovlev, 1871) (Blissidae). Xue & Bu (2008) srovnali tyto externí struktury DAGs u 5. instaru zástupců většiny taxonů z nadčeledi Lygaeoidea.

Pouze Staddon (1995) popsal celý ontogenetický vývoj, od 1. instaru do imaga, včetně kutikulárních struktur DAGs u *Oncopeltus fasciatus* (Dallas) (Lygaeidae). Autor také studoval počty duktulů/kanálek sekrečních jednotek (viz 3.2.4. Terminologie).

2.7. Situace u čeledi Acanthosomatidae

Čeď Acanthosomatidae je klasifikována v nejodvozenější nadčeledi ploštic, Pentatomoidea. Od ostatních kněžic se liší drobnými morfologickými znaky (dvoučlávková chodidla, výrůstek na bázi ventra abdominu), ale také tím, že její zástupci mají velmi často, střeoevropští mimo jednoho, vyvinutou nápadnou péči o potomstvo (Faúndez & Osorio 2010). Zároveň u nich u všech střeoevropských druhů byla prokázána perzistence DAGs u imag. Jedná se pouze o fytofágní druhy, které se vyskytují v keřovém nebo stromovém patře vegetace (Schuh & Slater 1995).

Dupuis (1949) jako první autor zmiňuje perzistenci DAGs u této čeledi, stručně ji dále zmiňuje Aldrich (1995). Podrobně byli britští zástupci studováni hlavně z hlediska chemismu DAGs Evansem *et al.* (1990). Tito autoři prokázali perzistenci DAGs u imag všech evropských zástupců Acanthosomatidae. U 5. larválního instaru jsou funkční mediální a posteriorní DAGs, u imag je funkční anteriorní DAG. Následně Staddon (1990) prostudoval detailně morfologii kutikulárních struktur DAGs, včetně spočítání vyústění kanálek sekrečních jednotek do rezervoáru žlázy. V uvedených publikacích byl rod *Elasmucha* Stål, 1867 zastoupen druhem *Elasmucha fieberi* (Jakovlev, 1864), uváděna jako *E. grisea* (Linnaeus, 1758). Situaci s rezervoáry DAGs u 5. larválního instaru a imaga také u druhu *Elasmucha ferrugata* studovali Podoubský (1997) a Davidová-Vilímová & Podoubský (1999).

Weirauch (2006) cituje studii Maschwitz & Gutmann (1979), ve které je dávána do souvislosti péče o potomstvo *E. grisea* s funkcí DAGs. Jedná se však o sekreci larev, na

kteřou reaguje samice jejich obranou. Lze předpokládat, že by u zástupců této čeledi mohla existovat perzistence DAGs u imag/samic v souvislosti s péčí o potomstvo. U studovaných evropských druhů, *Acanthosoma haemorrhoidale* (Linnaeus, 1758), *Cyphostethus tristriatus* (Fabricius, 1787) a *Elasmostethus interstinctus* (Linnaeus, 1758) však nebyl zjištěn sexuální dimorfismus (Evans *et al.* 1990), který lze předpokládat. Navíc Staddon (1990) zjistil největší DAGs u imag druhu *C. tristriatus*, tj. druhu, u kterého není péče o potomstvo vyvinuta.

Situaci u *E. ferrugata* popsal Podoubský (1997) a Vilímová-Davidová & Podoubský (1999). Na základě studia stavu intimy rezervoáru u 5. larválního instaru a imag došli k závěru shodnému s ostatními zástupci Acanthosomatidae, u imag je funkční perzistující žlázou anteriorní DAG.

2.8. Obecná charakteristika DAGs

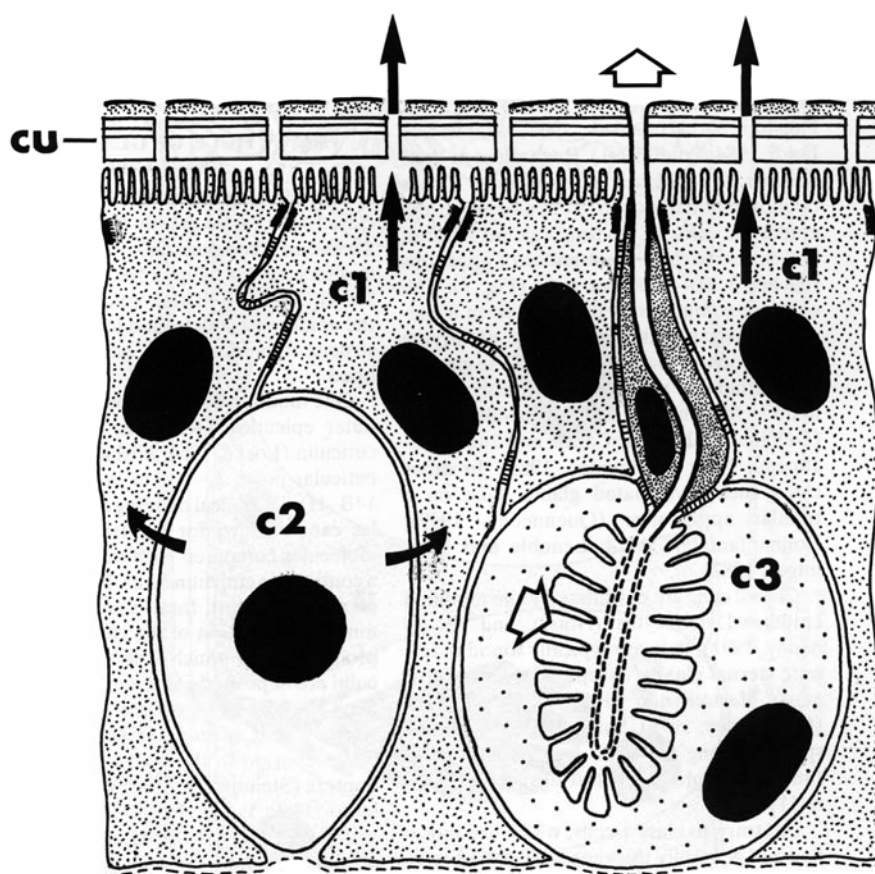
Následující text, shrnující poznatky o DAGs u ploštic/Pentatomoidea je založen na excerpovaných datech prací citovaných v předchozích podkapitolách Literárního přehledu. Pachové žlázy ploštic jsou epidermálního původu, vznikají invaginací epidermis. Základní stavba je shodná pro DAGs a MTGs. DAGs jsou metamerické orgány, které jsou umístěny ve střední oblasti dorsa abdominu, u recentních zástupců ploštic se vyskytují maximálně čtyři žlázy/ páry žláz na čtyřech segmentech, mimo unikátní existence pěti žláz u zástupce Dipsocoridae (Kopřivová 1998).

U zástupců nadčeledi Pentatomoidea, kněžice, která je považována za nejodvozenější taxon řádu Heteroptera (např. Schuh & Slater 1995), jsou vyvinuty maximálně tři DAGs, anteriorní párová DAG (= první žláza) a mediální a posteriorní nepárové DAGs (druhá a třetí žláza).

I přes ranné výborné histologické studie prokazující téměř jistě funkčnost některých DAGs u imag některých ploštic, se dlouho tradovala a přejímala hypotéza, že DAGs jsou výhradně larvální strukturou, která ztrácí svoji funkčnost nejpozději během svlékání 5. larválního instaru do imaga. Jejich repelentní funkci pak zcela přejímají imaginální MTGs umístěné v hrudi, s vyústěním na metapleuře. V recentním období je však stále více studiemi a stále přesvědčivějšími důkazy prokazováno, že perzistence funkčních DAGs může být naopak až převládajícím fenoménem v rámci řádu Heteroptera. Přitom ze tří larválních DAGs může být pattern perzistujících žláz u imag velmi různorodý, např.

anteriorní žláza u zástupců Pentatomoidea, včetně Asopinae, posteriorní žláza u zástupců Rhopalidae, mediální a posteriorní žlázy u zástupců Pyrrhocoridae, a další kombinace.

Vlastní žláza se skládá z rezervoáru vystlaného epikutikulární intimou, který je obklopen zevně, směrem do hemocoelu, žláznatým epitelem. Podle základní morfologické klasifikace epidermálních žláz hmyzu se v DAGs ploštic vyskytují následující buňky (Obrázek 1): Sekreční buňky 1. třídy - epidermální buňky, někdy apikálně s pórem vedoucím do lumenu rezervoáru, jsou někdy označovány jako matrixové buňky. Tyto buňky nemusí být přítomny v pachových žlázách. Sekreční buňky 3. třídy - ze sekreční buňky je sekrece odváděna kutikulárním kanálkem, který je složen z jedné nebo dvou kanálkových buněk, v tomto případě vždy probíhá integrace do sekrečních jednotek.



Obrázek 1: Typy sekrečních buněk epidermálních žláz hmyzu. Převzato z Quenedey (1998). Vysvětlivky: c1 – sekreční buňky 1 třídy, c2 – sekreční buňky 2 třídy, c3 – sekreční buňky 3 třídy, cu – kutikula, šipky ukazují cestu sekrece.

Ty mohou být izolované, až se mohou vyskytovat ve složitých asociacích, z čehož vyplývá mimořádná diverzita žláz. V pachových žlázách jsou tyto multicelulární jednotky vždy přítomny.

V sekrečních jednotkách DAGs ploštic jsou přítomny vždy dvě kanálkové buňky, tj. existuje trojbuněčná sekreční jednotka. Hlavními úkoly metabolismu popsanych

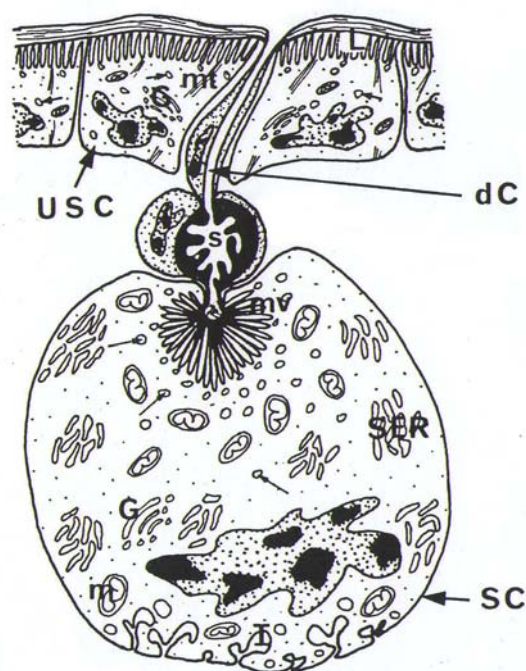
epiteliálních buněk je tvorba kutikulárního materiálu, akumulace pigmentu (viz dále, mimo kanálkových buněk) a tvorba sekrece, ve které mají nejdůležitější roli kanálkové buňky. Tvorba sekrece probíhá extracelulárně, sekreční buňky vytvoří prekurzory, z nichž vzniká konečná toxická substance až mimo buňku, v kutikulárním kanálku kanálkové buňky, která do nich sekretuje enzymy transformující prekurzory ve vlastní toxickou sekreci.

Během postembryonálního vývoje se DAGs zvětšují při každé ekdyzi, zároveň vzrůstá počet sekrečních jednotek. Sekreční buňky zanikají a jsou vždy znovu tvořeny z nediferencovaných buněk epitelu (matrixových buněk). Pokud jsou DAGs u imag nefunkční, není to díky degeneračním změnám po vytvoření imaginálního orgánu, ale právě vymizením schopnosti tvořit nové sekreční jednotky z buněk epitelu rezervoáru.

Stěny rezervoáru, jak bylo prozatím zjištěno, mají odlišnou histologickou strukturu, a to u jednotlivých taxonů i jednotlivých žláz u jednoho taxonu. Například u zástupců Pyrrhocoridae se výrazně liší struktura všech tří žláz podle přítomnosti nebo nepřítomnosti všech typů buněk a sekrečních jednotek. Na základě známých dat se zdá, že histologická struktura DAGs zástupců Pentatomoidea je obdobná, v dorsální i ventrální stěně DAG 1 jsou vyvinuty jednobuněčné i mnohobuněčné sekreční jednotky. V dorsální stěně DAG 2 a DAG 3 jsou vyvinuty pouze jednobuněčné jednotky, ve ventrální stěně těchto žláz oba typy sekrečních jednotek.

Při zachování pouze kutikulárních struktur jsou zřetelné jen části mnohobuněčných jednotek, a to kutikulární části kanálkových buněk – přírodní kanálek, váček a odvodný kanálek, nejmórazněji jeho silně sklerotizované ústí do rezervoáru (Obrázek 2).

Rezervoáry jednotlivých žláz, umístěné na rozhraní 3-4, 4-5 a 5-6 terga v tukovém tělese, jsou v nativním stavu dobře viditelné díky oranžovému zbarvení. Barva rezervoáru je ovlivněna pigmenty, hlavně karotenoidy a pteridiny, jejichž funkce není dosud zcela objasněna. Někteří autoři se domnívají, že mají důležitou funkci v detoxikaci repelentní sekrece žlázy. Celý systém rezervoárů vyztučuje síť trachejí, které zajišťují okysličování těchto tkání. U některých ploštic jsou rezervoáry asociovány se složitým systémem svalů, které regulují vypouštění sekrece, často je však vyvinut pouze jeden sval, inzerovaný na posteriorní okraj ostioly.



Obrázek 2: schématické zobrazení organizace jednobuněčných a mnohobuněčných sekrečních jednotek. Převzato z Farine (1987).

Vysvětlivky: dC – kanálková buňka, G – Golgiho aparát, I – bazální vchlípeniny, m – mitochondrie, MSU – mnohobuněčná sekreční jednotka, mt – mikrotubuly, mv – microvilli, s – sakulus, SC – sekreční buňka, SER – hladké endoplazmatické retikulum.

Vlastní vývod žlázy/rezervoáru je tvořen otvorem různého tvaru, štěrbinovitého až kruhovitého, ostiolou. Všechny tři DAGs mají párové ostioly. Ostiola je často uzavřena kutikulární chlopňovitou strukturou, valvou (= záklopkou), tvořenou výběžkem posteriorní kutikulární stěny rezervoáru. Valva uzavírá žlázu díky elasticitě kutikuly, je otevírána pomocí svalu, který zároveň zploští rezervoár a dojde k vypuštění sekretu. Předpokládá se, že ouškovitý výběžek (= ouškovitá struktura) vyvinutý anterolaterálně od ostiol DAG 2 a DAG 3 spolupůsobí se svalem při otvírání ostioly a posléze vypouštění sekrece.

S ostiolou je asociována plocha kutikuly výrazně odlišné skulptury než je dorsum abdominu, tzv. evaporatorium. Evaporatoria jsou jedněmi z nejnápadnějších struktur vyskytujících se v okolí vyústění žláz, jsou tvořena složitě skulpturovanou kutikulou, jejíž povrch je tímto způsobem mnohonásobně zvětšen a je dosaženo rychlejšího odpařování sekretu žláz. Skulptury evaporatoria jsou velmi různorodé, často síťovité, šupinovité, a dalších typů. Detailní skulptura a rozsah evaporatorií se může lišit u jednotlivých DAGs, u zástupců Pentatomoidea je např. zcela odlišné evaporatorium DAG 1 od evaporatorií DAG 2 a DAG 3.

Hlavní funkcí DAGs je velmi pravděpodobně obrana, jak před predátory tak před parazitoidy a mikroorganismy. U vodních ploštic byly prokázány i antiseptické účinky a u druhů žijících v substrátu účinky fungicidní. Další funkcí sekrece je i chemická vnitrodruhová komunikace, působí jako alarmující a agregační feromony, hlavně u larev, i jako sexuální feromony, pokud perzistují u imag.

V současné době je známa funkce některých složek sekrece, např. byly identifikovány alarmující a agregační feromony u zástupců čeledi Pentatomidae. Kvalitativně se jedná o shodné nebo velmi podobné látky, pro odlišení jejich funkce je důležitá koncentrace a celkové množství. Agregaci způsobí malé množství a nízká koncentrace látky, velké množství a vysoká koncentrace působí naopak výstražně. Nejdůležitějšími látkami jsou nasycené a nenasycené aldehydy s různou délkou uhlíkatého řetězce a n-tridecen. N-tridecen je hlavní složkou sekrece larválních DAGs, byl nalezen ve velkém množství i v sekreci MTGs. Jeho účinky jsou ve vysokých koncentracích alarmující, v nízkých agregující. Tato látka se vyskytuje v repelentních sekrecích hmyzu obecně, např. v rámci řádů Coleoptera a Hymenoptera. Další velmi důležitou alarmující/poplašnou látkou je např. E-(2)-hexenal, který je obsažen nejen v sekreci DAGs, ale v malém množství i v MTGs.

Sekrece žláz je kontaktní jed, který do těla „oběti“ proniká buď kutikulou, nebo jednodušší cestou přes tracheje. Samotný jedinec produkující tuto sekreci ovšem proti ní není imunní. Jeho odolnost vůči ní je zvýšena mechanickými vlastnostmi kutikuly v okolí ostiol, tj. většinou skulpturou evaporatorií, která zamezí úniku sekrece na nechráněná místa kutikuly, dále biochemickými mechanismy, vrstvy epikutikuly jsou po sklerotizaci pro sekreci nepropustné, i behaviorálními reakcemi, např. odstraněním zbytku sekrece z povrchu těla končetinami.

V rámci ploštic byly zjištěny tři odlišné způsoby přenosu obranné sekrece žláz na nepřítel. Buď jen prosté vyloučení sekrece do okolí ostioly žlázy, nebo kontaktní přenos sekrece tarsem a nebo vystříknutí sekrece na vzdáleného nepřítel, přesně cílené a někdy dokonce bilaterálně nezávislé.

3. MATERIÁL A METODIKA

3.1. Materiál

Ontogenese DAGs byla studována u všech larválních instarů a imag obou pohlaví druhu *Elasmucha ferrugata* (Heteroptera: Pentatomomorpha: Pentatomoidea: Acanthosomatidae).

Celkem bylo vlastními sběry během sezón 2008-2009 (duben až srpen) a ze sbírky entomologického oddělení katedry zoologie PřF UK získáno dohromady 977 jedinců (Tabulka 1). Veškerý materiál je uložen na PřF UK, entomologickém oddělení katedry zoologie.

Převážná část materiálu byla nasbírána na brusnici borůvce, *Vaccinium myrtillus* (Linnaeus, 1753) (*Ericaceae*), vyskytující se na vlhkých, málo výživných kyselých půdách, na pasekách, světlínách, v blízkosti vřesovišť a rašelinišť. Na lokalitách s hojným výskytem brusnice borůvky i druhu *Elasmucha ferrugata* bylo možné nalézt větší množství jedinců ploštice i na nedalekých keřích rybízu červeného, *Ribes rubrum* (Linnaeus, 1753) a rybízu černého, *Ribes nigrum* (Linnaeus, 1753) (*Grossulariaceae*).

Celkem byl studován skenovacím elektronovým mikroskopem (dále SEM) následující počet jedinců jednotlivých vývojových stadií: 1. instar – 15, 2. instar – 15, 3. instar – 20, 4. instar – 18, 5. instar – 21, samice – 5, samci – 6. A obdobně optickým mikroskopem: 1. instar – 20, 2. instar – 25, 3. instar – 20, 4. instar – 30, 5. instar – 32, samice – 15, samci – 15. Pro měření jednotlivých ploch na dorsu abdominu bylo použito vždy 10 jedinců každého vývojového stadia. Tento počet byl zvolen po předběžném prohlédnutí materiálu a zjištění velmi nepatrné variability.

3.2. Metodika

Tato diplomová práce měla za úkol také použít různé metodické přístupy ke studiu DAGs u ploštic, lze ji označit jako pilotní, v řešení tématu budou pokračovat další diplomové práce. Proto jsou v této kapitole popsány jednotlivé kroky při zpracování materiálu podrobněji. A to vzhledem k tomu, že se jedná o diplomovou práci učitelského zaměření, tedy i jejímu didaktickému využití.

3.2.1. Sběr materiálu, chovy

Ke sběru jedinců *E. ferrugata* nebyly použity žádné speciální pomůcky, ani entomologická smýkáčková síť, ploštice nacházející se většinou na spodní straně listů živé rostliny nebo sající na jejích plodech, okamžitě i po nepatrném otřesu padají do podrostu (Obrázek 3). Byla proto použita metodika individuálního sběru entomologickou pinzetou.



Obrázek 3: *Elasmucha ferrugata*, imago, převzato z: <http://www.koleopterologie.de/heteroptera/6pent3/acanthosomatidae-elasmucha-ferrugata-foto-guenther.jpg>

Část sebraných jedinců 5. instaru a imag byla ponechána živá a byla umístěna do chovů. Jejich účelem mělo původně být získání dostatečného množství jedinců jednotlivých instarů, což se nakonec týkalo pouze jedinců 1. instaru, kteří po vylíhnutí z vajíčka žijí jen několik hodin, proto jsou v přírodě obtížně zastíženi. Materiál ostatních instarů byl nasbírán v dostatečném množství.

Chovy byly vedeny v jednoduchých insektářiích při pokojové teplotě a vysoké relativní vlhkosti, nebylo nutné dodržet definované laboratorní podmínky. Do jednotlivých insektářií bylo umístěno kolem 100 jedinců, 30 z nich 5. instarů, zbytek imaga obou pohlaví. Živé rostliny, brusnice borůvka i rybíz červený, byly umístěny do středu insektária do vlastního zavlažovacího systému. Podle potřeby byly přidány i jejich jednotlivé plody.

Když samice nakladla snůšku vajíček, byla i s ní přemístěna do malého inšektária s obdobnými podmínkami. Po vylíhnutí prvních instarů byla zhruba polovina jedinců nafixována a část ponechána v chovech dále, dokud přežívala.

3.2.2. Fixace a konzervace materiálu

K fixaci a konzervaci materiálu byly použity dva alternativní postupy. Použití **75% nebo 96% ethanolu**. Tento postup byl použit u materiálu ze sbírek PřF UK a při sběru materiálu během sezóny 2008. Jedná se o standardní postup usmrcení a následné konzervace materiálu, který je nenáročný na čas i skladování fixačního roztoku, který lze transportovat bez nebezpečí i s sebou do terénu. Během studia takto konzervovaných vzorků se však ukázalo, že tento způsob konzervace není vhodný pro jedince 1. a 2. instarů. Ti jsou málo sklerotizovaní a díky tomu náchylnější na působení vnějších agens (obdobné problémy s materiálem 1. a 2. instaru zmiňuje již Staddon 1995). Díky dehydrataci tak většinou docházelo i ke změně tvaru vnějších, sklerotizovaných struktur. Ta se nepodařila odstranit ani při postupném odvodňování vzestupnou ethanolovou řadou. Pro silněji sklerotizované starší instary a imaga byl tento postup vyhovující.

Během další sezóny, 2009, byl proto použit na fixaci jedinců 1. a 2. instaru **2,5% roztok glutaraldehydu** (Science Services GmbH). Tato fixáž se běžně používá pro přípravu vzorků pro elektronovou mikroskopii, kutikulární struktury jsou jejím působením lépe zachovány, nedochází k jejich zborcení během dalších kroků zpracování materiálu, např. čištění. Nevýhodou glutaraldehydu je, že je roztok nutno uchovávat v mrazícím boxu, nelze ho tedy brát s sebou do terénu. Materiál byl vložen do fixáže, jejíž objem byl ideálně 100x větší. Vzorek byl ponechán ve fixáži minimálně 24 hodin (maximálně je možno až několik měsíců) v nízké teplotě, minimálně 4^o C, ideálně na rozdrčeném ledu v lednici. Po 24 hodinách byl vzorek promyt po dobu 30 minut v jednoduchém fyziologickém roztoku (0,9% roztok NaCl), poté dehydratován ve vzestupné ethanolové řadě, 30%, 45%, 60%, 75%, 96% a 99,8%, vždy po dobu minimálně 15, optimálně 30 minut. V 99,8% ethanolu byl vzorek konzervován.

3.2.3. Zpracování materiálu

3.2.3.1. Pitvy

Pro detailní studium kutikulárních struktur DAGs optickou i elektronovou mikroskopií bylo nutné získat pouze kutikulu dorsa abdominu. Pitvy byly prováděny

v 75% ethanolu pod stereolupami Olympus-SZX9 nebo MBS10. K pitvání byl použit skalpel, oční nůžky, entomologické a anatomické pinzety, preparační jehla se zahnutým hrotem a injekční jehly různých průměrů (hlavně na pitvy jedinců mladších instarů).

Nejprve byla odstraněna hlava a končetiny, eventuálně křídla pinzetou, potom skalpelem odříznuta hrud'. Pomocí injekční jehly byl veden řez švem mezi dorsálními a ventrálními laterotergity abdominu, odstraněna jeho ventrální část a opatrně, jemně vypreparována/odstraněna měkká tkáň. Pokud přesto zůstalo větší množství měkké tkáně v bezprostřední blízkosti rezervoárů DAGs, bylo dorsum abdominu vymyto/macerováno 10% roztokem KOH. V závislosti na velikosti objektu a množství tkáně lze roztok zahřát až povařit. Materiál byl macerován v KOH po dobu 30 minut až 2 dnů.

Pro zpracování elektronovou mikroskopií byla dorsa po pitvě nejdříve promyta ve fyziologickém roztoku po dobu 30 minut, potom odvodněna vzestupnou ethanolovou řadou (30%, 45%, 60%, 75%, 96%, 99,8%) vždy po dobu 30 minut, a dále zpracována viz. text 3.2.3.3. Část preparátů byla ponechána v 75% ethanolu a takto konzervována.

Pro zpracování optickou mikroskopií byla dorsa promyta ve fyziologickém roztoku po dobu 30 minut, potom vzestupnou ethanolovou řadou převedena do 75% ethanolu a dále zpracována viz. text 3.2.3.2.

3.2.3.2. Studium optickým mikroskopem a stereolupou

3.2.3.2.1. Barvení

Toto studium bylo zaměřeno hlavně na interní kutikulární části DAGs, rezervoárů a vyústění kanálků/duktulů kanálkových buněk vlastních sekrečních jednotek DAGs (viz. text 3.2.4. Terminologie). Pro zvýraznění kutikulárních struktur bylo použito barvivo Chlorazol Black E (Standard Fluka), které se specificky váže na chitin kutikuly a obarví ho modře. Výsledná intenzita zbarvení je ovlivněna obsahem chitinu v kutikule. Proto se struktury u jedinců 1. a 2. instaru, stejně jako u málo sklerotizovaných jedinců, obarvily méně výrazně

Barvivo se ihned váže na chitin, doba barvení nemusí tedy být přesně definována. Při barvení slabě sklerotizovaných jedinců 1. instaru bylo zjištěno, že i po jejich ponechání v roztoku barviva po dobu 24 hodin je výsledek nabarvení kutikuly téměř shodný jako po době desítek minut.

Postup barvení byl modifikován podle Kořínka (2005). Zásobní roztok barviva v 70% ethanolu byl připraven postupným přidáváním barviva v podobě prášku až do

vzniku nasyceného roztoku. Vzorky byly umístěny do ependorfech se 70% ethanolem, vždy několikanásobného objemu vzorku, do kterého byla přidána kapka koncentrovaného roztoku barviva. Po obarvení kutikuly byl vzorek promyt 70% ethanolem, eventuálně i opakovaně, dokud se přebytečné barvivo vymývalo, a tím byl zbaven barviva, které by ztížilo a rušilo pozorování. Následně byl vzorek převeden do 96% ethanolu, eventuálně opět opakovaně, a v něm zafixován.

Obarvené vzorky byly umístěny do skleněné epruvety s roztokem 96% ethanolu a glycerinu, v poměru 1:1. Po 15 až 30 minutách byl vzorek přenesen do čistého glycerinu na podložní sklo a přikryt krycím sklíčkem.

Při barvení materiálu 1. a 2. instarů se vyskytl problém s manipulací takto velmi jemných a malých vzorků (dorsálních částí adominů larev), mohlo dojít k jejich poškození i ztrátě během manipulace při přenášení do jednotlivých tekutin. Proto byl použit následující postup. K barvení byly použity skleněné petriho misky s malým průměrem. Vzorky v nich byly obarveny pouze velmi malým množstvím roztoku barviva. Po obarvení kutikuly byl do petriho misky přidán 70% ethanol, čímž došlo k naředění roztoku a vzorky v něm byly dobře viditelné. Pod stereolupou byly vzorky přeneseny na podložní sklíčko a byl připraven preparát postupem popsaným výše.

Preparáty byly studovány optickým mikroskopem Olympus BX40 s digitálním fotoaparátem Olympus C-5060 se softwarem Quick Photo Micro 2.3, pro obrazovou analýzu byl použit software Helicon Focus.

3.2.3.2.2. Zpracování

Počítání vyústění kanálků sekrečních jednotek do rezervoáru

Z mnohobuněčné sekreční jednotky DAG (podrobně viz 2. Literární přehled) jsou zachovány epikutikulární struktury, kanálky/duktuly (viz. dále 3.2.4. Terminologie) a váček/sakulus. Minimálně jsou zřetelná vyústění kanálku do rezervoáru, která jsou silně sklerotizovaná a zduřelá. Tato vyústění se obarví silněji barvivem Chlorazol Black E než okolní kutikula a jejich počet byl použit jako ukazatel fyziologické funkčnosti žlázy, poprvé Hamiltonem *et al.* 1985, následně i v dalších studiích (Staddon *et al.* 1987, Staddon 1979, 1990, 1995, 1999). Weirauch (2006) sledovala u Reduviidae samotné kanálky a ještě nápadnější kutikulární struktury, tzv. sakuli (= bazální rozšířenou část kanáلكové buňky.)

Kanátky byly počítány v obarvených rezervoárech montovaných v dočasných glycerinových preparátech následovně, byl pořízen detailní snímek rezervoáru, poté byl použit program Quick Photo Micro 2.3 a snímkem byla proložena síť s definovanou velikostí jednotlivých čtverců. V jednom čtverci byl spočítán počet viditelných kanátek, poté byl vynásoben počtem čtverců, ve kterých byly kanátky přítomné.

Měření skulpturovaných oblastí kutikuly

Schaefer (1972) měřil plochu evaporatoria asociovaného s MTGs, vyjádřenou v % plochy celé metapleury. Získané údaje diskutoval v souvislosti s fylogenetickou hypotézou skupiny Trichophora. Pod vlivem této inspirace byly měřeny výrazné plochy asociované s ostioly DAGs, definované silnou sklerotizací a/nebo specifickou skulpturou. Byly měřeny tyto plochy: silně sklerotizovaná plocha okolo ostioly = dorsální mediální sklerit, plocha s vrásněním, plocha s bochánkovitou skulpturou, plocha se síťovitou skulpturou.

Měřené plochy modifikované kutikuly byly vztaženy vždy k ploše mediálního skleritu a to z toho důvodu, že lze předpokládat, že se zbytek dorsa abdominu se sekrecí nedostane do kontaktu.

Pro měření byly využity snímky ze stereolupy i optického mikroskopu, použit byl software Quick Photo Micro 2.3. Takto bylo zdokumentováno vždy deset snímků jedinců každého stadia ze stereolupy a vždy deset snímků larválních instarů z mikroskopu z ventrálního pohledu (pokud není uvedeno jinak). Pro zjištění možného sexuálního dimorfismu byli zkoumáni jedinci obou pohlaví již od 5. larválního instaru, ve kterém jsou již morfologicky jasně rozlišitelní.

3.2.3.3. Příprava a studium vzorků skenovacím elektronovým mikroskopem

3.2.3.3.1. Čištění

Materiál byl získán sběrem v přírodě, proto byl i často znečištěn. Zvláště v okolí ostioly DAGs bylo znečištění poměrně silné. Zde také dochází k zachycení vypouštěné sekrece a zaschnutí jejího zbytku. Bohužel právě nejvíce znečištěná místa byla předmětem studia. Proto bylo důležité zbavit se usazených nečistot v co největší míře. Promytí vzorků fyziologickým roztokem nebo ethanolem bylo nedostačující. K čištění byla proto použita sonifikace, čištění ultrazvukem ve standardní ultrazvukové lázni. Tento postup využívali i někteří autoři, kteří se zabývají studiem vnějších kutikulárních struktur, např. u zástupců

Lygaeoidea Xue & Bu (2008). Bohužel ani přečištěním ultrazvukem se nepodařilo vzorky zbavit veškerých nečistot.

Jedinci prvního a druhého instaru byli čištěni v 75% ethanolu, jedinci starších instarů až v 99,8%, a to opět kvůli rozdílnému chování vzorků díky odlišné sklerotizaci a tím pevnosti kutikuly. Zatímco v 99,8% ethanolu byli jedinci prvního a druhého instaru natolik křehcí, že se již po několika vteřinách rozpadali, jedinci starších instarů vydrželi čištění až několik minut.

Největší problém spočíval v určení doby, po kterou je možné vzorky v ultrazvukové lázni ponechat. Velmi záleží na sklerotizaci každého jedince. Dá se předpokládat, že každý následující instar je více sklerotizovaný než předchozí (samozřejmě mimo období těsně po ekdysi) a že starší jedinci jednotlivých instarů budou více sklerotizovaní. Většina materiálu byla ale pořízena sběrem v přírodě, nebylo tedy známo přesné stáří jedinců. Z tohoto důvodu docházelo přes shodnou dobu v lázni k různým výsledkům čištění. Proto bylo nutné v průběhu čištění vzorky velmi často kontrolovat a po jakémkoli náznaku poškození (např. při odlamování končetin) je ihned vyndat.

Dalším důvodem nedokonalého vyčištění vzorků je i nutnost následné manipulace s již vyčištěnými vzorky (sušení v desikátoru, nalepení vzorků na terčíky, manipulace s terčíky) a také nemožnost kontroly výsledku čištění. Jedná se o mikroskopické částičky, které nejsou patrné pod optickým mikroskopem, ale po pozlacení jsou v SEM velmi výrazné. I přes uvedené problémy bylo ale čištění sonifikací shledáno nejlepší metodou pro přečištění vzorků

3.2.3.3.2 Sušení

Pro sušení vzorků byla použita metoda kritického bodu. Jedná se o nejčastěji používanou metodu, díky které se vzorek zbaví dehydratačního činidla (v tomto případě ethanolu). Celá procedura trvá několik hodin, nejprve musí být nahrazeno dehydratační činidlo oxidem uhličitým, poté se část CO₂ vypustí a komora se začne zahřívat. Po dosažení kritického bodu a teploty se velmi pozvolna vypustí plynný oxid uhličitý a po vyrovnání tlaku se vzorky mohou vyndat. Při této metodě sušení dochází k minimálnímu poškození vzorku.

3.2.3.3.3. Lepení

Po vysušení vzorku je velmi důležité zamezit jeho navlhnutí. Je třeba jej nalepit na terčík (= nosič) a následně pokud možno okamžitě pokovit. Vzorky se na kovový (nejčastěji hliníkový) terčík lepí oboustrannou lepicí uhlíkovou páskou nebo koloidním stříbrem.

U vzorků větších instarů se vyskytly problémy s nedostatečným odvodem přebytečných elektronů a k následnému nabíjení celého vzorku. Stává se to u větších objektů nebo při nedostatečném „uzemnění“. Tento problém se vyřešil vytvořením tzv. vodivých mostů z uhlíkové pásky.

3.2.3.3.4. Pokovení

Po nalepení na nosič je nutné preparáty pokrýt vrstvou vodivého materiálu. Důvodem je téměř nulová vodivost u vysušených biologických objektů a nabíjení povrchu primárními elektrony. Vzorky byly pokoveny zlatem metodou vakuového napařování a následně pozorovány skenovacím elektronovým mikroskopem JEOL 6380 LV.

3.2.4. Terminologie

Termíny popisující jednotlivé části a struktury pachových žláz u ploštic nejsou používány jednotně, jejich terminologie není ustálená, často autoři používají pouze topografických termínů (např. Matesco *et al.* 2008). Navíc v popisech DAGs jsou často používány nepřesně termíny zavedené pro MTGs. V diplomové práci je jednotně používána následující terminologie.

Je navrženo rozdělení částí a struktur DAGs obdobně jako v případě MTG (Kment & Vilímová 2010, in press.):

Interní části:

Kutikulární ***rezervoár*** s epitelem obsahujícím ***sekreční jednotky – jednobuněčné*** jednotky (= sekreční buňky 1. třídy, např. podle prací Noirot & Quenedey 1991 a Quenedey 1998) nebo ***mnohobuněčné*** jednotky (sekreční buňky 3. třídy) v DAGs vždy se dvěma kanálkovými buňkami, tj. trojbuněčné jednotky. Po odstranění měkkých tkání žláznatého epitelu jsou rozlišitelné kutikulární struktury trojbuněčné sekreční jednotky (postupně od sekreční buňky k rezervoáru):

Receiving canal = duktulus = **přívodní kanálek**

Saccule = sakulus = **váček**

Conducting canal = duktulus = usměrňující kanálek/**odvodný kanálek** se zřetelně rozšířeným a sklerotizovaným apexem ústícím do rezervoáru. Použitá terminologie byla založena na řadě detailních studií morfologie DAGs ploštic (Staddon 1979, 1990, 1999, Hamilton *et al.* 1985, Staddon *et al.* 1987, Farine 1987, 1988, Lucchi & Solinas 1990, Lucchi 1993, Cassier *et al.* 1994, Weirauch 2006).

Na bázi rezervoáru může být vyvinuta kutikulární struktura, **valva** = valvula (výběžek posteriorní stěny rezervoáru, **záklopka**), která ho uzavírá.

Odvodný systém žlázy („scent efferent system“):

U DAGs je tvořen pouze externími částmi, interní část vyvinutá u MTGs = vestibul, zde není přítomna.

Externí části:

Ostiola – vlastní vyústění rezervoáru žlázy na dorsum abdominu, šterbinovitého až polokruhovitého tvaru/obrysu.

Evaporatorium – podle definice Nichols & Schuh (1989) se jedná o část kutikuly asociované s ostiolou a sloužící k rychlému odpaření sekrece pachové žlázy. Nejdůležitější charakteristikou evaporatoria je, že kutikula musí mít specializovanou skulpturu.

Ouškovitý výběžek (v následujícím textu jako „**ouško**“, **ouškovitá struktura**) je výběžek kutikuly ve tvaru ouška laterálně od ostioly, který se postupně k apexu zvedá nad plochu terga. U prvního instaru je v tomto místě vyvinut **zesílený kutikulární výběžek**.

Anteromediálně a mediálně od ostiol se nachází příčná vyvýšená struktura, tzv. **kutikulární val**.

Externí struktury DAGs jsou umístěny na **dorsálním mediálním skleritu** (dále i jako mediální sklerit, sklerotizovaná plocha/oblast), většinou odlišeném od okolní kutikuly silnější sklerotizací a pigmentací.

Kutikulární val se nachází anteriorně a posteriorně od ostiol.

V těsném okolí ostioly se vyskytuje kutikula se specifickou skulpturou několika typů. Jejich označení bylo vybráno na základě srovnání s již popsanými skulpturami kutikuly, např. velmi podrobně u zástupce Blissidae (Xue & Bu 2007) a napříč zástupci Lygaeoidea (Xue & Bu 2008). Zvrásněná kutikula = **vrásnění**, které se sbíhá radiálně k ostiole anteriorní DAG. **Sít'ovitá skulptura kutikuly (evaporatorium)** = mřížkovitá/mřížovitá – síť vystouplých žebor tvořící nepravidelné mnohoúhelníky = buňky, v nich (na dně) mírně vystouplá, zvlněná malá/jemná žebra na obrázcích popsána jako

vrásnění evaporatoria. ***Bochánkovitá skulptura*** – pro tuto specifickou skulpturu, která nebyla zatím popsána je zaveden nový termín. Připomíná kuželovitou skulpturu (např. Xue & Bu 2007), ale výběžky kutikuly jsou nižší, širší a více zduřelé. Rozkládá se v okolí anteriorní žlázy.

Zkratky použité pro studované struktury a na obrázcích:

A – oblast anteriorní DAG

B – bochánkovitá skulptura

BE – buňka evaporatoria

BV – bochánkovité výběžky

E – evaporatorium

K – kanálky

KV – kutikulární val

M – oblast mediální DAG

MSAL – mediální sklerit levé části anteriorní DAG

MSAP – mediální sklerit pravé části anteriorní DAG

MSM – mediální sklerit mediální DAG

MSP – mediální sklerit posteriorní DAG

OA – ostiola anteriorní DAG

OM – ostiola mediální DAG

OP – ostiola posteriorní DAG

OS – ouškovitá struktura

P – oblast posteriorní DAG

RA – rezervoár anteriorní DAG

RM – rezervoár mediální DAG

RP – rezervoár posteriorní DAG

VE – vrásnění evaporatoria

V – vrásnění

Z – záklopka

ZE – žebra evaporatoria

ZV – zesílený kutikulární výběžek

4. VÝSLEDKY

U druhu *Elasmucha ferrugata* jsou vyvinuty DAGs na třech abdominálních segmentech. V následujícím popisu jsou označeny jako anteriorní DAG (= anteriorní žláza), mediální DAG (= mediální žláza) a posteriorní DAG (= posteriorní žláza).

Rezervoáry žláz zasahují vždy anteriorně od svých ostiol, tj. pod celou délku předchozích terg, 3., 4. a 5. Ostioly jsou umístěny v intersegmentální linii, u larev na nápadných, tmavých dorsálních mediálních skleritech. U všech larválních instarů jsou ostioly zcela exponované, křídelní pochvy, pokud jsou vyvinuty, jsou od nich výrazně oddálené.

Ostioly jsou umístěny na nápadných, tmavých dorsálních mediálních skleritech. U imag jsou ostioly kryty oběma páry křídel, celé dorsum abdominu, včetně okolí ostiol, je slaběji sklerotizované než u larev.

4.1. Anteriorní žláza (Obrázek 4–52)

Jako jediná z DAGs je anteriorní žláza párová. Je umístěna pod 3. tergem. Párové ostioly se nacházejí na hranici 3. a 4. terga.

Nejnápadnější interní kutikulární struktury anteriorní žlázy představují párové váčkovité rezervoáry. Jejich tvar je u všech larválních instarů i u dospělců podobný. Báze rezervoáru se rozkládá podél mediálního skleritu, mediálně je patrné zúžení rezervoáru. Apikální část kutikulárního váčku je opět rozšířená, kruhová, kopulovitá, posunutá laterálně.

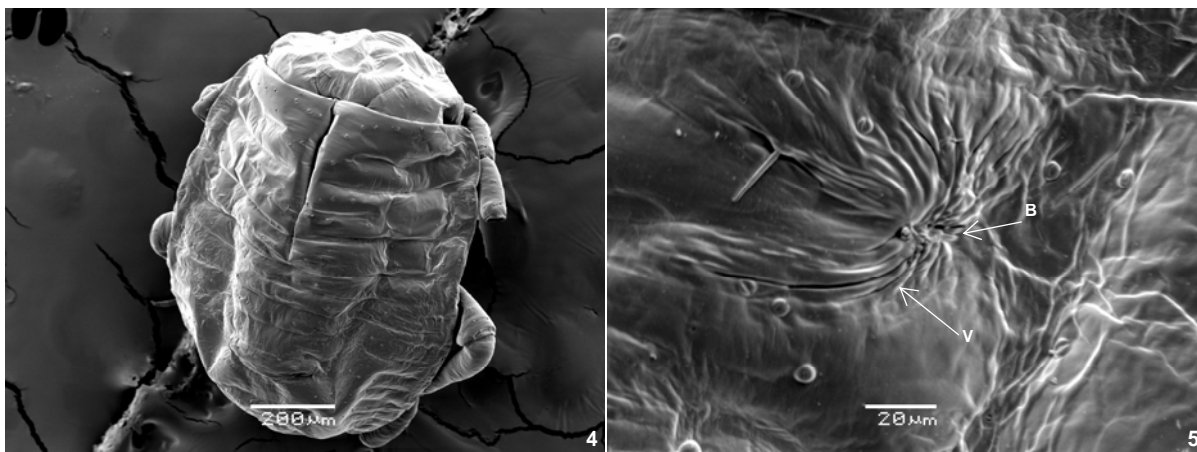
V apikální části rezervoáru se nacházejí od druhého instaru rozšířená vyústění kanálků vícebuněčných sekrečních jednotek (v celém následujícím textu označeny tyto struktury jako kanálky). Počet kanálků se během ontogeneze zvyšuje. Nejvíce jich bylo zjištěno u pátých larválních instarů a u dospělců samčího pohlaví. Kanálky byly pozorovány pouze v apikální části rezervoáru anteriorní žlázy (anteriorní část dorsální stěny a anteriorní část ventrální stěny), nikdy nebyly pozorovány v jiné části rezervoáru.

Každý rezervoár ústí na povrch dorsa abdominu štěrbinovitou ostioulou (= vyústění). Ostiola je kryta z dorsální strany posteriorním krajem 3. terga, proto není v přirozeném stavu, např. ve skenovacím elektronovém mikroskopu, patrná. Její tvar a umístění je dobře viditelné v optickém mikroskopu po částečné maceraci. Vyústění je situováno v laterální části mediálního skleritu.

Celá soustava popsaných struktur leží na mediálním skleritu (= sklerotizované oblasti), který je výrazně sklerotizován. Stupeň jeho sklerotizace se během ontogenese postupně zvyšuje až do pátého instaru. Párové sklerotizované oblasti mají kapkovitý tvar, jejich širší část leží laterálně a užší části se sbíhají ke středové podélné ose dorsa.

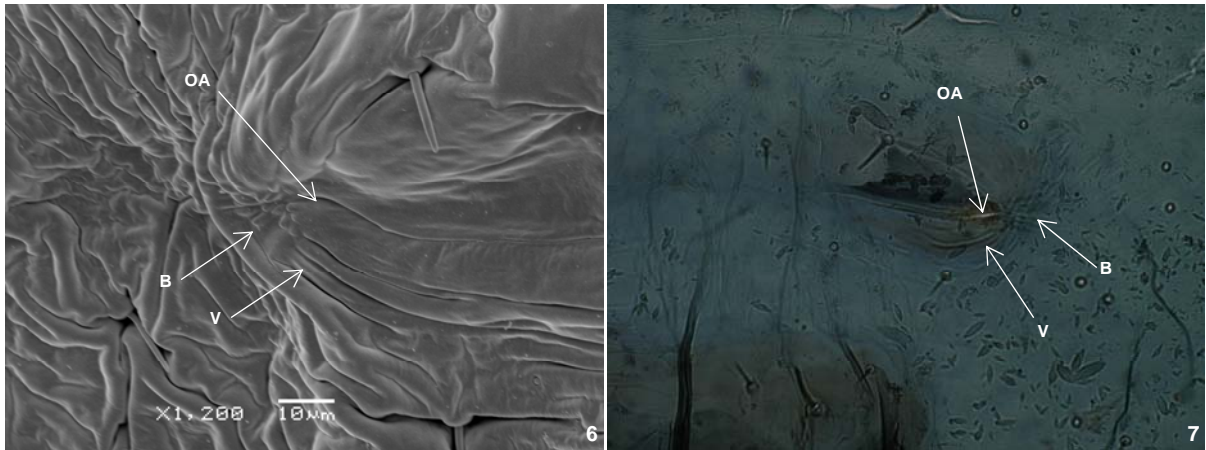
U vnějšího okraje sklerotizované oblasti je kutikula modifikována v bochánkovitou skulpturu, jejíž plocha se během ontogenese postupně zvětšuje. Tato skulptura je v těsné blízkosti laterálního okraje ostioly. Je tvořena jednotlivými bochánky, zaoblenými výběžky, které vystupují nad povrch okolní kutikuly. Bochánky mají během ontogenese konstantní velikost, zvětšuje se pouze jejich počet v závislosti na ploše, kterou zaujímá celá bochánkovitá skulptura. Radiálně se od plochy s bochánkovitou skulpturou rozbíhá zvrásněná plocha. Vrásnění je asymetrické, delší vrásky se vyskytují mediálně a posteriorně od rýhy, která tvoří hranici segmentů.

4.1.1. První larvální instar (Obrázek 4–12)



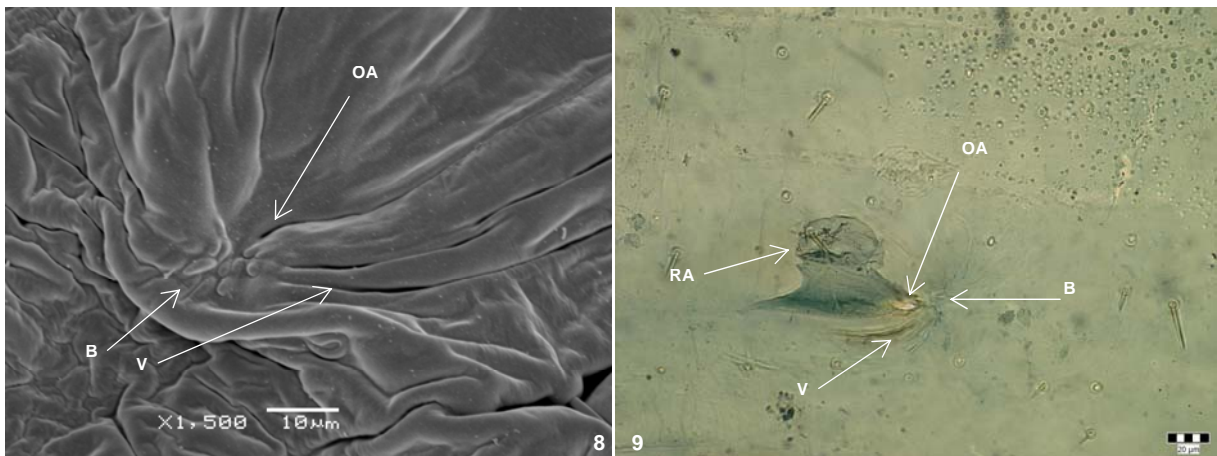
Obrázek 4, 5. *Elasmucha ferrugata*, první larvální instar, anteriorní DAG, externí kutikulární struktury. 4 – celkový habitus, dorsální pohled; SEM. 5 – pravá část anteriorní žlázy. Vysvětlivky: B – bochánkovitá skulptura, V – vrásnění.

Oblast vyústění anteriorní žlázy prvního instaru je pouze slabě sklerotizovaná (Obrázek 4). Plocha sklerotizované oblasti u každého rezervoáru anteriorní žlázy činí 1,01 % z celkové plochy dorsální části abdominu (Obrázek 4, 5, Tabulka 2). Mediální sklerit celé anteriorní žlázy tvoří tedy 2,02 % (Obrázek 6, 7). Následující procentuální údaje se vztahují již pouze k této sklerotizované ploše.



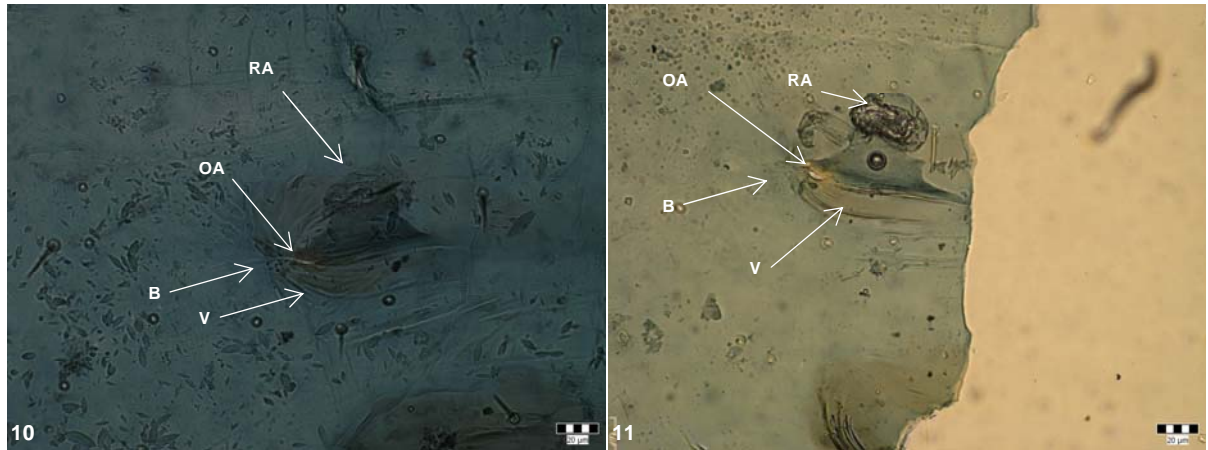
Obrázek 6, 7. *Elasmucha ferrugata*, první larvální instar, levá část anteriorní DAG, kutikulární struktury. 6 – detail ostioly a okolní kutikuly s modifikovanou skulpturou; SEM. 7 – optický mikroskop, zvětšeno 600x. Vysvětlivky: B – bochánkovitá skulptura, OA – ostiola anteriorní DAG, V – vrásnění.

Bylo naměřeno, že u prvního instaru zaujímá bochánkovitá skulptura 3,00 % z mediálního skleritu anteriorní DAG. Ke strukturám dobře rozlišitelným jak ve skenovacím elektronovém mikroskopu tak v optickém mikroskopu patří i vrásnění, které se sbíhá k ostiole, do místa s bochánkovitou skulpturou (Obrázek 8). Plocha zvrásněné skulptury zaujímá vždy kolem 1/3 mediálního skleritu u jednotlivých vyústění anteriorní žlázy. Z naměřených hodnot dostáváme v průměru plochu s vrásněním o velikosti 30,82 % mediálního skleritu anteriorní DAG (Obrázek 9-12, Tabulka 3).

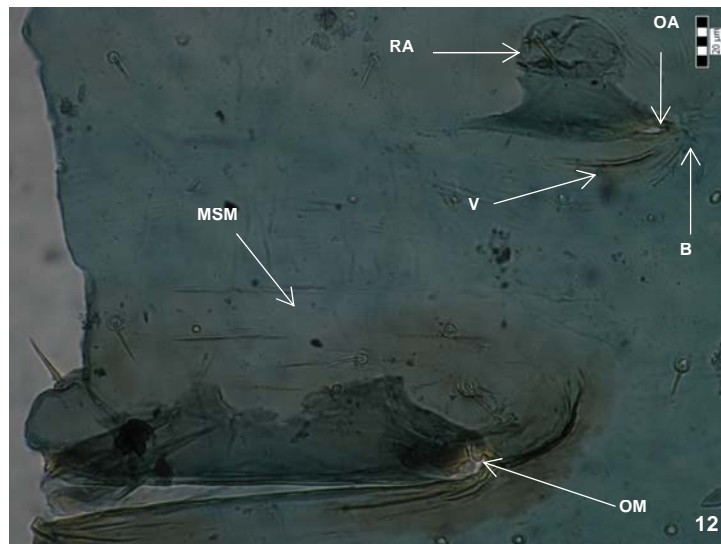


Obrázek 8, 9. *Elasmucha ferrugata*, první larvální instar, levá část anteriorní DAG, kutikulární struktury. 8 – detail ostioly a okolní kutikuly s modifikovanou skulpturou; SEM. 9 - rezervoár; optický mikroskop. Vysvětlivky: B – bochánkovitá skulptura, OA – ostiola anteriorní DAG, RA – rezervoár anteriorní DAG, V – vrásnění.

V rezervoárech anteriorní žlázy prvních instarů nebyly pozorovány žádné kanálky sekrečních jednotek (Tabulka 4) (Obrázek 9, 11), pouze jejich kutikulární intima.



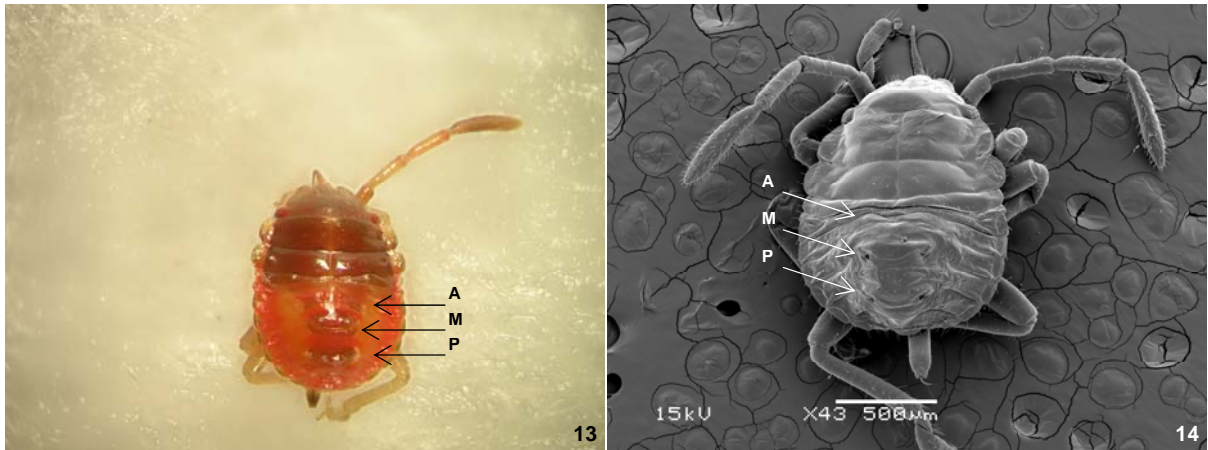
Obrázek 10, 11. *Elasmucha ferrugata*, první larvální instar, pravá část anteriorní DAG, kutikulární struktury; optický mikroskop. Vysvětlivky: B – bochánkovitá skulptura, OA – ostiola anteriorní DAG, RA – rezervoár anteriorní DAG, V – vrásnění.



Obrázek 12. *Elasmucha ferrugata*, první larvální instar, anteriorní a mediální DAGs, levá strana těla, srovnání tvaru ostiol; optický mikroskop. Vysvětlivky: B – bochánkovitá skulptura, MSM – mediální sklerit mediální DAG, OA – ostiola anteriorní DAG, OM – ostiola mediální DAG, RA – rezervoár anteriorní DAG, V – vrásnění.

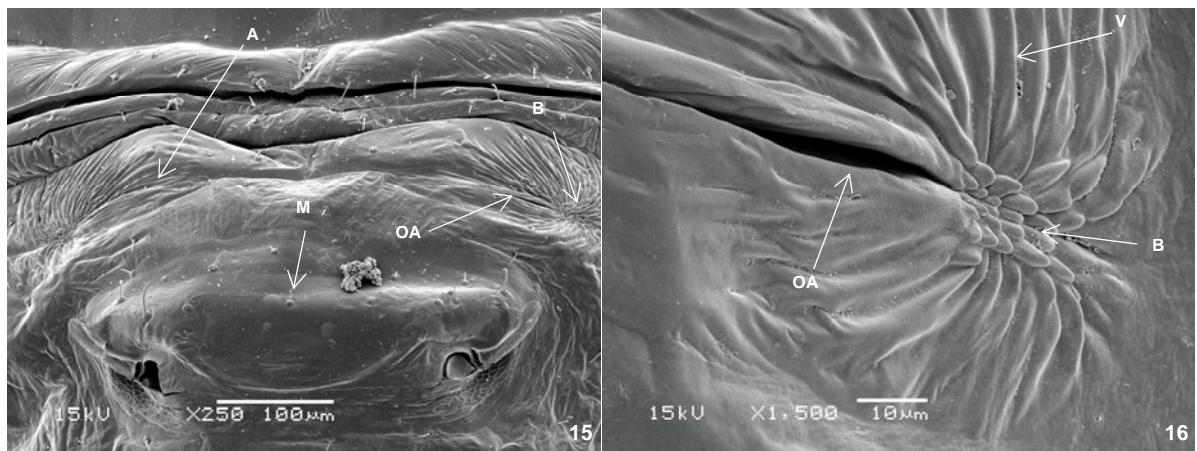
4.1.2. Druhý larvální instar (Obrázek 13–18)

Oblast vyústění anteriorní žlázy druhého instaru je silněji sklerotizovaná (Obrázek 13, 14). Plocha sklerotizované oblasti u každé anteriorní žlázy je 1,80 % (Tabulka 2). Dohromady tedy mediální sklerit anteriorní DAG představuje 3,59 % z celkové plochy dorsální části abdominu.

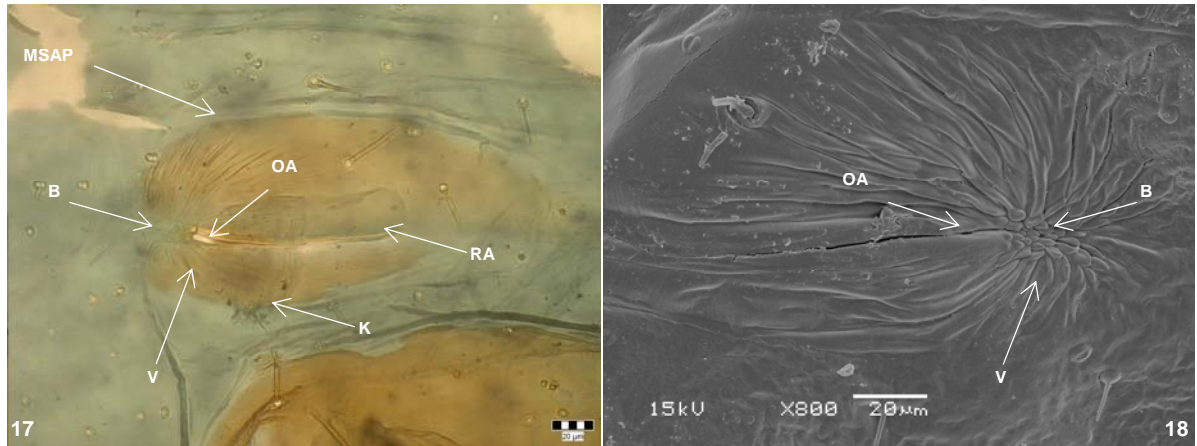


Obrázek 13, 14. *Elasmucha ferrugata*, druhý larvální instar, celkový habitus, dorsální pohled. 13 – viditelné barevné ohraničení mediálních skleritů; optická stereolupa, zvětšeno 32x . 14 - SEM. Vysvětlivky: A – oblast anteriorní DAG, M – oblast mediální DAG, P – oblast posteriorní DAG.

Bochánkovitá skulptura navazující na vnější okraje štěrbinovitých ostiol zaujímá 2,32 % ze sklerotizované plochy asociované s anteriorní DAG. Vrásnění u anteriorní žlázy druhého instaru je jemnější než u prvního, plocha zvrásněné skulptury tvoří 48,65 % sklerotizované plochy (Obrázek 15–18, Tabulka 3).



Obrázek 15, 16. *Elasmucha ferrugata*, druhý larvální instar, anteriorní DAG, externí kutikulární struktury. 15 – anteriorní a mediální DAGs; SEM. 16 – pravá část žlázy, detail modifikace kutikuly v okolí ostioly; SEM. Vysvětlivky: A – oblast anteriorní DAG, B – bochánkovitá skulptura, M – oblast mediální DAG, OA – ostiola anteriorní DAG, V – vrásnění.

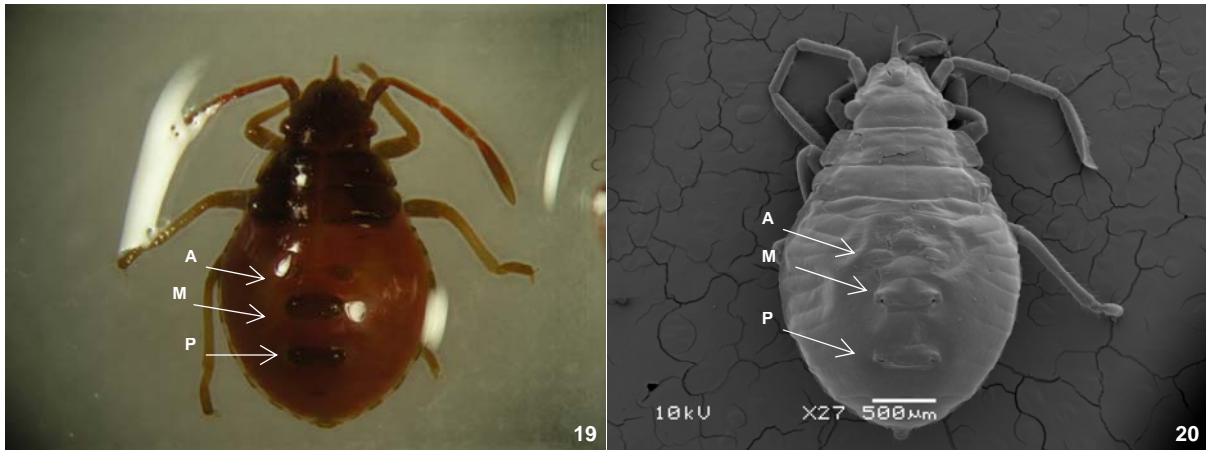


Obrázek 17, 18. *Elasmucha ferrugata*, druhý larvální instar, pravá část anteriorní DAG, kutikulární struktury. 17 – detail ostioly a okolní kutikuly s modifikovanou skulpturou; optický mikroskop. 18 – SEM. Vysvětlivky: B – bochánkovitá skulptura, K – kanálky, MSAP – pravá část mediálního skleritu anteriorní DAG, OA – ostiola anteriorní DAG, RA – rezervoár anteriorní DAG, V – vrásnění.

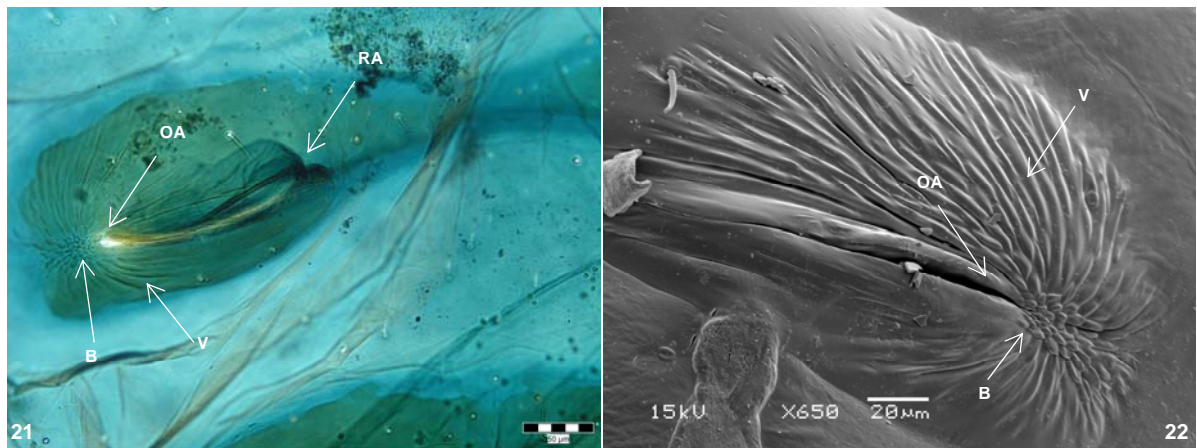
Rezervoáry anteriorní DAG druhého instaru jsou vyvinuty zřetelněji než u 1. instaru. V apikální části rezervoáru byly pozorovány kanálky mnohobuněčných sekrečních jednotek. Na intimě jednoho rezervoáru, bylo zjištěno maximálně vždy deset kanálků (v rezervoárech anteriorní DAG bylo napočítáno od 12 do 18 kanálků) (Obrázek 17, Tabulka 4).

4.1.3. Třetí larvální instar (Obrázek 19–24)

Oblast vyústění anteriorní žlázy třetího instaru je sklerotizovaná silněji než u druhého instaru. Mediální sklerit v okolí ostiol anteriorní DAG tvoří 1,68 % z celkové plochy dorsa abdominu (Obrázek 19, 20). Pro každou ostiolu anteriorní DAG je to tedy 0,84 % (Tabulka 2), oproti druhému instaru dochází ke zmenšení plochy silnější sklerotizace v okolí vyústění žlázy (Obrázek 21).

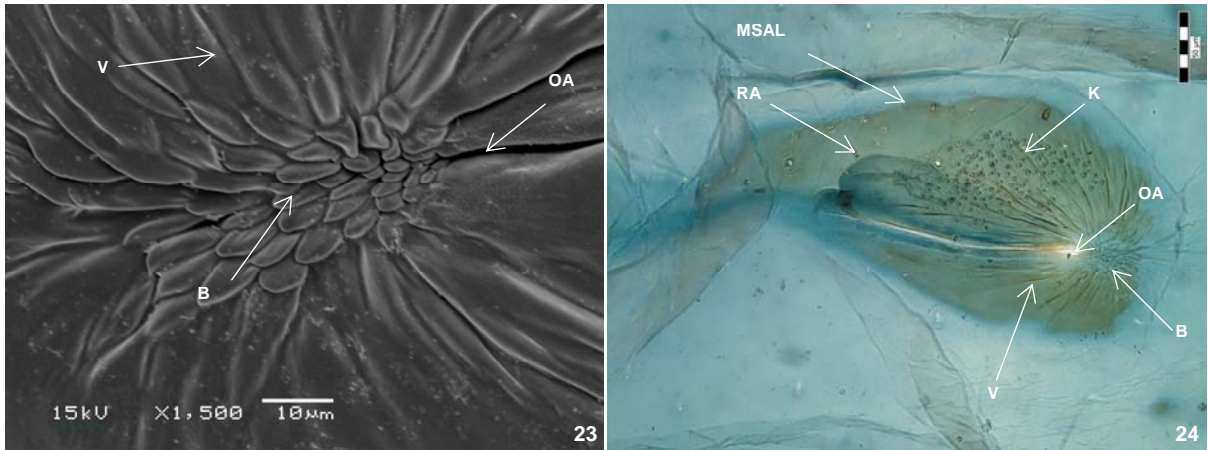


Obrázek 19, 20. *Elasmucha ferrugata*, třetí larvální instar, celkový habitus, dorsální pohled. 19 – viditelné barevné ohraničení mediálních skleritů; optická stereolupa, zvětšeno 32x. 20 – SEM. Vysvětlivky: A – oblast anteriorní DAG, M – oblast mediální DAG, P – oblast posteriorní DAG.



Obrázek 21, 22. *Elasmucha ferrugata*, třetí larvální instar, pravá část anteriorní DAG, kutikulární struktury. 21 – detail ostioly a okolní kutikuly s modifikovanou skulpturou; optický mikroskop. 22 – SEM. Vysvětlivky: B – bochánkovitá skulptura, OA – ostiola anteriorní DAG, RA – rezervoár anteriorní DAG, V – vrásnění.

Bochánkovitá skulptura, která je vyvinuta laterálně od ostiol, zaujímá 3,34 % z mediálního skleritu anteriorní DAG. Vrásnění je nápadnější než u druhého instaru, i když zaujímá relativně menší plochu z mediálního skleritu anteriorní DAG, tvoří oblast o velikosti 39,71 % (Obrázek 22, 23, Tabulka 3).

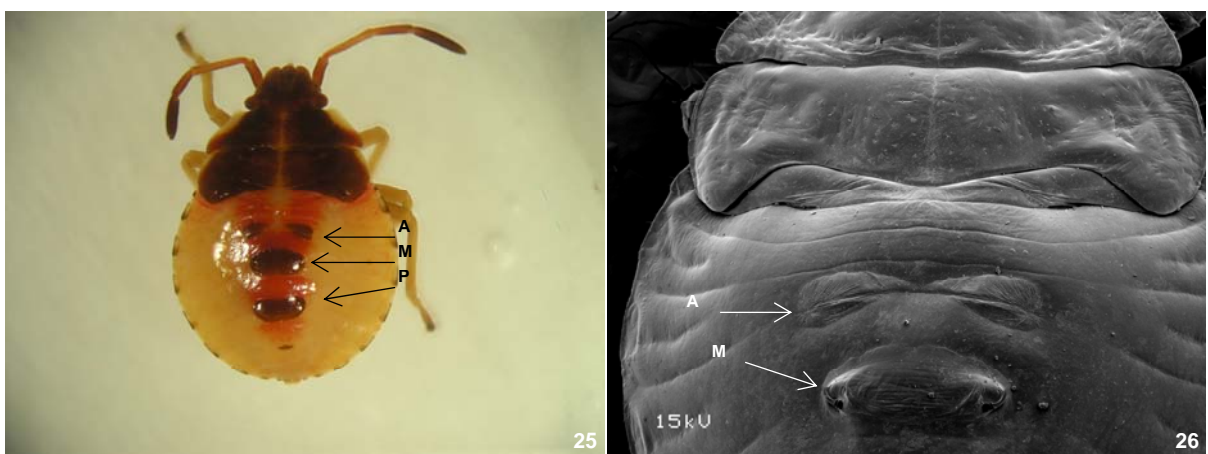


Obrázek 23, 24. *Elasmucha ferrugata*, třetí larvální instar, anteriorní DAG, kutikulární struktury. 23 – levá část, detail bochánkovité skulptury; SEM. 24 – levá část žlázy; optický mikroskop. Vysvětlivky: B – bochánkovitá skulptura, K – kanálky, MSAL – levá část mediálního skleritu anteriorní DAG, OA – ostiola anteriorní DAG, RA – rezervoár anteriorní DAG, V – vrásnění.

Rezervoáry anteriorní DAG třetího instaru jsou vyvinuty nápadněji než u druhého instaru. V apikální části rezervoárů bylo zjištěno od 180 do 222 kanálků (Obrázek 24, Tabulka 4).

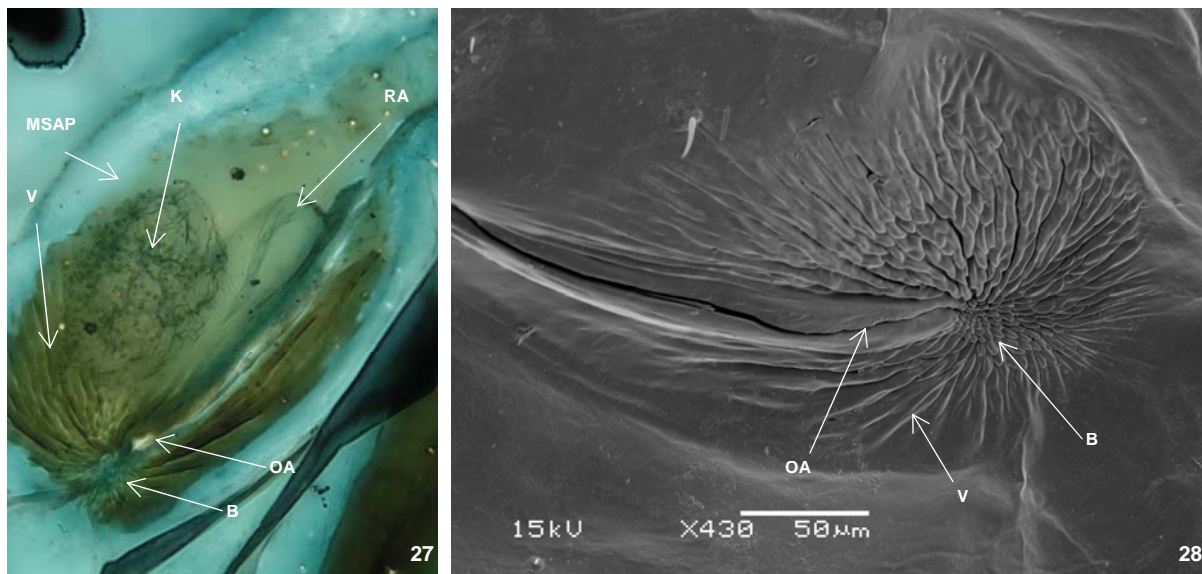
4.1.4. Čtvrtý larvální instar (Obrázek 25–28)

Oblast vyústění anteriorní žlázy čtvrtého instaru je silně sklerotizovaná. Sklerotizovaná oblast v okolí jedné ostioly DAG tvoří 0,83 % z celkové plochy dorsa abdominu (Tabulka 2), celkem tedy mediální sklerit anteriorní DAG zaujímá plochu o velikosti 1,65 % (Obrázek 25, 26).



Obrázek 25, 26. *Elasmucha ferrugata*, čtvrtý larvální instar. 25 – celkový habitus, dorsální pohled, viditelné barevné ohraničení mediálních skleritů; optická stereolupa, zvětšeno 16x. 26 – dorsum abdominu s anteriorní a mediální DAGs; SEM, zvětšeno 55x. Vysvětlivky: A – oblast anteriorní DAG, M – oblast mediální DAG, P – oblast posteriorní DAG.

Bochánkovitá skulptura se rozkládá na 4,90 % mediálního skleritu anteriorní DAG. Sklerotizované okolí anteriorní žlázy je zbrzděno vrásněním, jehož plocha zaujímá 47,87 % (Obrázek 27, 28, Tabulka 3).

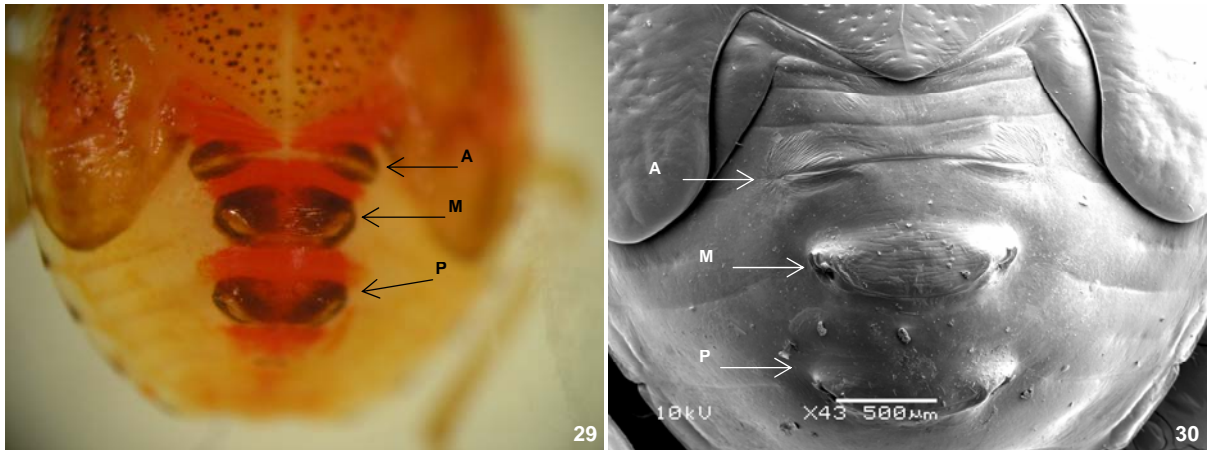


Obrázek 27, 28. *Elasmucha ferrugata*, čtvrtý larvální instar, pravá část anteriorní DAG, kutikulární struktury. 27 – detail ostioly a okolní kutikuly s modifikovanou skulpturou; optický mikroskop, zvětšeno 400x. 28 – SEM. Vysvětlivky: B – bochánkovitá skulptura, K – kanálky, MSAP – pravá část mediálního skleritu anteriorní DAG, OA – ostiola anteriorní DAG, RA – rezervoár anteriorní DAG, V – vrásnění.

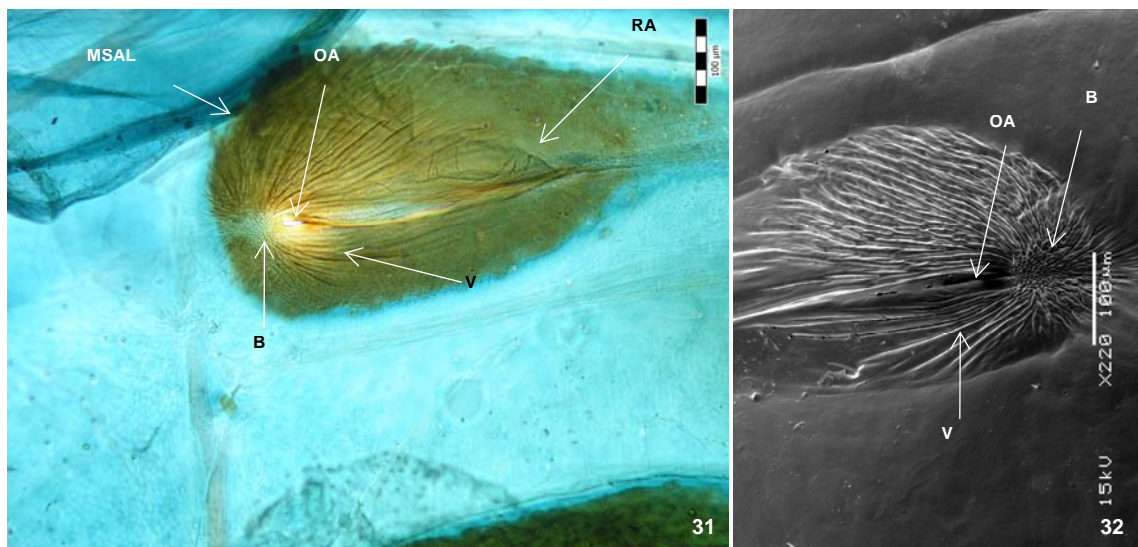
Rezervoáry anteriorní DAG čtvrtého instaru jsou nápadnější než u třetího instaru. Kanálky jsou přítomny opět v apikální části rezervoáru a jejich počet je ve srovnání s třetím instarem dvojnásobný, v průměru bylo spočítáno od 420 do 460 kanálků v rezervoárech anteriorní DAG (Obrázek 27, Tabulka 4).

4.1.5. Pátý larvální instar (Obrázek 29–38)

Anteriorní žláza pátého instaru je umístěna pod silně sklerotizovanou kutikulou, jejíž plocha tvoří 2,1 % celé plochy dorsa abdominu. Plocha sklerotizované oblasti u jedné ostioly je tedy reprezentována sklerotizovanou kutikulou o velikosti 1,05 % celkové plochy dorsa abdominu (Obrázek 29, 30, Tabulka 2).

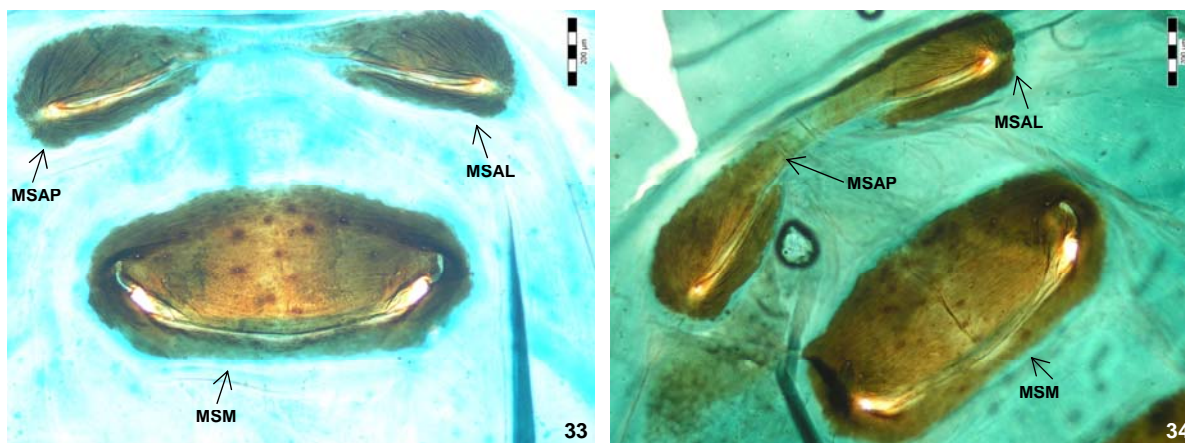


Obrázek 29, 30. *Elasmucha ferrugata*, pátý larvální instar, samice, abdomen, dorsální pohled. 29 – viditelné barevné ohraničení mediálních skleritů; optická stereolupa, zvětšeno 32x. 30 – SEM. Vysvětlivky: A – oblast anteriorní DAG, M – oblast mediální DAG, P – oblast posteriorní DAG.



Obrázek 31, 32. *Elasmucha ferrugata*, pátý larvální instar, samec, pravá část anteriorní DAG, kutikulární struktury. 31 – detail ostioly a okolní kutikuly s modifikovanou skulpturou; optický mikroskop. 32 – SEM. Vysvětlivky: B – bochánkovitá skulptura, MSAL – levá část mediálního skleritu anteriorní DAG, OA – ostiola anteriorní DAG, RA – rezervoár anteriorní DAG, V – vrásnění.

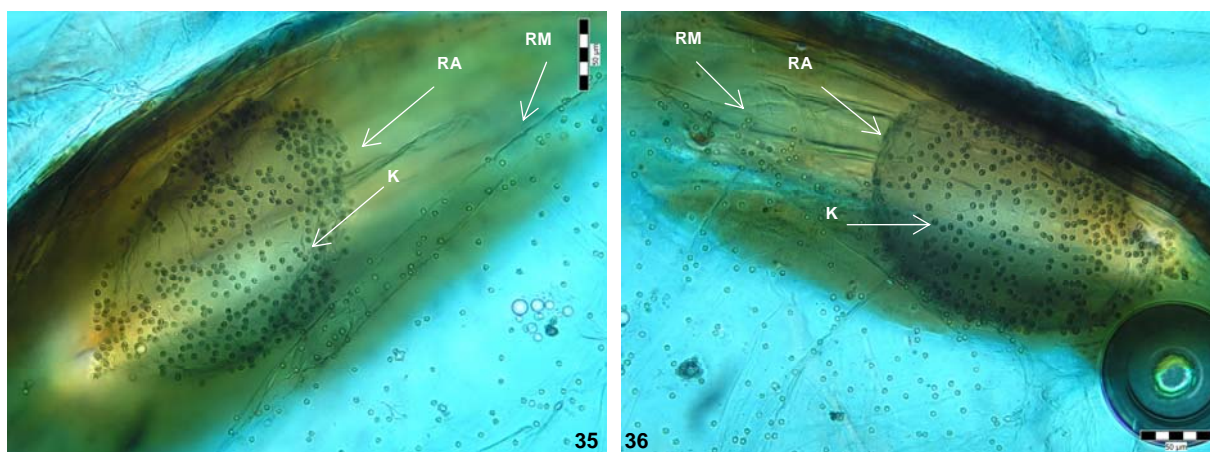
Bochánkovitá skulptura zaujímá relativně velkou plochu u laterálního okraje štěrbinovitých ostioli (Obrázek 31, 32). Rozsah této plochy je větší než u čtvrtého instaru, zaujímá plochu o velikosti 5,63 % mediálního skleritu anteriorní DAG, samice v průměru 5,50 % (Obrázek 33), samci 5,75 % (Obrázek 34).



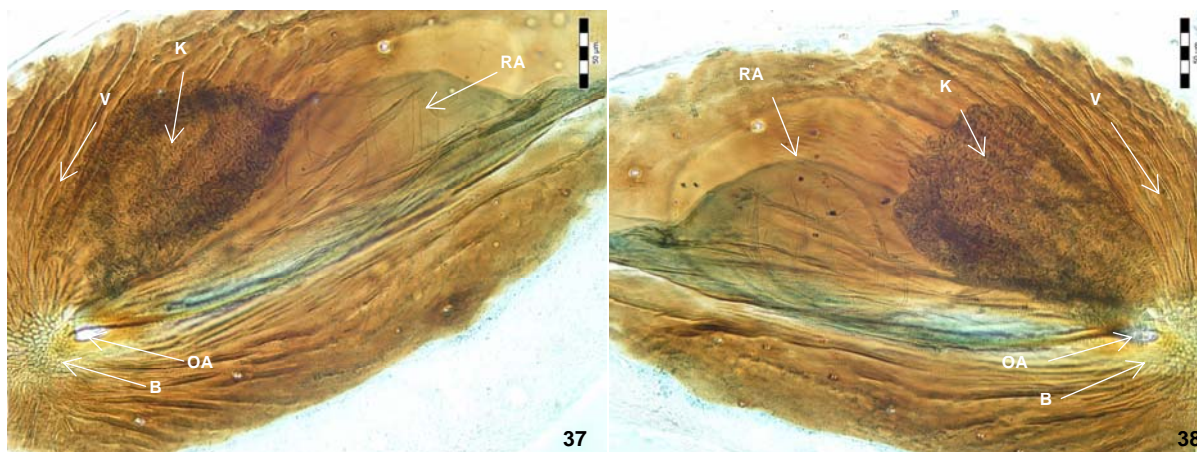
Obrázek 33, 34. *Elasmucha ferrugata*, pátý larvální instar, mediální sklerity anteriorní a mediální DAGs; optický mikroskop. 33 – samice. 34 – samec. Vysvětlivky: MSAL – levá část mediálního skleritu anteriorní žlázy, MSAP – pravá část mediálního skleritu anteriorní žlázy, MSM – mediální sklerit mediální DAG.

Vrásnění kutikuly u anteriorní žlázy pátého instaru je na 46,88 % plochy mediálního skleritu (Tabulka 3). Tyto hodnoty jsou průměrnými hodnotami u obou pohlaví. Při srovnání hodnot naměřených u jedinců jednotlivých pohlaví byly zjištěny pouze nepatrné rozdíly a to ve velikosti plochy, kterou pokrývá vrásnění. U samců je tato plocha oproti samicím menší, tvoří 44,74 %, zatímco u samic tvoří 49,21 %.

Rezervoáry anteriorní žlázy pátého instaru jsou velmi výrazné, jejich tvar je stejný u larev obou pohlaví. Mezi pohlavími však byly zjištěny rozdíly v počtech kanálků v apikální části rezervoárů anteriorní DAG. U samců byl tento počet nižší (948–1042 kanálků) (Obrázek 35, 36) než u samic (1396–1542 kanálků) (Obrázek 37, 38, Tabulka 4).



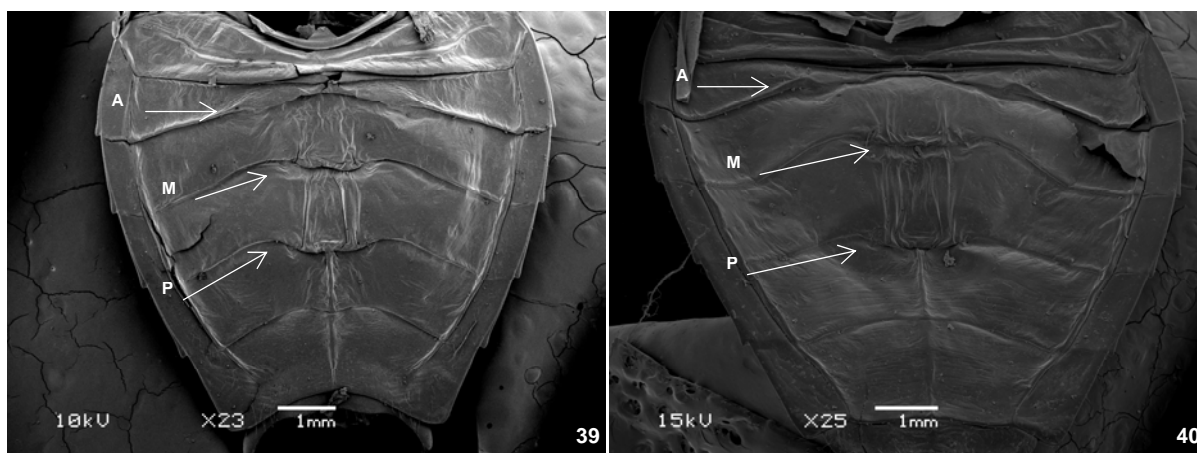
Obrázek 35, 36. *Elasmucha ferrugata*, pátý larvální instar, samec, rezervoár anteriorní DAG; optický mikroskop. 35 – pravý. 36 – levý. Vysvětlivky: K – kanálky, RA – rezervoár anteriorní DAG, RM – rezervoár mediální DAG.



Obrázek 37, 38. *Elasmucha ferrugata*, pátý larvální instar, samice, rezervoár anteriorní DAG; optický mikroskop. 37 – pravý. 38 – levý. Vysvětlivky: B – bochánkovitá skulptura, K – kanálky, OA – ostiola anteriorní DAG, RA – rezervoár anteriorní DAG, V- vrásnění.

4.1.6. Imago (Obrázek 39–52)

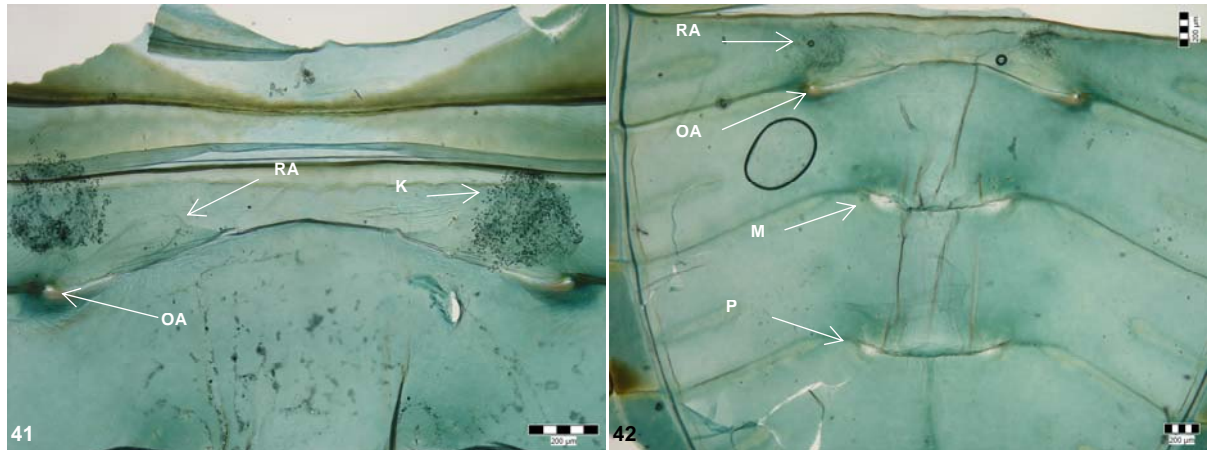
U dospělců je z DAGs nejvíce vyvinuta anteriorní žláza. Vyvinuté jsou jak externí struktury, které jsou popsány u předchozích larválních instarů (bochánkovitá skulptura a vrásnění) (Obrázek 39, 40), tak i rezervoáry v jejichž stěnách jsou zřetelná početná vyústění sekrečních jednotek.



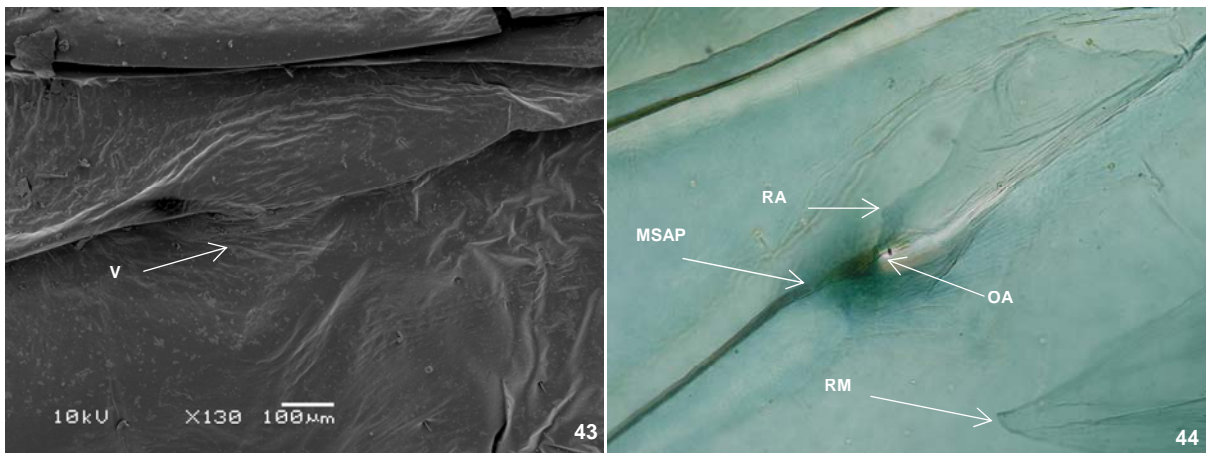
Obrázek 39, 40. *Elasmucha ferrugata*, imago, dorsum abdominu; SEM. 39 – samec. 40 – samice. Vysvětlivky: A – oblast anteriorní DAG, M – oblast mediální DAG, P – oblast posteriorní DAG.

Rezervoáry anteriorní DAG imag jsou nápadně vyvinuty u obou pohlaví, stejně jako u larválních instarů tak i u dospělců jsou kanálky umístěny v apikální části rezervoárů.

Sklerotizace kutikuly v okolí ostiol anteriorní žlázy je výrazně méně nápadná než u larválních instarů, v optickém mikroskopu je zjevná pouze jako lehce tmavší zbarvení v okolí ostiol (Obrázek 41, 42).

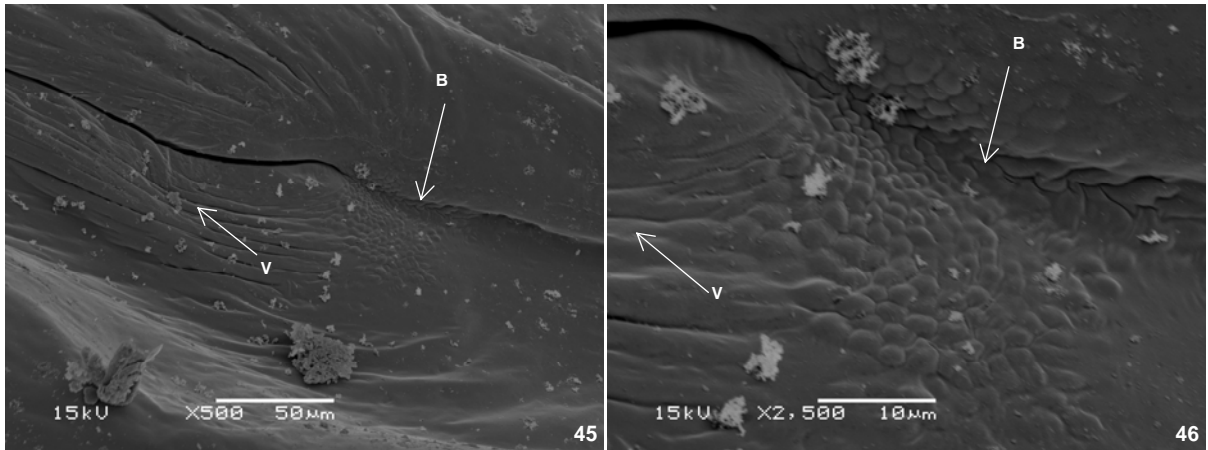


Obrázek 41, 42. *Elasmucha ferrugata*, imago; kutikulární struktury DAGs; optický mikroskop. 41 – samec, detail anteriorní DAG. 42 – samice, všechny DAGs. Vysvětlivky: K – kanálky, M – oblast mediální DAG, OA – ostiola anteriorní DAG, P – oblast posteriorní DAG, RA – rezervoár anteriorní žlázy.



Obrázek 43, 44. *Elasmucha ferrugata*, imago, samec, kutikulární struktury. 43 – levá část; SEM. 44 – pravá část; optický mikroskop, zvětšeno 200x. Vysvětlivky: MSAP - pravá část mediálního skleritu anteriorní žlázy, OA – ostiola anteriorní DAG, RA – rezervoár anteriorní DAG, RM – rezervoár mediální DAG, V - vrásnění.

Ostioly jsou štěrbinovité, zřetelně otevřené, laterálně po jejich stranách je viditelná bochánkovitá skulptura (Obrázek 43–50). Nejlépe viditelná je tato skulptura dobře v optickém mikroskopu, při slabém obarvení preparátu (Obrázek 48, 50). Ve skenovacím elektronovém mikroskopu byla oblast bochánkovité skulptury viditelná pouze z posteriorního pohledu po naklonění preparátu (Obrázek 46, 49).



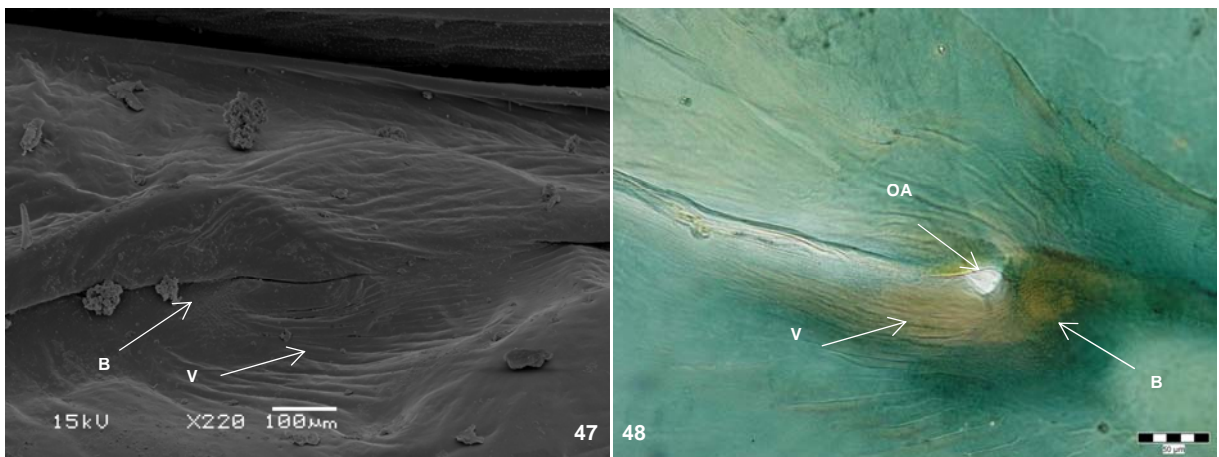
Obrázek 45, 46. *Elasmucha ferrugata*, imago, samec, externí kutikulární struktury pravé části anteriorní DAG; SEM. 45 – posteriorní pohled. 46 – detail bochánkovité skulptury. Vysvětlivky: B – bochánkovitá skulptura, V - vrásnění.

Vrásnění je vyvinuto hlavně posteriorně od ostioly (např. Obrázek 50).

Rozdíly mezi samci a samicemi byly pozorovány jak v externích kutikulárních strukturách, tak v počtu kanálků v rezervoárech (Tabulka 3, 4).

4.1.6.1. Samice (Obrázek 42, 47-50, 52)

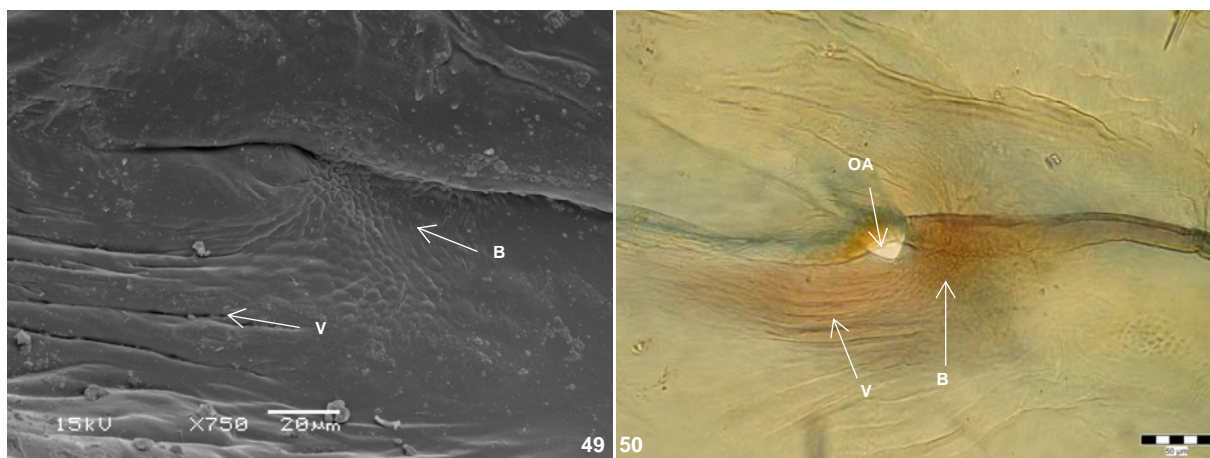
Plocha slabě sklerotizované kutikuly v okolí jedné ostioly anteriorní DAG zaujímá 0,10 % z celkové plochy dorsa abdominu, dohromady pro anteriorní DAG 0,20 % plochy (Obrázek 47, 48, Tabulka 2).



Obrázek 47, 48. *Elasmucha ferrugata*, imago, samice, kutikulární struktury v okolí ostioly levé části anteriorní DAG. 47 – SEM. 48 – optický mikroskop. Vysvětlivky: B – bochánkovitá skulptura, OA – ostiola anteriorní DAG, V - vrásnění.

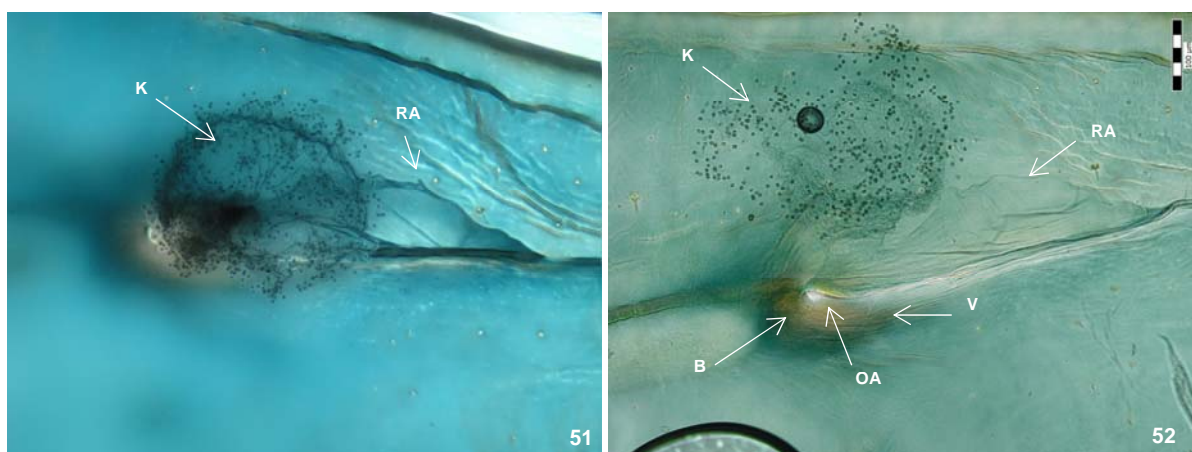
Bochánkovitá skulptura tvoří u samic 22,51 % ze sklerotizované plochy asociované s anteriorní DAG, vrásnění zaujímá 35,52 % této plochy (Obrázek 49, 50, Tabulka 3).

Vrásnění zřetelně nedosahuje až k ploše s bochánkovitou skulpturou, je vyvinuto na menší ploše než u larev, především posteriorně od otevřené šterbinovité ostioly.



Obrázek 49, 50. *Elasmucha ferrugata*, imago, samice, externí kutikulární modifikace v okolí ostioly anteriorní DAG. 49 – pravá část; SEM. 50 – levá část; optický mikroskop. Vysvětlivky: B – bochánkovitá skulptura, OA – ostiola anteriorní DAG, V - vrásnění.

Rezervoáry anteriorní DAG jsou u samice zřetelně vyvinuty, nejvíce je vyvinutá apikální část rezervoáru, ve které byl zjištěn vysoký počet kanálků. U samic bylo v průměru zjištěno 986–1118 kanálků (Obrázek 42, 52, Tabulka 4).



Obrázek 51, 52. *Elasmucha ferrugata*, imago, rezervoár pravé části anteriorní DAG; optický mikroskop; zvětšeno 200x. 51 – samec. 52 – samice. Vysvětlivky: B – bochánkovitá skulptura, K – kanálky, RA – rezervoár anteriorní DAG, OA – ostiola anteriorní DAG, V – vrásnění.

4.1.6.2. Samec (Obrázek 39, 41, 43–46, 51)

Plocha slaběji sklerotizované kutikuly asociované s jednou ostiolkou anteriorní DAG tvoří 0,12 % z plochy dorsa abdominu (Tabulka 2), dohromady pro celý mediální sklerit anteriorní DAG 0,24 % (Obrázek 41, 43, 44).

Bochánkovitá skulptura se rozkládá na 12,19 % sklerotizované plochy, což je daleko menší plocha oproti ploše bochánkovité skulptury u samice. Rozsah plochy s výrazným vrásněním je srovnatelný s relativní plochou, kterou vrásnění zaujímá u samic, rozkládá se na 32,39 %, především posteriorně od ostioly (Obrázek 45, 46, Tabulka 3).

Rezervoáry anteriorní DAG jsou u samce nápadně vyvinuty. Byl zjištěn vysoký počet kanálek v jejich apikálních částech, na rozdíl od samic daleko vyšší, od 1520 do 1800 kanálek (Obrázek 41, 51, Tabulka 4).

4.2. Mediální žláza (Obrázek 53–91)

Mediální DAG je nepárová s párovým vyústěním. Žláza je kryta 4. tergem, její ostioly jsou umístěny na rozhraní 4. a 5. terga. Mediální DAG je kryta sklerotizovanou kutikulou mediálního skleritu, míra sklerotizace se během ontogeneze zvyšuje, největší rozdíl je viditelný po prvním svlékání. Tvar skleritu je elipsovité a kopíruje rozsah kutikulárních rezervoáru, který je umístěn pod ní.

Rezervoár je nepárový, vakovitý, s elipsovítm průřezem. Na jeho intimě jsou pravidelně rozmístěny kanálky po celé ploše. Jsou vyvinuté u všech larválních instarů, u prvních larválních instarů a dospělých jedinců byly pozorovány pouze ve dvou případech a ve velmi nízkém počtu. Během ontogeneze se jejich počet u larválních instarů postupně zvyšuje.

Párové ostioly jsou umístěny laterálně na mediálním skleritu. Jsou uzavřeny kutikulární valvou polokruhovitěho obrysu. Valva je posteriorním okrajem, nejnápadněji posterolaterálně, kontinuální se stěnou rezervoáru v ostiole. Její anteriorní okraj se při otevření sklápí dovnitř rezervoáru. Na valvě může být na menší posterolaterální ploše vyvinuta skulptura velmi podobná bochánkovité skulptuře asociované s ostiolou anteriorní DAG. Na valvě je tato skulptura nazvaná bochánkovité výstupky.

V těsném sousedství ostiol jsou vyvinuty různé kutikulární struktury. Laterálně od ostiol je vyvinut buď zesílený kutikulární výběžek, u prvního instaru, nebo ve stejné pozici od druhého do pátého instaru ouškovitá struktura složitějšího tvaru. Další výraznou strukturou je kutikulární val tvaru velmi roztáhlého pásmene U. Jeho laterální konce začínají anteriorně od ostiol, mediální část je na úrovni ostiol, umístěna mezi nimi. Tento val je vyvinut až od druhého instaru a to do pátého instaru, u imag chybí.

Posteriorně a posterolaterálně od ostioly se rozkládá evaporatorium, kutikula s modifikovanou, síťovitou skulpturou. Žebra ohraničující buňky nepravidelného tvaru jsou výrazně vyvýšena nad okolní plochu. Vnitřní plocha těchto buněk je pokleslá, celá

struktura tak připomíná plástve včel. Velikost jednotlivých buněk je během ontogeneze konstantní, zvětšuje se pouze jejich počet v závislosti na absolutní velikosti plochy evaporatoria.

Ouškovitá struktura je tvořena slabým/tenkým výběžkem kutikuly, který je velmi nápadný v elektronovém mikroskopu, zatímco při pozorování v optickém mikroskopu je jen málo zřetelný. Jeho báze je umístěna laterálně od ostioly mediální žlázy, struktura směřuje anterolaterálně s apexem nápadně rozšířeným z dorsálního pohledu a nápadně vyvýšeným nad okolní kutikulu. Dorsální plocha ouškovité struktury je tvořena mělkým žlábkem s hladkou kutikulou, obdobné skulptury jako kutikula dorsa abdomenu. Posterolaterální plocha ouškovité struktury je pokryta skulpturou identickou evpaoratoriu, na které široce navazuje. Síťovitá skulptura tak souvisle pokrývá široce polokruhovitou plochu posteriorně od ostioly a ve stejné „šíři“ pokračuje posterolaterálně podél ouškovité struktury a na její posterolaterální stěně. V SEM je skulptura na oušku nejlépe pozorovatelná pokud je ohnuté, ne v přirozené poloze, lépe je zřetelná na macerovaném vzorku při použití optického mikroskopu. V optickém mikroskopu je také dobře patrné, že ouškovitá struktura je méně sklerotizovaná než okolní struktury a není tak zcela rigidní.

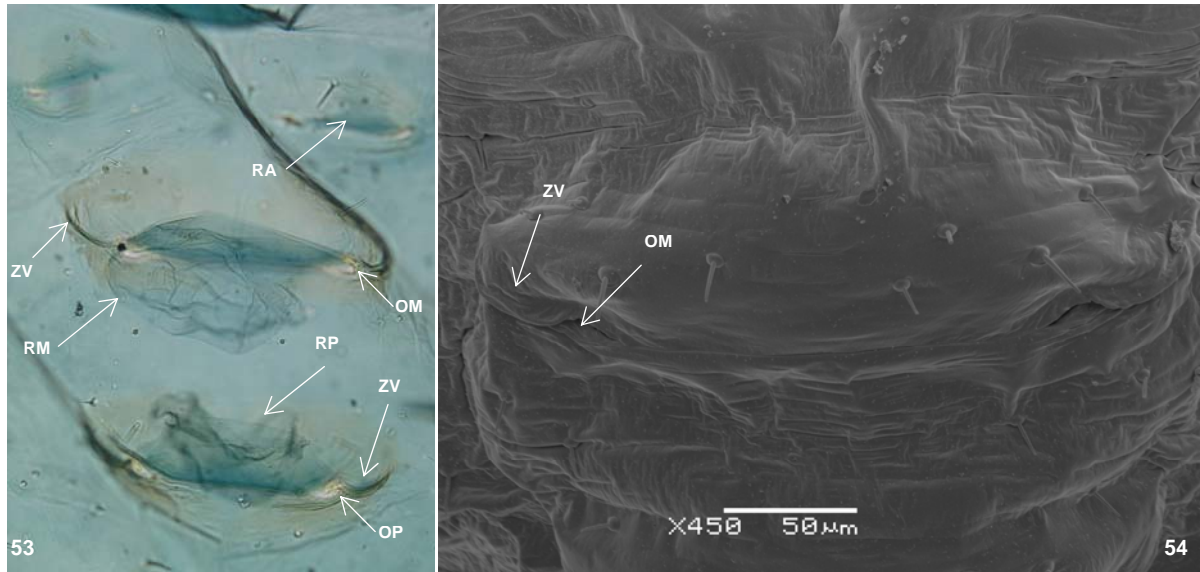
4.2.1. První larvální instar (Obrázek 53–56)

U prvního instaru je oblast v okolí mediální dorsoabdominální žlázy pouze slabě sklerotizovaná. Tento mediální sklerit elipsovitého tvaru tvoří 3,73 % z celkové plochy dorsa (Obrázek 53, Tabulka 2).

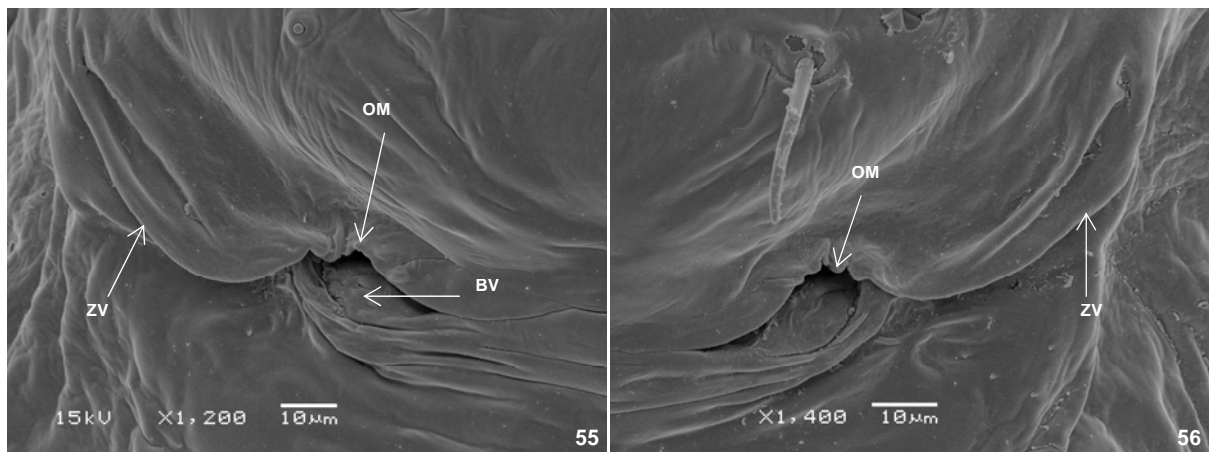
Nebyla zjištěna žádná externí skulptura, viditelná v elektronovém nebo v optickém mikroskopu. Pouze u jednoho jedince byly v optickém mikroskopu pozorovány slabé náznaky síťovité skulptury na malé ploše v okolí ostiol.

Jedinou modifikací kutikuly v okolí ostiol jsou zesílené kutikulární výběžky přesahující posteriorně intersegmentální linii (Obrázek 53–56). U starších larválních instarů se v této pozici vyvíjí ouškovitá struktura.

Ostioly mediální DAG jsou u prvního instaru štěrbinovité a mají téměř shodný tvar jako ostioly anteriorní DAG (Obrázek 53). V ostiole mediální DAG není u prvního instaru vyvinuta valva/základka typická od druhého instaru, která by ostiolu zcela uzavřela. Při pohledu „dovnitř“ ostioly jsou v její posteriorní části, tj. v posteriorní stěně rezervoáru těsně u ostioly, zřetelné bochánkovité výstupky stejného typu, jako u druhého instaru na valvě (Obrázek 55, 56).



Obrázek 53, 54. *Elasmucha ferrugata*, první larvální instar, kutikulární struktury DAGs. 53 – dorsální část abdominu; optický mikroskop, zvětšeno 400x. 54 – mediální sklerit mediální DAG; SEM. Vysvětlivky: OM – ostiola mediální DAG, OP – ostiola posteriorní DAG, RA – rezervoár anteriorní DAG, RM – rezervoár mediální DAG, RP – rezervoár posteriorní DAG, ZV – zesílený kutikulární výběžek.

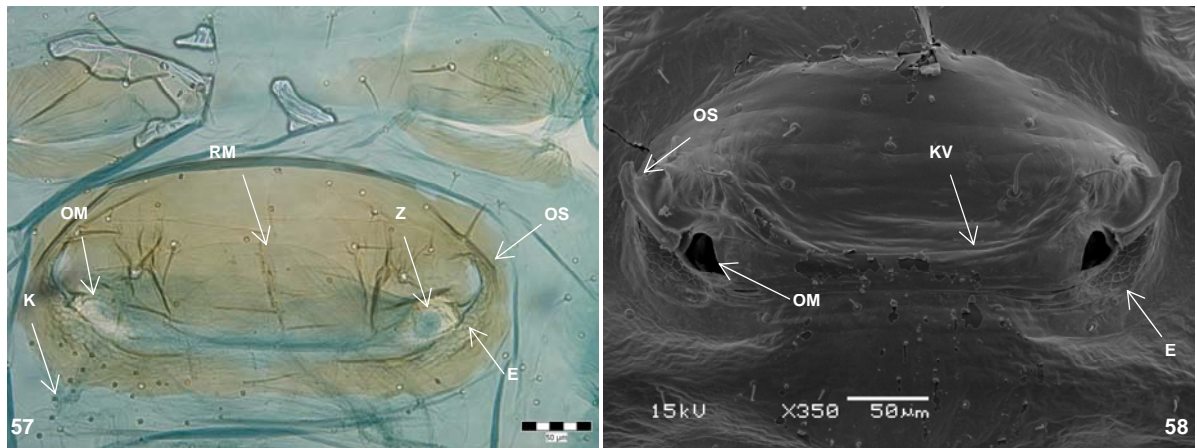


Obrázek 55, 56. *Elasmucha ferrugata*, první larvální instar, mediální DAG, detailní pohled na ostioli; SEM. 1 – levá ostiola. 2 – pravá ostiola. Vysvětlivky: BV – bočánkovité výstupky, OM – ostiola mediální DAG, ZV – zesílený kutikulární výběžek.

Rezervoár mediální DAG je u prvního instaru zřetelný, ale s minimálním počtem kanálků, cca 5 kanálků na rezervoár, u některých jedinců nebyly pozorované žádné (Obrázek 53, Tabulka 4).

4. 2. 2. Druhý larvální instar (Obrázek 57–61)

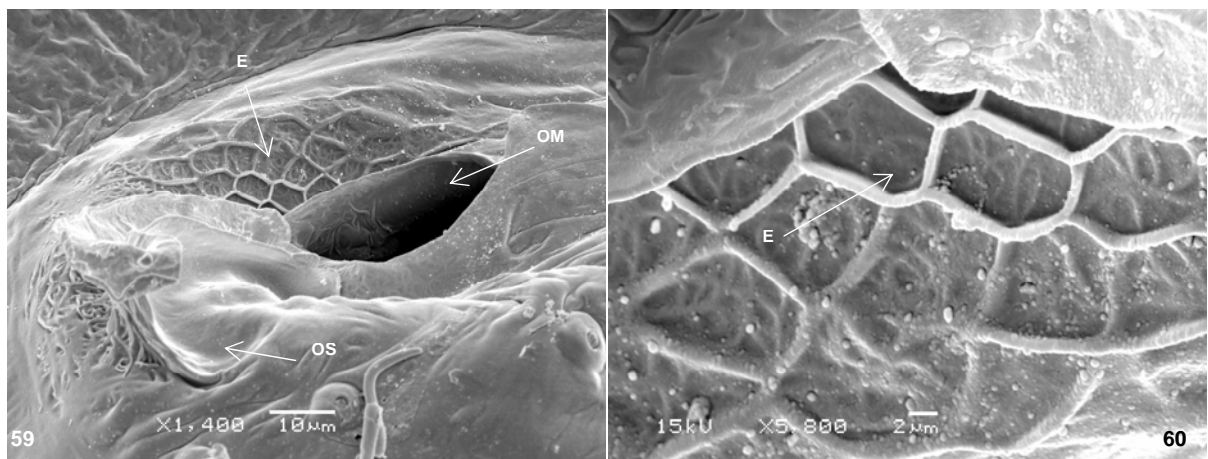
U druhého instaru dochází k nápadnému vývoji externích kutikulárních skulptur v okolí ostiol mediální DAG, velkou změnu prodělává i samotná ostiola, která má odlišný tvar a je zde vyvinuta valva, která ostiolu uzavírá (Obrázek 57, 58).



Obrázek 57, 58. *Elasmucha ferrugata*, druhý larvální instar, mediální DAG, kutikulární struktury. 57 – dorsální část abdominu; optický mikroskop. 58 – mediální sklerit mediální DAG; SEM. Vysvětlivky: E – evaporatorium, K – kanálky, KV – kutikulární val, OM – ostiola mediální DAG, OS – ouškovitá struktura, RM – rezervoár mediální DAG, Z - záklopka.

U druhého instaru je již nápadná sklerotizace mediálního skleritu kopírující tvar rezervoáru (Obrázek 57). Mediální sklerit je zřetelně ohraničen a zaujímá 6,62 % z plochy dorsa abdominu (Tabulka 2).

Okolí ostioly je již od druhého instaru výrazně modifikováno, je vyvinuta ouškovitá struktura a plocha evaporatoria se síťovitou skulpturou (Obrázek 57-61).

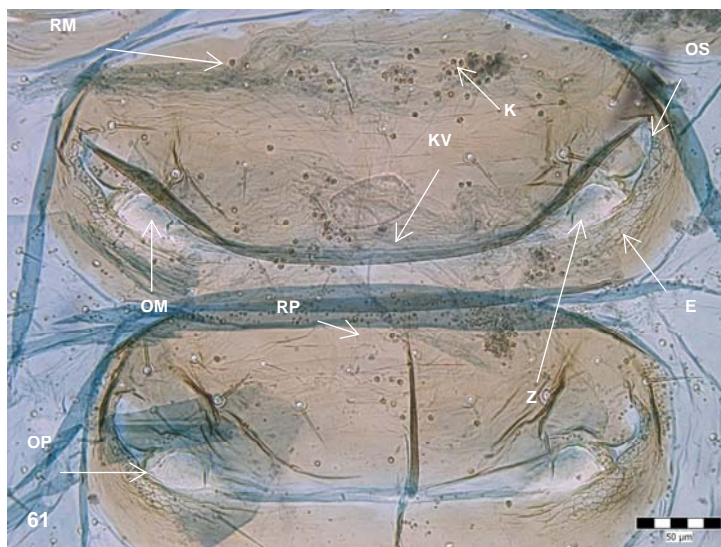


Obrázek 59, 60. *Elasmucha ferrugata*, druhý larvální instar, okolí levé ostioly mediální DAG, kutikulární struktury, anteriorní pohled. 59 – ouškovitá struktura se síťovitou skulpturou evaporatoria; SEM. 60 – detail evaporatoria s kutikulárními záhyby/ žebry; SEM. Vysvětlivky: E – evaporatorium, OM – ostiola mediální DAG, OS – ouškovitá struktura.

Ostiola mediální DAG je polokruhová, uzavíratelná kutikulární valvou (Obrázek 57, 61), na které se objevují bochánkovité výstupky.

Sít'ovitá skulptura, představující pravé evaporatorium, je na 5,10 % plochy mediálního skleritu (Tabulka 5). Jednotlivé buňky sítě jsou málo početné, jejich plocha mezi žebry je lehce zvrásněná.

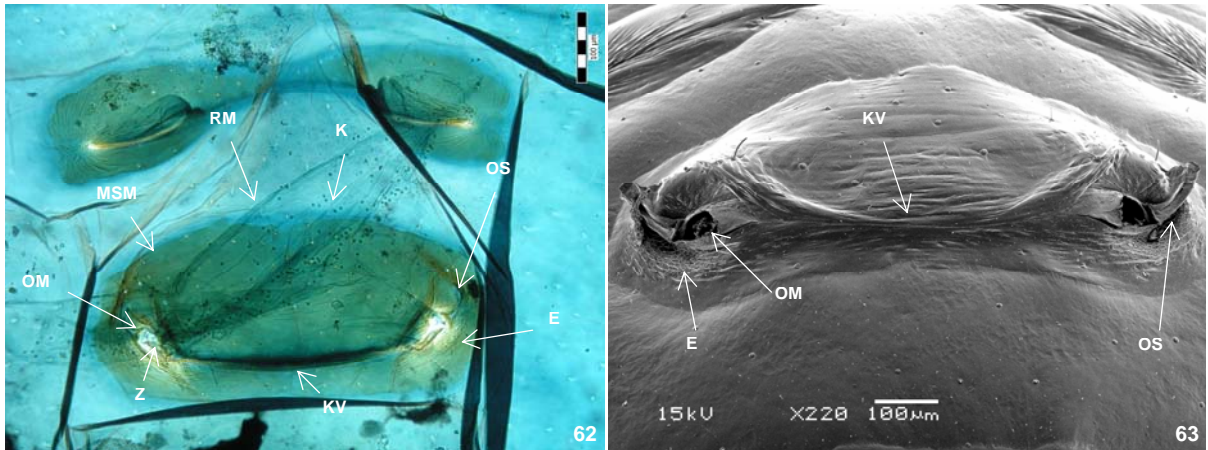
Rezervoár mediální žlázy je poměrně velký, ale s nepočtenými kanálky. U druhého instaru bylo zjištěno 20 až 30 kanálků na rezervoár (Obrázek 61, Tabulka 4).



Obrázek 61. *Elasmucha ferrugata*, druhý larvální instar, mediální sklerity mediální a posteriorní DAGs a další kutikulární struktury; optický mikroskop. Vysvětlivky: E – evaporatorium, K – kanálky, KV – kutikulární val, OM – ostiola mediální DAG, OP – ostiola posteriorní DAG, OS – ouškovitá struktura, RM – rezervoár mediální DAG, RP – rezervoár posteriorní DAG, Z - záklopka.

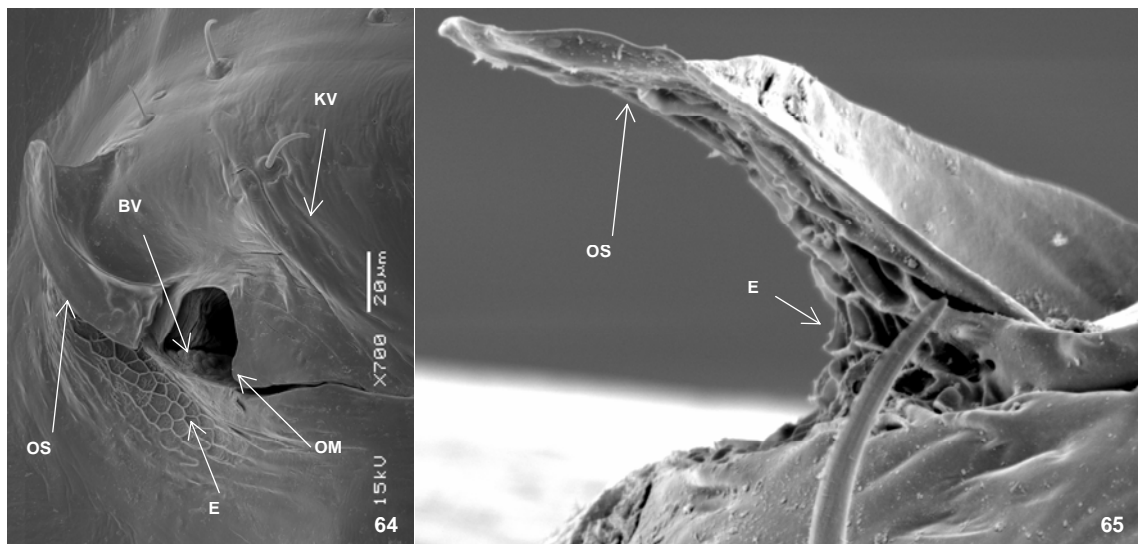
4. 2. 3. Třetí larvální instar (Obrázek 62–67)

Mediální DAG třetího instaru je umístěna pod výrazně sklerotizovaným mediálním skleritem, který tvoří 3,42 % z celkové plochy dorsální části abdominu (Obrázek 62, Tabulka 2).



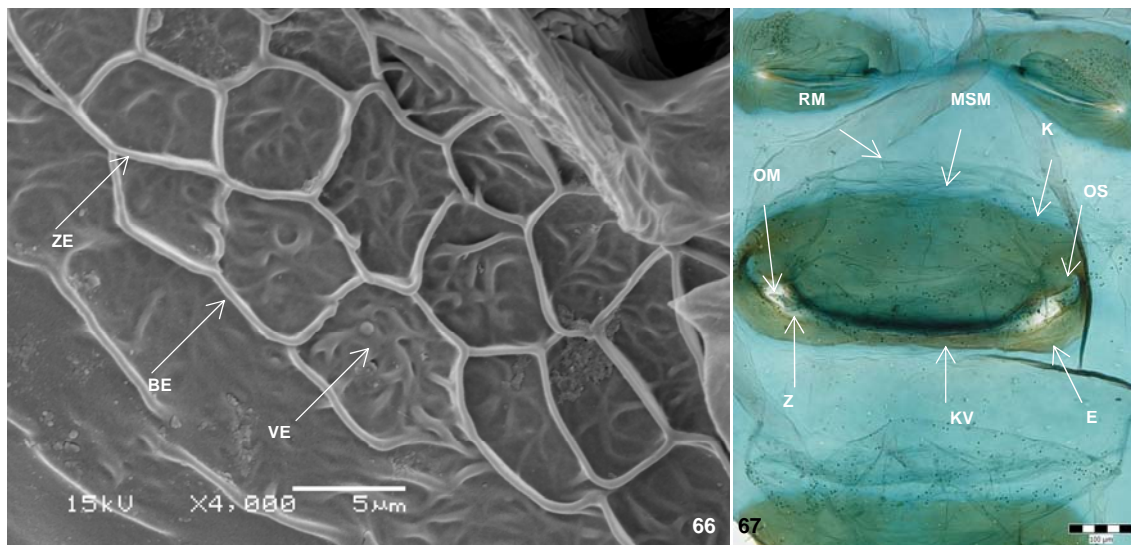
Obrázek 62, 63. *Elasmucha ferrugata*, třetí larvální instar, mediální DAG, kutikulární struktury. 62 – mediální sklerit anteriorní a mediální DAGs; optický mikroskop, zvětšeno 200x. 63 – mediální sklerit mediální DAG; SEM. Vysvětlivky: E – evaporatorium, K – kanálky, KV – kutikulární val, MSM – mediální sklerit mediální DAG, OA – ostiola anteriorní DAG, OM – ostiola mediální DAG, OS – ouškovitá struktura, RA – rezervoár anteriorní DAG, RM – rezervoár mediální DAG, Z - záklopka.

Na posterolaterální ploše ouška zahrnuje síťovitá skulptura větší část plochy ouška než u druhého instaru (Obrázek 63, 64, 65). Síťovitá skulptura evaporatoria zaujímá 5,43 % ze sklerotizované oblasti asociované s mediální žlázou. V jednotlivých buňkách dochází k výraznějšímu zvrásnění kutikuly (Obrázek 66, Tabulka 5). Kutikulární val je mohutnější než u předchozího instaru.



Obrázek 64, 65. *Elasmucha ferrugata*, třetí larvální instar, mediální DAG, kutikulární struktury. 64 – detailní pohled na okolí levé ostioly mediální DAG; SEM. 65 – detail ouškovité struktury se síťovitou skulpturou evaporatoria; SEM 3500x. Vysvětlivky: BV – bochánkovité výstupky, E – evaporatorium, KV – kutikulární val, OM – ostiola mediální DAG, OS – ouškovitá struktura.

Rezervoár mediální DAG třetího instaru je výrazně vyvinutý, kanálky jsou rozmístěny rovnoměrně po celém povrchu jeho intimy. V rezervoáru bylo zjištěno 90 až 118 kanálků (Obrázek 67, Tabulka 4).

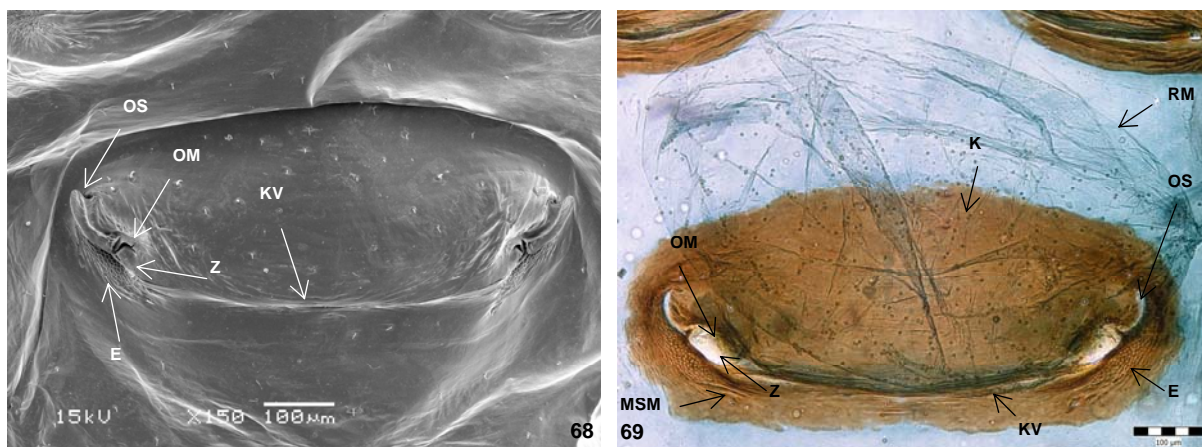


Obrázek 66, 67. *Elasmucha ferrugata*, třetí larvální instar, mediální DAG, kutikulární struktury. 66 – detail evaporatoria s kutikulárními žebry; SEM. 67 – rezervoáry DAGs třetího instaru s kanálky. BE – buňka evaporatoria, K – kanálky, KV – kutikulární val, MSM – mediální sklerit mediální DAG, OM – ostiola mediální DAG, OS – ouškovitá struktura, RM – rezervoár mediální DAG, VE – vrásnění evaporatoria, Z – záklopka, ZE – žebra evaporatoria.

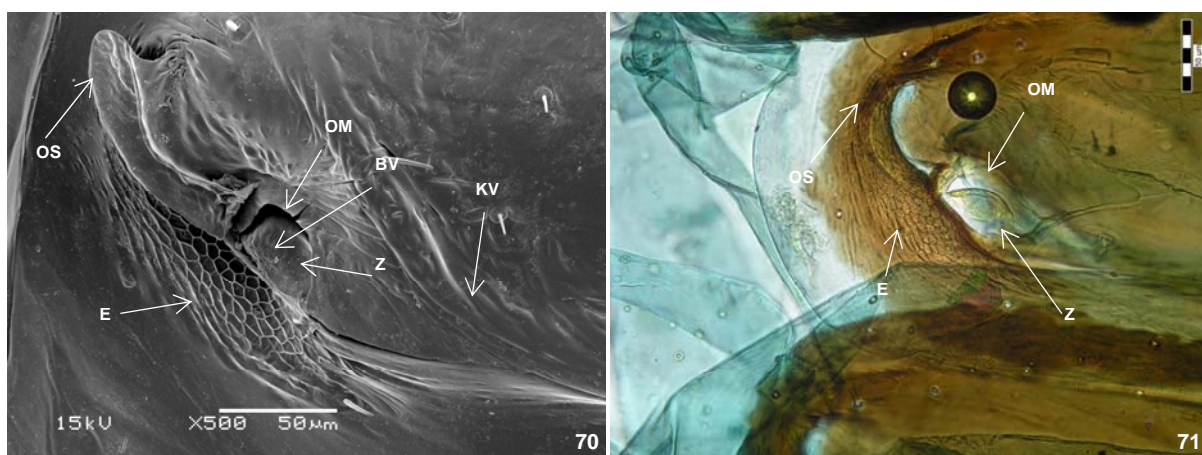
4.2.4. Čtvrtý larvální instar (Obrázek 68–75)

U čtvrtého instaru zaujímá mediální sklerit část dorsa abdominu o velikosti 2,76 % z celé plochy (Obrázek 68, 69, Tabulka 2). Na mediálním skleritu jsou charakteristicky vyvinuty všechny externí kutikulární struktury (viz obecný popis mediální DAG) (Obrázek 68, 69, 70, 71).

Ostioly jsou zřetelné, polokruhové s kutikulárními valvami, které je zcela uzavřou. Na posteriorní části externí plochy valvy jsou vyvinuty bochánkovité výstupky (Obrázek 69, 70).

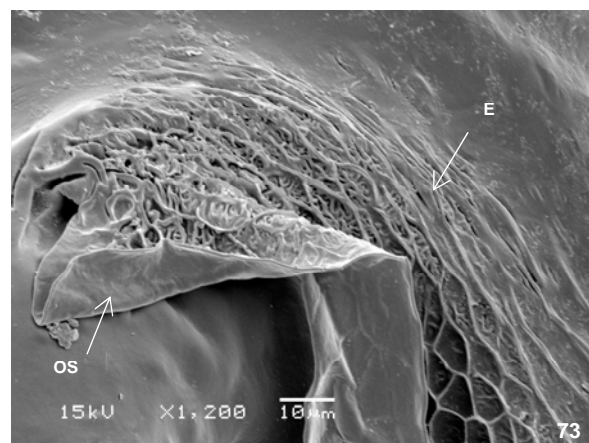
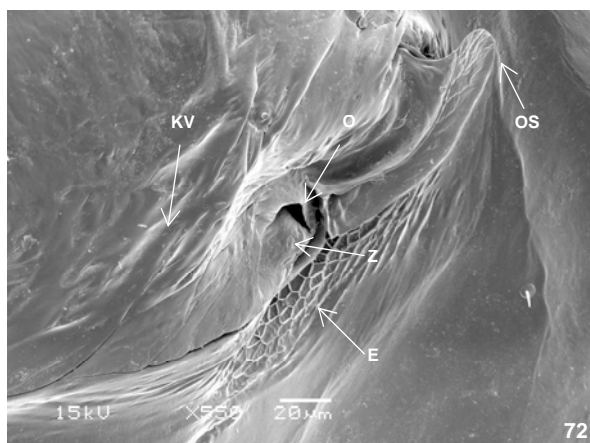


Obrázek 68, 69. *Elasmucha ferrugata*, čtvrtý larvální instar, mediální sklerit mediální DAG a další kutikulární struktury. 68 – SEM. 69 – rezervoár s kanálky; optický mikroskop. Vysvětlivky: E – evaporatorium, K – kanálky, KV – kutikulární val, MSM – mediální sklerit mediální DAG, OM – ostiola mediální DAG, OS – ouškovitá struktura, RM – rezervoár mediální DAG, Z - záklopka.

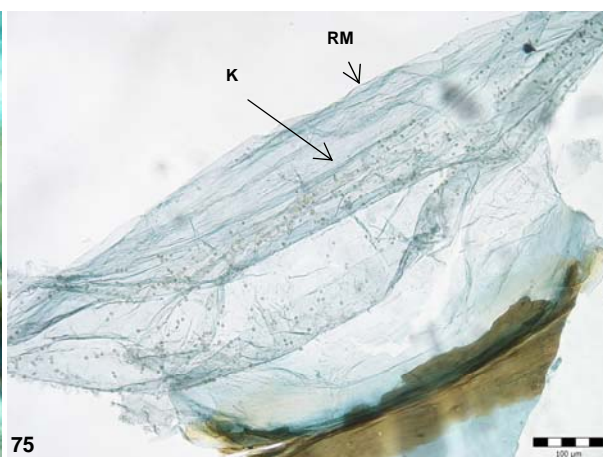
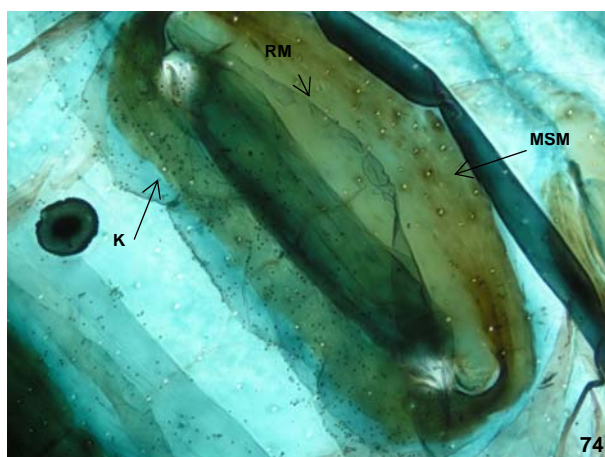


Obrázek 70, 71. *Elasmucha ferrugata*, čtvrtý larvální instar, detailní pohled na okolí ostioly mediální DAG. 70 – levá ostiola; SEM. 71 – pravá ostiola; optický mikroskop. Vysvětlivky: BV – bochánkovité výstupky, E – evaporatorium, KV – kutikulární val, OM – ostiola mediální DAG, OS – ouškovitá struktura, Z – záklopka.

Plocha buněk evaporatoria je mezi žebry nápadně pokryta zvrásněnou kutikulou (Obrázek 72, 73). Tato skulptura nápadně připomíná vzor plochy evaporatoria metathorakálních žláz dospělců, s tzv. deštníčkovou strukturou. Plocha se síťovitou strukturou tvoří 6,30 % z mediálního skleritu mediální DAG (Obrázek 71, 72, Tabulka 5).



Obrázek 72, 73. *Elasmucha ferrugata*, čtvrtý larvální instar, detailní pohled na okolí pravé ostioly mediální DAG; SEM. 72 – ostiola s externími kutikulárními modifikacemi. 73 – detailní pohled na posterolaterální plochu ouškovité struktury. Vysvětlivky: E – evaporatorium, KV – kutikulární val, OM – ostiola mediální DAG, OS – ouškovitá struktura, Z – záklopka.



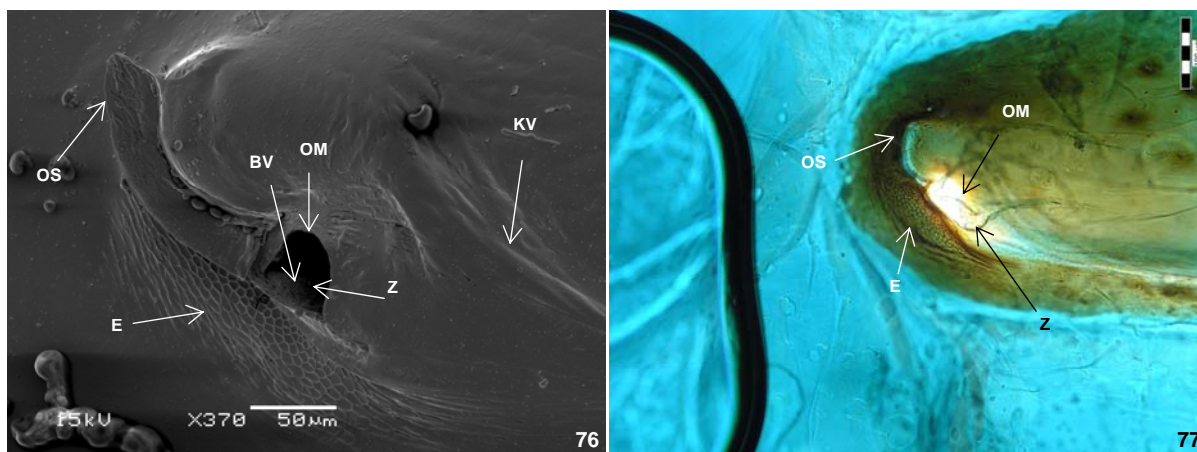
Obrázek 74, 75. *Elasmucha ferrugata*, čtvrtý larvální instar, rezervoár mediální DAG s kanálky; optický mikroskop, zvětšeno 200x. 74 – rezervoár s kanálky překrytý mediálním skleritem. 75 – samostatný vypitvaný rezervoár. Vysvětlivky: K – kanálky, MSM – mediální sklerit mediální DAG, RM – rezervoár mediální DAG.

Do rezervoáru mediální DAG čtvrtého instaru ústí 350 až 400 kanálků (Obrázek 74, 75, Tabulka 4).

4.2.5. Pátý larvální instar (Obrázky 76–83)

Sklerotizovaný mediální sklerit nad mediální DAG tvoří 3,41 % povrchu dorsa abdominu (Tabulka 2). Tato hodnota je průměrná hodnota obou pohlaví.

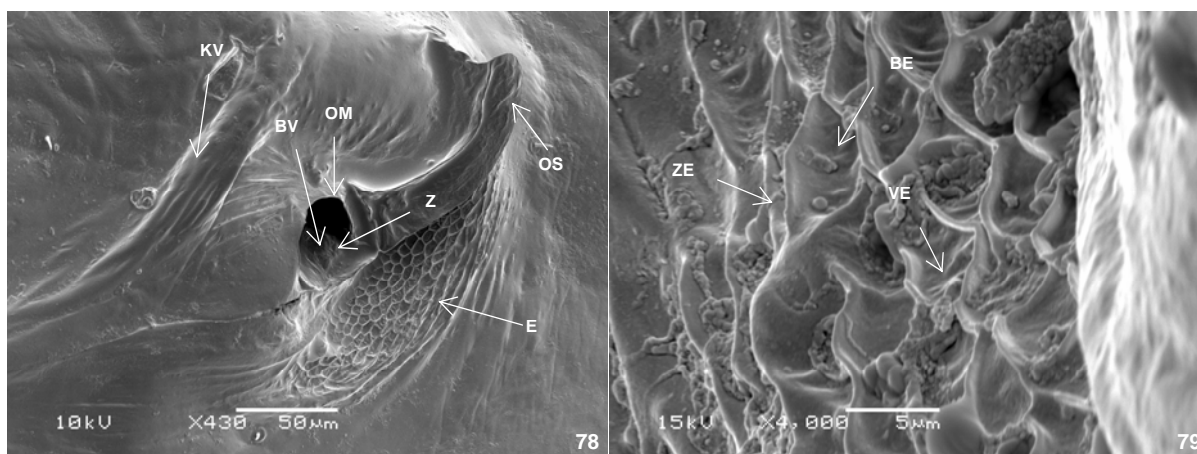
Evaporatorium zaujímá průměrně 5,00 % plochy mediálního skleritu (Obrázek 76, 77, 78). Povrch buněk skulptury je nápadně zvrásněn kutikulárními záhyby (Obrázek 79).



Obrázek 76, 77. *Elasmucha ferrugata*, pátý larvální instar, nejexponovanější pohled na okolí ostioly mediální DAG. 76 – levá ostiola, samice; SEM. 77 – pravá ostiola, samec; optický mikroskop. Vysvětlivky: BV – bochánkovité výstupky, E – evaporatorium, KV – kutikulární val, OM – ostiola mediální DAG, OS – ouškovitá struktura, Z – záklopka.

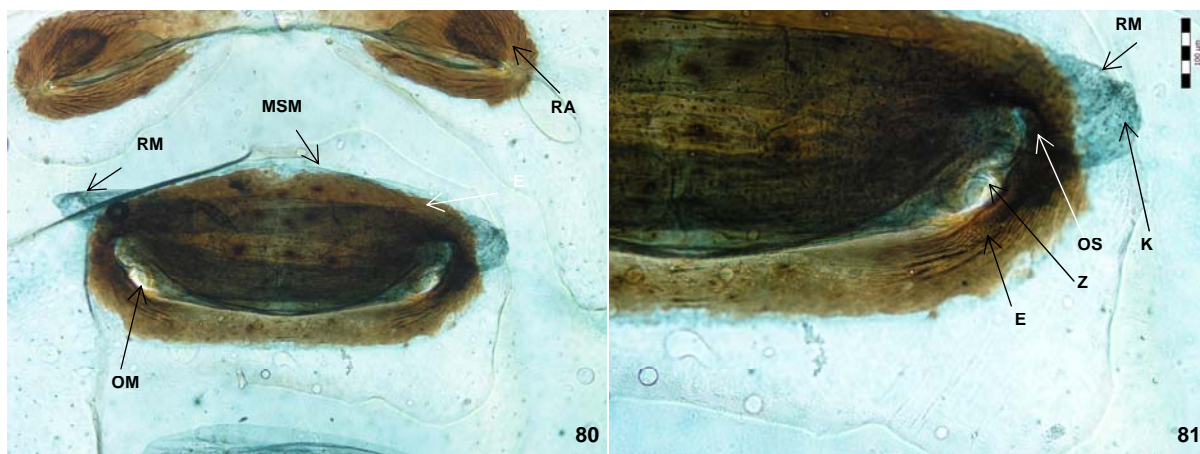
Kutikulární val je mohutný, ze všech instarů nejvýraznější (Obrázek 78).

U samic byla naměřena menší plocha evaporatoria posteriorně od ostiolar. Průměrně tato plocha zaujímá 4,86 % (Tabulka 5) ze sklerotizované plochy mediálního skleritu, přičemž sám mediální sklerit tvoří 3,46 % z celkové plochy dorsa abdominu (Obrázek 80, 81, Tabulka 2).

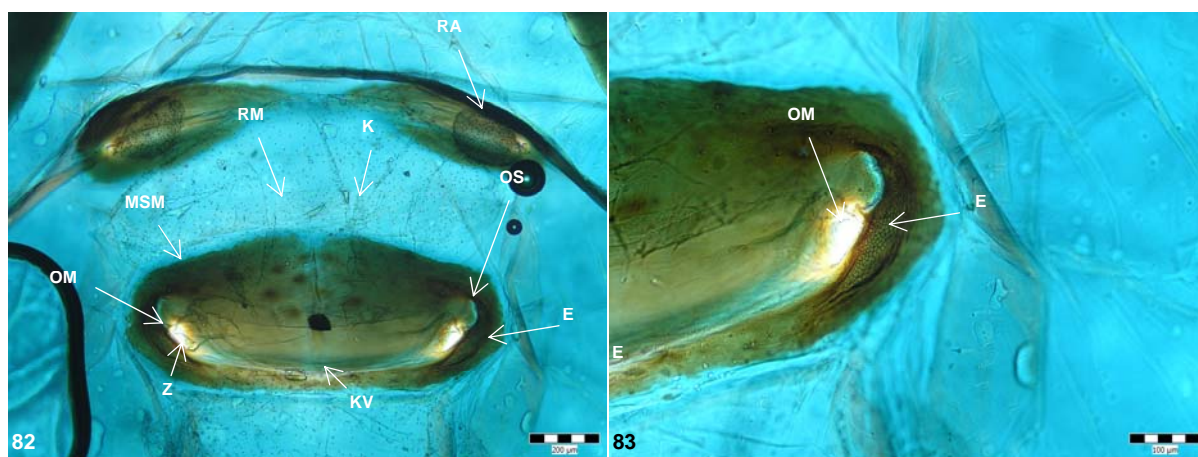


Obrázek 78, 79. *Elasmucha ferrugata*, pátý larvální instar, samec, nejexponovanější pohled na okolí pravé ostioly mediální DAG; SEM. 78 – ostiola s externími kutikulárními modifikacemi. 79 – detail evaporatoria. Vysvětlivky: BV – bochánkovité výstupky, BE – buňka evaporatoria, KV – kutikulární val, OM – ostiola mediální DAG, OS – ouškovitá struktura, VE – vrásnění evaporatoria, Z – záklopka, ZE – žebra evaporatoria.

Mediální sklerit u samců zaujímá 3,38 % plochy dorsa abdominu (Tabulka 2). U samců tvoří plocha evaporatoria v průměru 5,09 % ze sklerotizované plochy mediálního skleritu, což je více než u samic (Obrázek 82, 83, Tabulka 5).



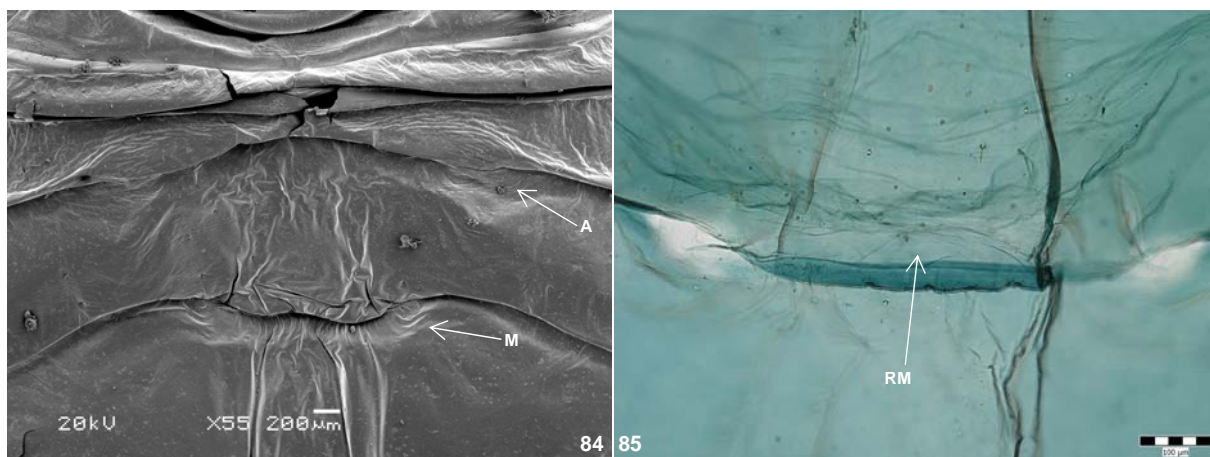
Obrázek 80, 81. *Elasmucha ferrugata*, pátý larvální instar, samice, rezervoár mediální DAG; optický mikroskop. 80 – mediální sklerit anteriorní a mediální DAGs s rezervoáry, zvětšeno 200x. 81 – rezervoár mediální DAG s kanálky. Vysvětlivky: E – evaporatorium, K – kanálky, MSM – mediální sklerit mediální DAG, OM – ostiola mediální DAG, OS – ouškovitá struktura, RA – rezervoár anteriorní DAG, RM – rezervoár mediální DAG, Z – záklopka.



Obrázek 82, 83. *Elasmucha ferrugata*, pátý larvální instar, samec, mediální DAG, ventrální pohled; optický mikroskop. 82 – mediální sklerity anteriorní a mediální DAGs s rezervoáry. 83 – levá ostiola mediální DAG. Vysvětlivky: E – evaporatorium, K – kanálky, KV – kutikulární val, MSM – mediální sklerit mediální DAG, OM – ostiola mediální DAG, OS – ouškovitá struktura, RA – rezervoár anteriorní DAG, RM – rezervoár mediální DAG, Z – záklopka.

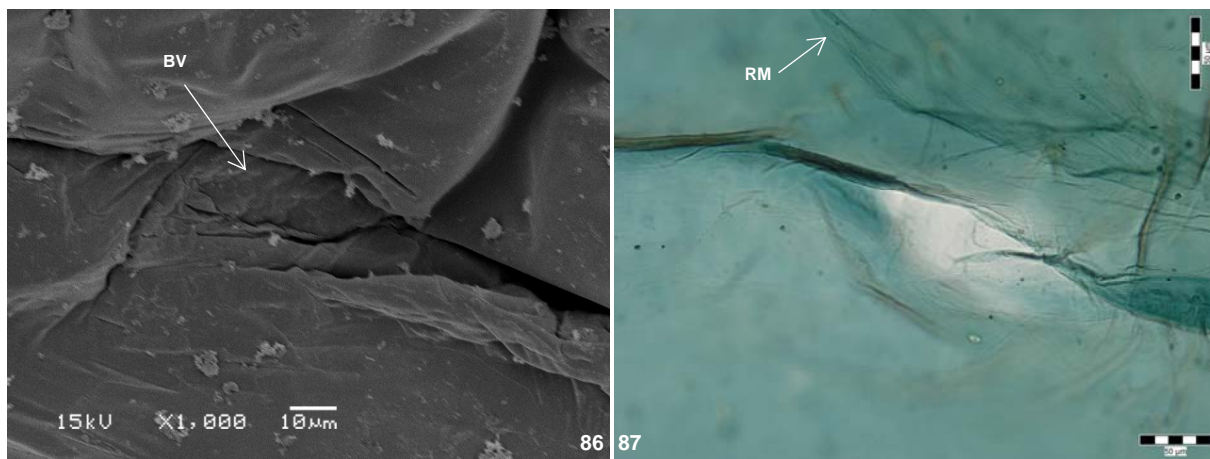
Rezervoár mediální DAG je velký, s početnými kanálky žlázových jednotek. U samic bylo zjištěno od 1250 do 1400 kanálků (Obrázek 81), u samců od 1050 do 1220 kanálků (Obrázek 83, Tabulka 4).

4.2.6. Imaga (Obrázek 84–91)



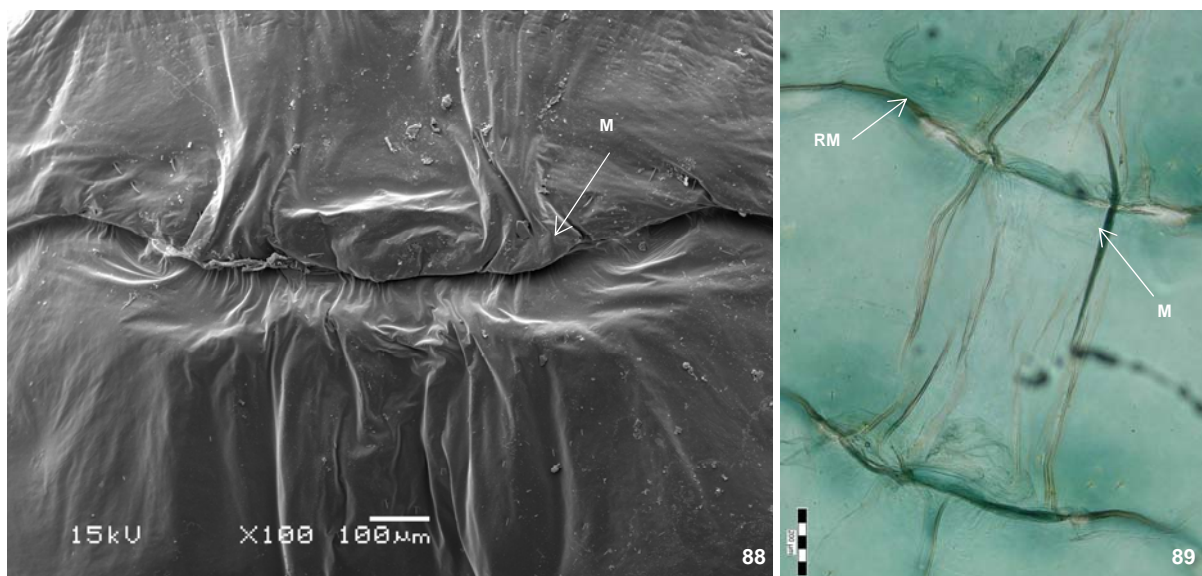
Obrázek 84, 85. *Elasmucha ferrugata*, imago, samec, detail okolí ostioly mediální DAG. 84 – SEM. 85 – optický mikroskop. Vysvětlivky: A – oblast anteriorní DAG, M – oblast mediální DAG, RM – rezervoár mediální DAG.

U kutikulárních struktur mediální žlázy imag dochází oproti larválním instarům k velkým tvarovým změnám (Obrázek 84–91). Na dorsu abdominu není patrná žádná oblast silné sklerotizace v oblasti mediální žlázy (Obrázek 85, 89). Stejně tak nejsou patrné žádné externí kutikulární struktury (Obrázek 86, 90).



Obrázek 86, 87. *Elasmucha ferrugata*, imago, samec, detail okolí ostioly mediální DAG. 86 – oblast levé ostioly se slabě skulpturovanou kutikulou; SEM. 87 – centrálně viditelné zeslabení kutikuly v místě pravé ostioly; optický mikroskop. Vysvětlivky: BV – bochánkovité výstupky, RM – rezervoár mediální DAG.

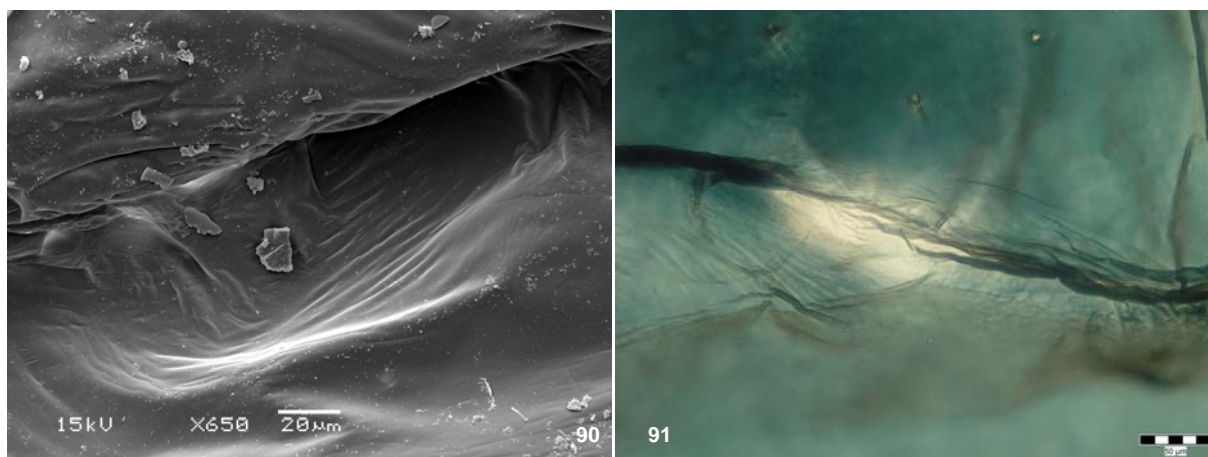
S posledním larválním svlékáním se ztrácí veškeré kutikulární modifikace asociované s ostioly mediální žlázy larev. Ani při podrobném studiu této oblasti dorsu abdominu nebyl nalezen ani náznak ouškovité struktury nebo síťovité skulptury evaporatoria, nebyla pozorována ani otevřená ostiola.



Obrázek 88, 89. *Elasmucha ferrugata*, imago, samice, oblast mediální DAG. 88 – SEM. 89 – optický mikroskop. Vysvětlivky: M – oblast mediální DAG, RM – rezervoár mediální DAG.

V jejím místě se vyykytuje pouze oblast tenké kutikuly. U některých jedinců se v optickém mikroskopu zdála být tato oblast otevřená, tj. s otevřenou ostioulou (Obrázek 85, 87, 89, 91), ale při studiu v SEM bylo prokázáno, že je kryta tenkou membránou.

Ve skenovacím elektronovém mikroskopu byly pozorovány bochánkovité výstupky, nacházející se v místě, kde by byla ostiola (Obrázek 86, 90).



Obrázek 90, 91. *Elasmucha ferrugata*, imago, samice, detail okolí pravé ostioly mediální DAG. 90 – SEM. 91 – centrálně viditelné zeslabení kutikuly v místě pravé ostioly; optický mikroskop.

Intima rezervoáru mediální DAG je vyvinuta u dospělců obou pohlaví. Pozorované rezervoáry byly poměrně velké (Obrázek 84, 89). Pokud byly zjištěny kanálky, byly přítomny pouze v minimálním počtu, maximálně 5 kanálků na celý rezervoár (Tabulka 4).

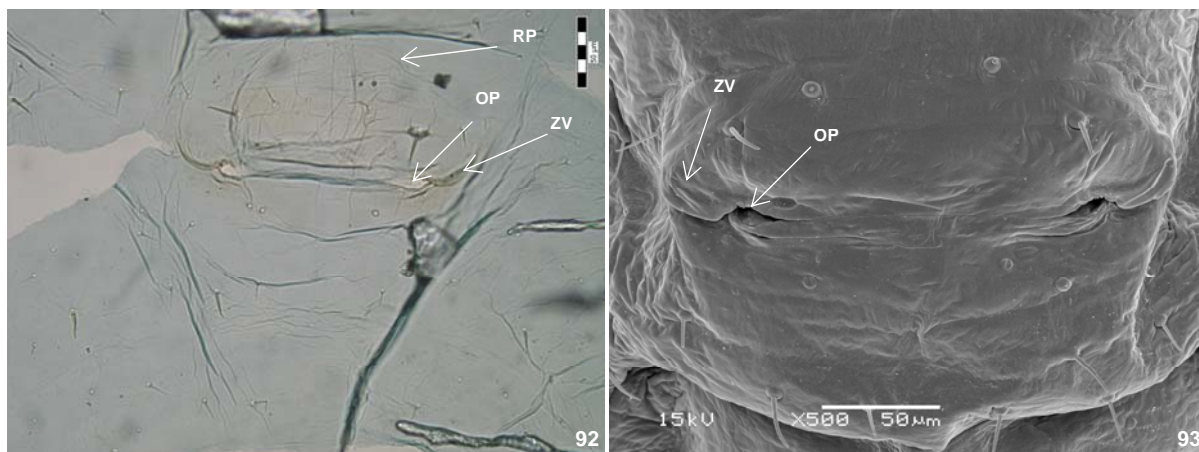
4.3. Posteriorní žláza

Posteriorní žláza je poslední vyvinutou dorsoabdominální pachovou žlázou. Kutikulární struktury spojené s posteriorní DAG jsou zhruba totožné stavby, tvaru a velikosti jako tyto struktury mediální DAG (viz detailní popis kapitola 4.2. Mediální žláza). Její rezervoár je tvarově téměř shodný s mediální DAG, je krytý sklerotizovanou kutikulou mediálního skleritu elipsovitého tvaru. Sklerotizovaná plocha mediálního skleritu zaujímá menší část z celkové plochy dorsa abdominu než mediální sklerit asociovaný s mediální DAG.

Posteriorní DAG má nepárový rezervoár s párovými ostioly. Kutikulární struktury asociované s ostioly jsou shodné se strukturami mediální DAG. U většiny larválních instarů je vyvinut rezervoár s kanálky, ouškovitá struktura, síťovitá skulptura evaporatoria a ostiola s dobře viditelnou záklopkou.

4.3.1. První larvální instar (Obrázek 92–96)

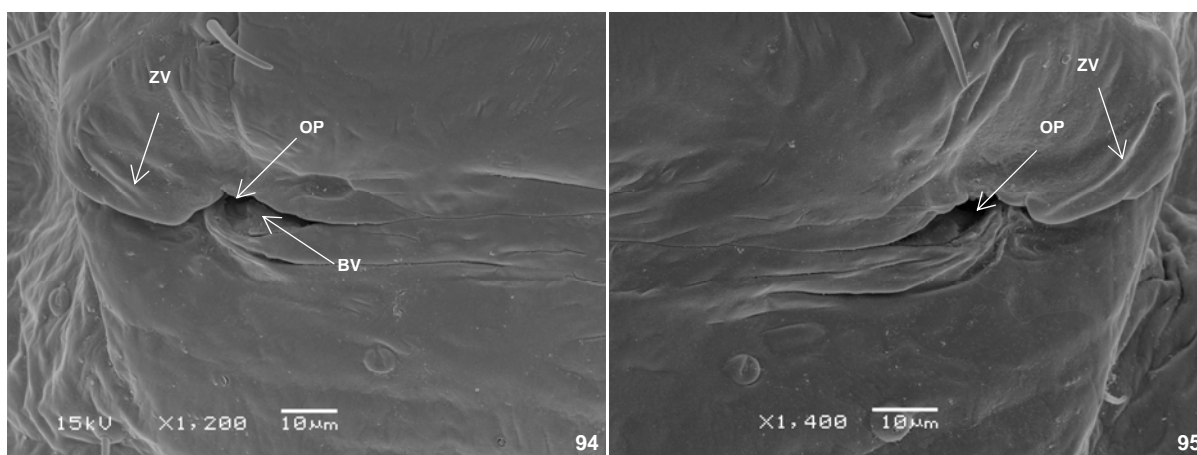
Sklerotizace kutikuly v oblasti posteriorní DAG je slabá. V optickém mikroskopu je po obarvení téměř nezatelná (Obrázek 92). V elektronovém mikroskopu byla sklerotizace určitelná díky tomu, že sklerotizovaná kutikula nebyla nebo byla pouze nepatrně svaštělá (viz Materiál a metodika, podkapitola 3.2.3.3.1.) (Obrázek 93). Plocha mediálního skleritu tvoří 2,83 % z celkové plochy dorsa abdominu (Tabulka 2).



Obrázek 92, 93. *Elasmucha ferrugata*, první larvální instar, mediální sklerit posteriorní DAG, kutikulární struktury. 92 – optický mikroskop. 93 – SEM. Vysvětlivky: OP – ostiola posteriorní DAG, RP – rezervoár posteriorní DAG, ZV – zesílený kutikulární výběžek.

U prvního instaru nebyla pozorována žádná externí kutikulární modifikace v okolí ostiol. U žádného studovaného jedince nebyly objeveny ani náznaky vývoje těchto struktur.

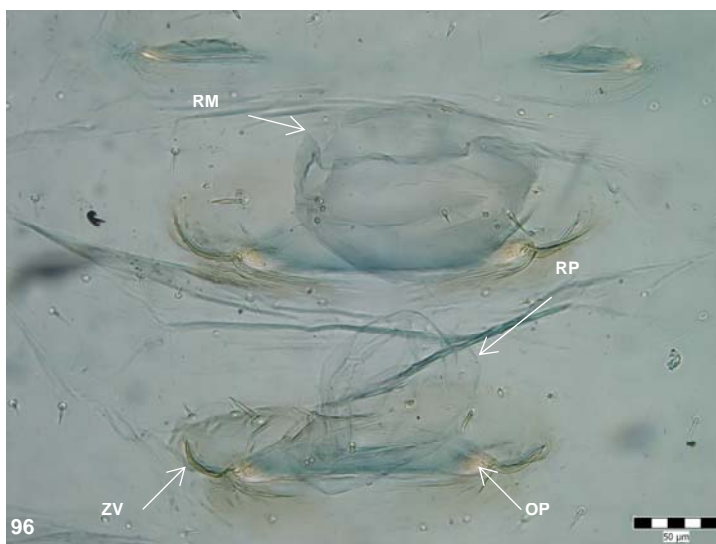
Zřetelné jsou pouze zesílené kutikulární výběžky, lokalizované v místě, kde jsou u starších larválních instarů vyvinuty ouškovité struktury, obdobně jako u mediální žlázy. Kutikula je v tomto místě hladká, bez jakékoliv skulptury. V elektronovém mikroskopu bylo patrné vyvýšení kutikuly v tomto místě nad okolní plochu. Zesílené výběžky lehce vystupují z obrysu mediálního skleritu (Obrázek 94, 95). Posteriočně od ostiol bylo pozorováno jemné zvrásnění kutikuly.



Obrázek 94, 95. *Elasmucha ferrugata*, první larvální instar, posteriorní DAG, detailní pohled na ostioli; SEM. 94 – levá ostiola. 95 – pravá ostiola. Vysvětlivky: BV – bochánkovité výstupky, OP – ostiola posteriorní DAG, ZV – zesílený kutikulární výběžek.

Ostioly jsou štěrbinovité, otevřené. Tvarem se shodují s ostioly mediální žlázy.

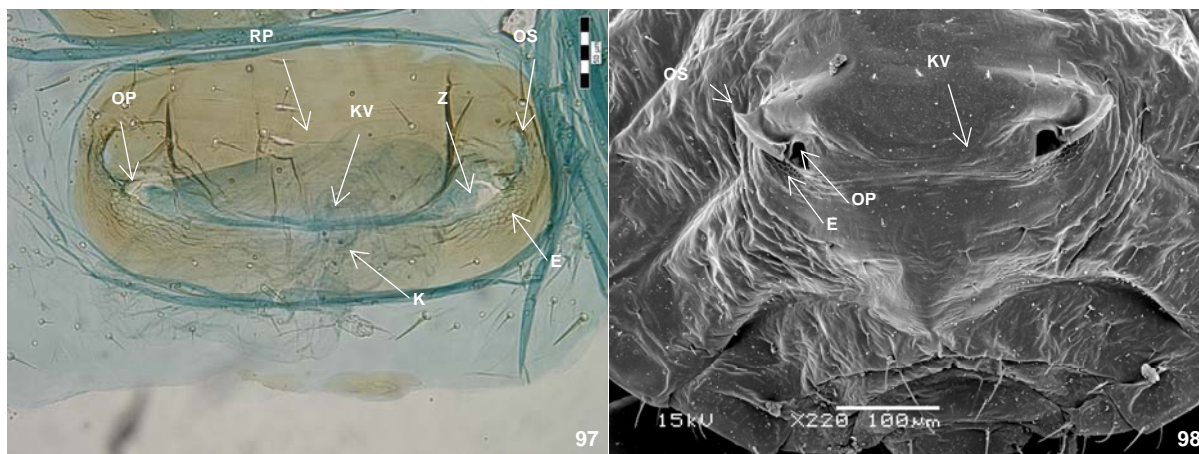
Ve stěně rezervoáru posteriorní DAG je přítomno velmi málo kanálků, řádově do pěti (Obrázek 96, Tabulka 4), u některých jedinců nebyly zjištěny kanálky žádné.



Obrázek 96. *Elasmucha ferrugata*, první larvální instar, dorsální část abdominu; optický mikroskop. Vysvětlivky: OP – ostiola posteriorní DAG, RM – rezervoár mediální DAG, RP – rezervoár posteriorní DAG, ZV – zesílený kutikulární výběžek.

4.3.2. Druhý larvální instar (Obrázek 97–100)

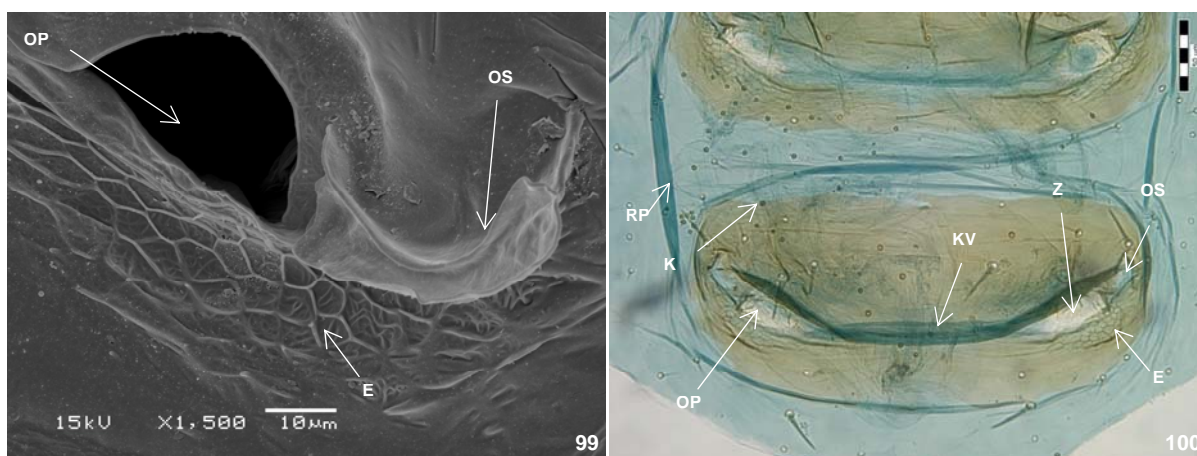
Druhý larvální instar má mediální sklerit značně sklerotizovaný. Od okolní plochy dorsa abdominu je tato elipsovitá oblast zřetelně barevně oddělena. Tmavá sklerotizovaná kutikula zaujímá 5,87 % celkové plochy dorsa abdominu (Obrázek 97, Tabulka 2).



Obrázek 97, 98. *Elasmucha ferrugata*, druhý larvální instar, mediální sklerit posteriorní DAG. 97 – optický mikroskop. 98 – SEM. Vysvětlivky: E – evaporatorium, K – kanálky, KV – kutikulární val, OP – ostiola posteriorní DAG, OS – ouškovitá struktura, RP – rezervoár posteriorní DAG, Z - záklopka.

Externí kutikulární struktury jsou charakteristicky vyvinuty (Obrázek 98). V místě zesíleného kutikulárního výběžku prvního instaru je u druhého instaru viditelná ouškovitá struktura. Nejlépe je ouško pozorovatelné v elektronovém mikroskopu (Obrázek 99), v optickém mikroskopu je v této oblasti zřetelné zesílení kutikuly, samotný tvar ouškovité

struktury je rozeznatelný až při proostření preparátu, struktura je mnohem méně zbarvená než okolní oblast (Obrázek 100).



Obrázek 99, 100. *Elasmucha ferrugata*, druhý larvální instar. 99 - detailní pohled na okolí pravé ostioly posteriorní DAG; SEM. 100 - mediální sklerit a rezervoár s kanálky; optický mikroskop. Vysvětlivky: E – evaporatorium, K – kanálky, KV – kutikulární val, OP – ostiola posteriorní DAG, OS – ouškovitá struktura, RP – rezervoár posteriorní DAG, Z – záklopka.

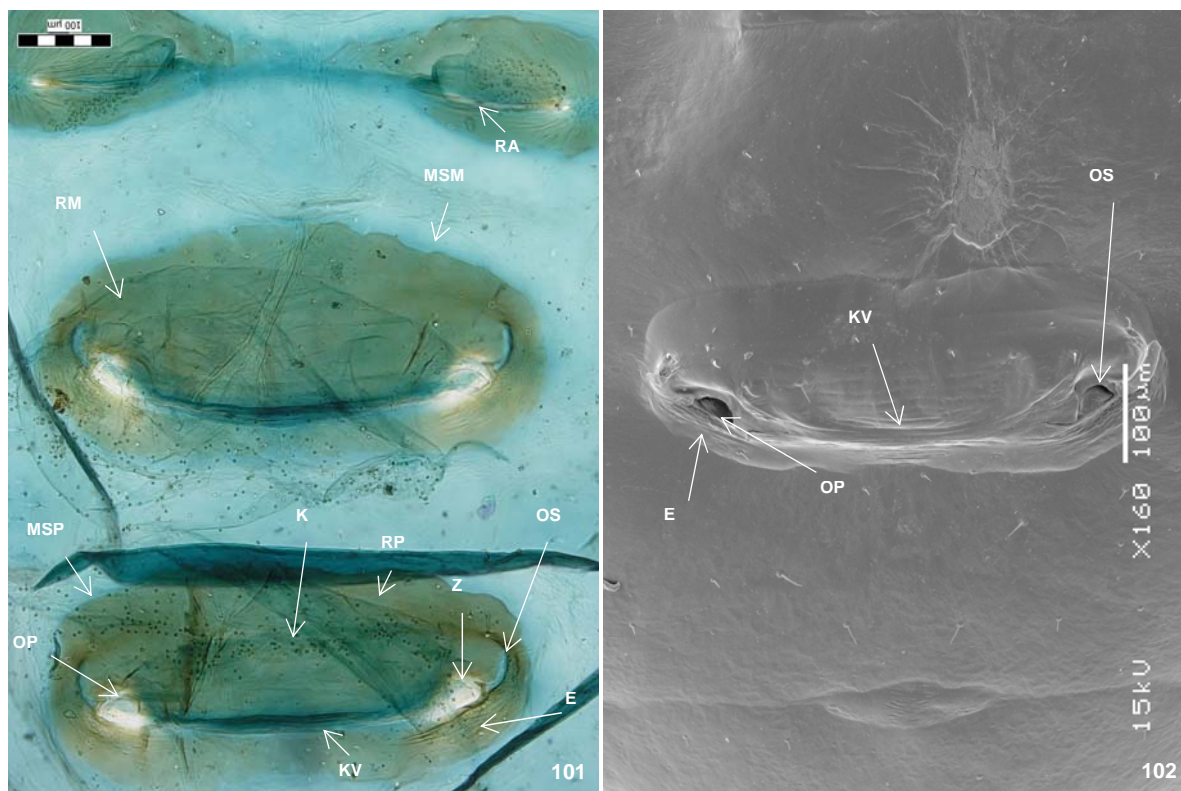
Posteriorně od ouška má kutikula charakteristickou síťovitou skulpturu (Obrázek 99, 100). Evaporatorium se rozkládá na 4,31 % plochy mediálního skleritu (Tabulka 6). Uvnitř každé buňky skulptury je téměř hladká kutikula, pouze s mírnými vyvýšeninami.

Ostiola je polokruhová, uzavíratelná záklopkou (Obrázek 99), na které nebyly pozorovány žádné bochánkovité výstupky.

Na intimně rezervoáru jsou viditelná málo početná vyústění kanálků (Obrázek 100). V průměru bylo nalezeno cca 10 kanálků v jednom rezervoáru (Tabulka 4).

4.3.3. Třetí larvální instar (Obrázek 101–106)

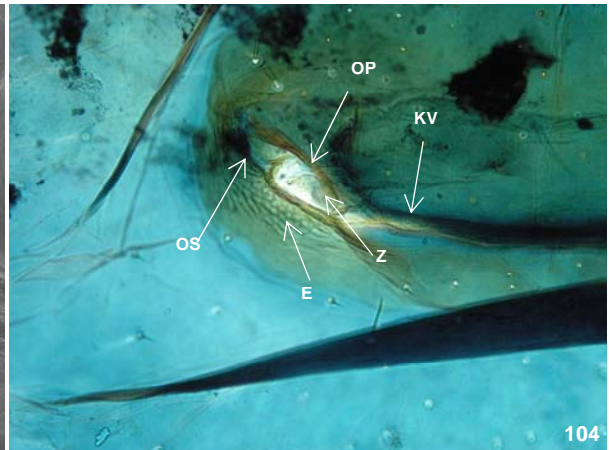
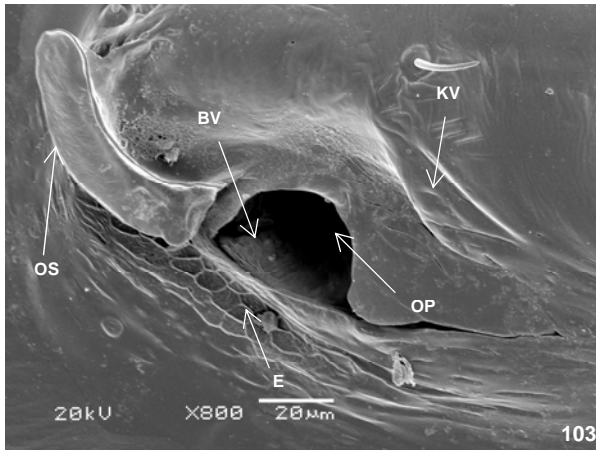
Mediální sklerit posteriorní DAG třetího instaru má elipsovité tvar a je ostře ohraničen od okolní kutikuly dorsa abdominu (Obrázek 101). Oproti okolní kutikule je mnohem tmavší a sklerotizovanější. Jeho tvar odpovídá tvaru rezervoáru, který je uložen pod ním. Mediální sklerit zaujímá 2,85 % plochy abdominu (Tabulka 2).



Obrázek 101, 102. *Elasmucha ferrugata*, třetí larvální instar, mediální sklerit posteriorní DAG. 101 – optický mikroskop. 102 – SEM. Vysvětlivky: E – evaporatorium, K – kanálky, KV – kutikulární val, MSM – mediální sklerit mediální DAG, MSP – mediální sklerit posteriorní DAG, OP – ostiola posteriorní DAG, OS – ouškovitá struktura, RA – rezervoár anteriorní DAG, RM – rezervoár mediální DAG, RP – rezervoár posteriorní DAG, Z - záklopka.

Na sklerotizované kutikule mediálního skleritu jsou viditelné skulptury asociované s ostioly posteriorní DAG (Obrázek 102). V elektronovém mikroskopu byla pozorována vyvinutá ouškovitá struktura umístěná laterálně od ostioly (Obrázek 103). Kutikula dorsální plochy této struktury je hladká, bez skulptur.

Posteriorně od ostioly a ouškovité struktury je zřetelná oblast evaporatoria s typickou síťovitou skulpturou (Obrázek 104), která přechází i na posterolaterální plochu ouškovité struktury.

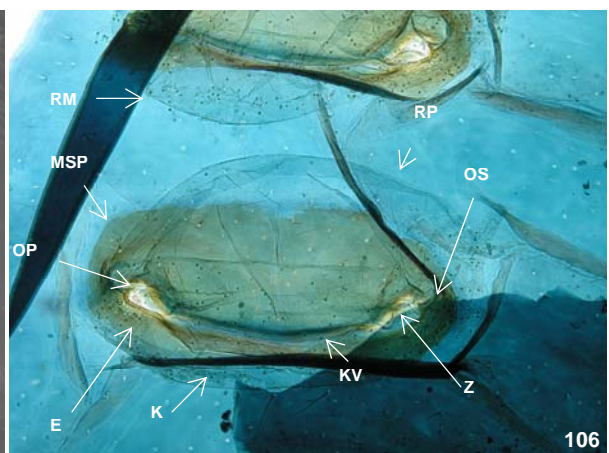
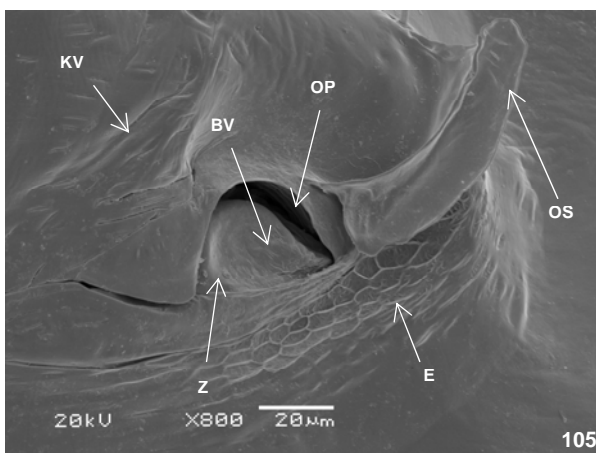


Obrázek 103, 104. *Elasmucha ferrugata*, třetí larvální instar, posteriorní DAG, kutikulární struktury. 103 – detailní pohled na okolí levé ostioly posteriorní DAG; SEM. 104 – pravá polovina mediálního skleritu; optický mikroskop, zvětšeno 400x. Vysvětlivky: BV – bochánkovité výstupky, E – evaporatorium, KV – kutikulární val, OP – ostiola posteriorní DAG, OS – ouškovitá struktura, Z - záklopka.

Plocha jednotlivých buněk skulptury evaporatoria je znásobena vrásněním. Reliéf je zřetelný v elektronovém mikroskopu, v optickém nebyl pozorovatelný. Evaporatorium zaujímá plochu o velikosti 5,63 % plochy mediálního skleritu (Tabulka 6).

Párové ostioly jsou polokruhové (Obrázek 102–105) s přítomnými kutikulárními valy, na kterých jsou bochánkovité výstupky (Obrázek 105).

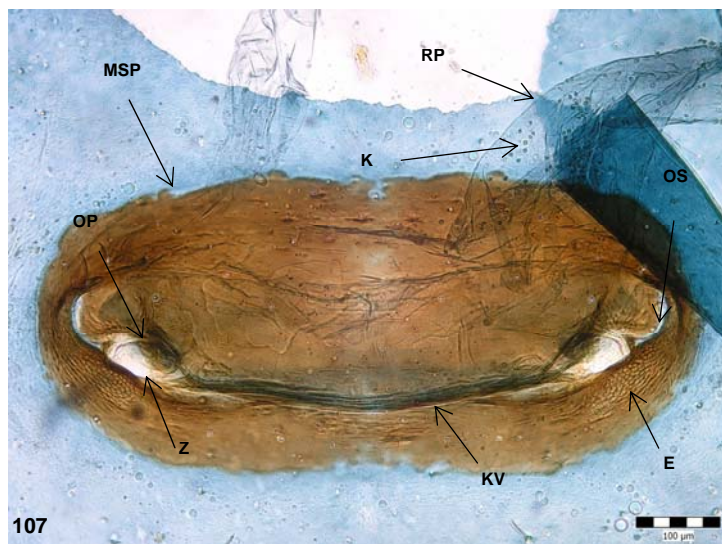
Rezervoár je velký (Obrázek 106), po povrchu jeho intimy jsou rozmístěny kanálky žlázočných jednotek, jejich počet byl 130 až 150 (Tabulka 4).



Obrázek 105, 106. *Elasmucha ferrugata*, třetí larvální instar. 105 - okolí ostioly pravé posteriorní DAG; SEM. 106 - rezervoár posteriorní DAG s kanálky; optický mikroskop, zvětšeno 200x. Vysvětlivky: E – evaporatorium, K – kanálky, KV – kutikulární val, MSP – mediální sklerit posteriorní DAG, OP – ostiola posteriorní DAG, OS – ouškovitá struktura, RM – rezervoár mediální DAG, RP – rezervoár posteriorní DAG, Z - záklopka.

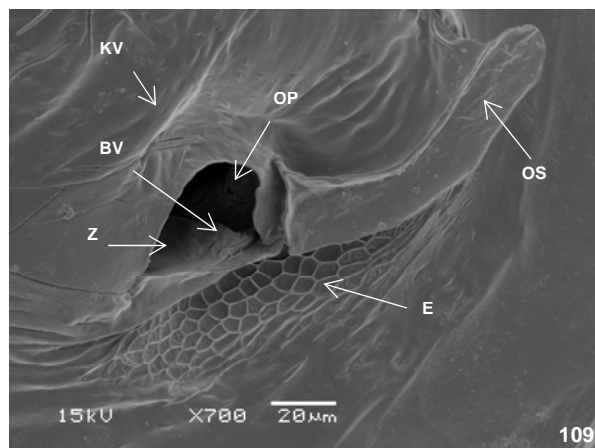
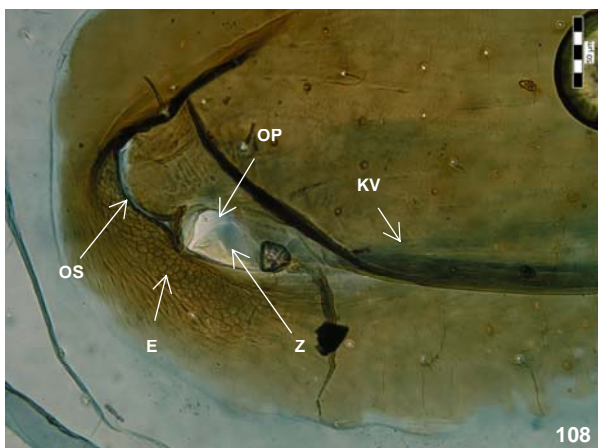
4.3.4. Čtvrtý larvální instar (Obrázek 107–110)

Oblast mediálního skleritu, který kryje posteriorní žlázu tvoří 2,52 % celkové plochy dorsa abdominu (Obrázek 107, Tabulka 2).



Obrázek 107. *Elasmucha ferrugata*, čtvrtý larvální instar, mediální sklerit posteriorní DAG; optický mikroskop. Vysvětlivky: E – evaporatorium, K – kanálky, KV – kutikulární val, MSP – mediální sklerit posteriorní DAG, OP – ostiola posteriorní DAG, OS – ouškovitá struktura, RP – rezervoár posteriorní DAG, Z – záklopka.

Ostioly posteriorní DAG jsou párové, zcela uzavíratelné kutikulární záklopkou (Obrázek 108). Na jejím povrchu jsou u posterolaterálního okraje zřetelné bochánkovité výstupky (Obrázek 109).



Obrázek 108, 109. *Elasmucha ferrugata*, čtvrtý larvální instar, detail okolí pravé ostioly posteriorní DAG. 108 – optický mikroskop. 109 – SEM. Vysvětlivky: BV – bochánkovité výstupky, E – evaporatorium, KV – kutikulární val, OP – ostiola posteriorní DAG, OS – ouškovitá struktura, Z – záklopka.

Laterálně od ostiol jsou vyvinuty nápadné ouškovité struktury. Kutikula jejich dorsálního povrchu je hladká (Obrázek 109).

Anteriorně od ouškovitých struktur je vyvinut kutikulární val, který probíhá střední částí sklerotizovaného mediálního skleritu. Začíná anteriorně od ostiol, lehce kopíruje jejich obrys a spojuje se mezi nimi v jednu viditelnou vystouplou linii (Obrázek 108).

Posteriorně od ostioly je rozsáhlá oblast evaporatoria, zaujímající 6,74% plochy mediálního skleritu (Tabulka 6). Síťovitá struktura je mimo evaporatorium vyvinuta i na posterolaterální ploše ouškovité struktury.

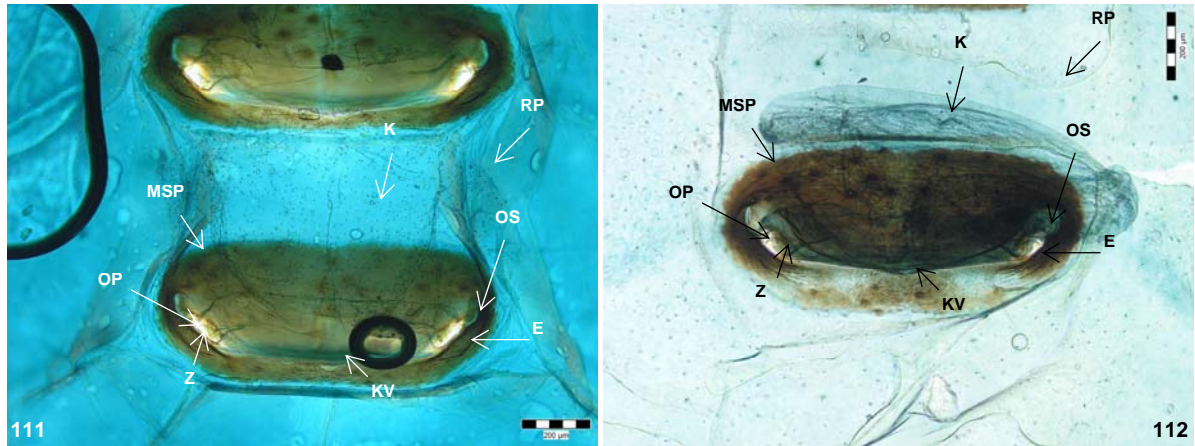
Pod mediálním skleritem se rozkládá rezervoár posteriorní žlázy, kanálky jsou rozmístěny po celém povrchu jeho intimy. Počet kanálků byl zjištěn v rozpětí 466 až 534 na rezervoár (Obrázek 110, Tabulka 4).



Obrázek 110. *Elasmucha ferrugata*, čtvrtý larvální instar, rezervoár posteriorní DAG s kanálky; optický mikroskop. Vysvětlivky: K – kanálky, OS – ouškovitá struktura, RP – rezervoár posteriorní DAG, Z – záklopka.

4.3.5. Pátý larvální instar (Obrázek 111–115)

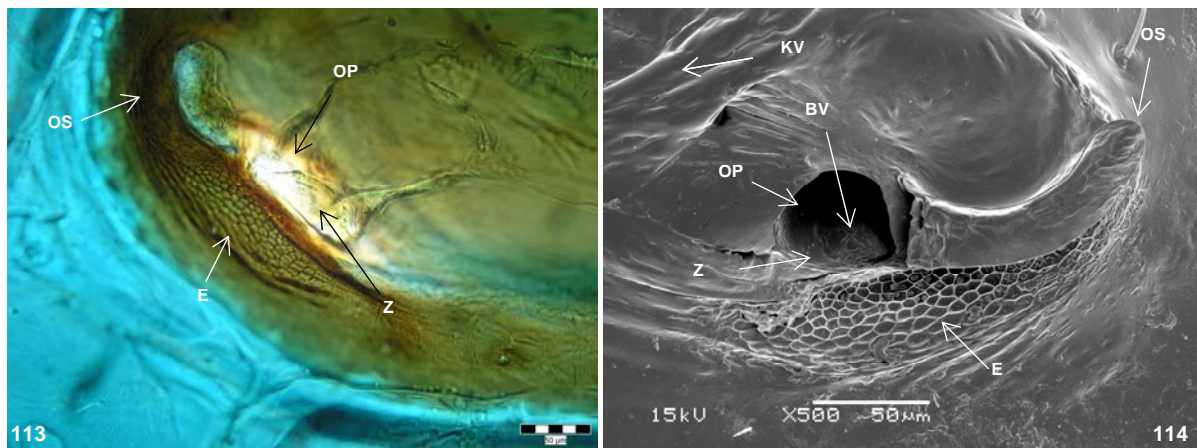
U pátého larválního instaru je mediální sklerit posteriorní DAG elipsovitého tvaru, jasně barevně ohraničen od okolního dorsa abdominu (Obrázek 111, 112). Pod ním je umístěn rezervoár, v intímě s množstvím kanálků sekrečních jednotek (Obrázek 112). Jsou vyvinuty všechny charakteristické kutikulární struktury, obdobně jako u předchozího instaru (Obrázek 113).



Obrázek 111, 112. *Elasmucha ferrugata*, pátý larvální instar, mediální sklerit a rezervoár posteriorní DAG; optický mikroskop. 111 – samec. 112 – samice. Vysvětlivky: E – evaporatorium, K – kanálky, KV – kutikulární val, MSP – mediální sklerit posteriorní DAG, OP – ostiola posteriorní DAG, OS – ouškovitá struktura, RP – rezervoár posteriorní DAG, Z – záklopka.

Ostioly posteriorní DAG jsou párové, polokruhové s vyvinutými záklopkami. Na jejich posteriorním okraji se vyskytují bochánkovité výstupky (Obrázek 114).

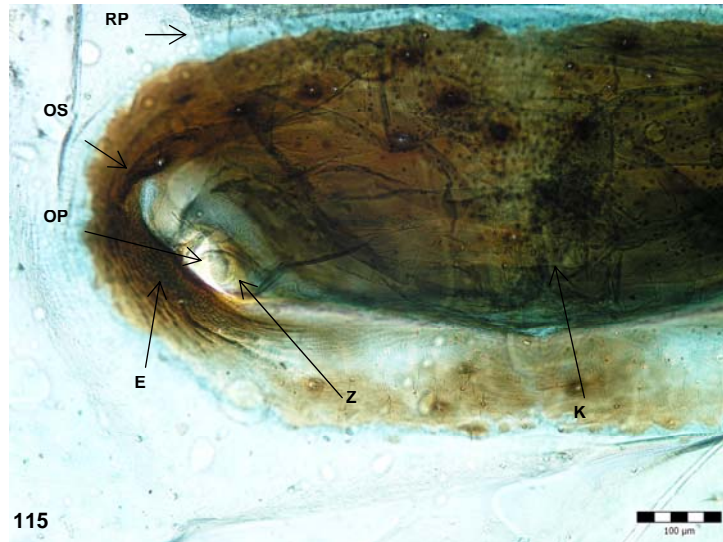
Podobně jako u čtvrtého instaru jsou vyvinuty ouškovité struktury, kutikulární val a evaporatorium (Obrázek 113, 114).



Obrázek 113, 114. *Elasmucha ferrugata*, pátý larvální instar, samec, detailní pohled na okolí pravé ostioly posteriorní DAG. 113 – optický mikroskop. 114 – SEM. Vysvětlivky: BV – bochánkovité výstupky, E – evaporatorium, KV – kutikulární val, OP – ostiola posteriorní DAG, OS – ouškovitá struktura, Z – záklopka.

Mezi pohlavími byly naměřeny odlišné hodnoty ploch jednotlivých skulptur (Tabulka 6).

V rezervoárech samic bylo nalezeno 1120 až 1400 kanálků, což je srovnatelné s počtem kanálků nalezených u samců. U samic byla plocha mediálního skleritu menší, zaujímala „pouze“ 2,79 % z celkové plochy dorsa abdominu (Tabulka 2, 4).



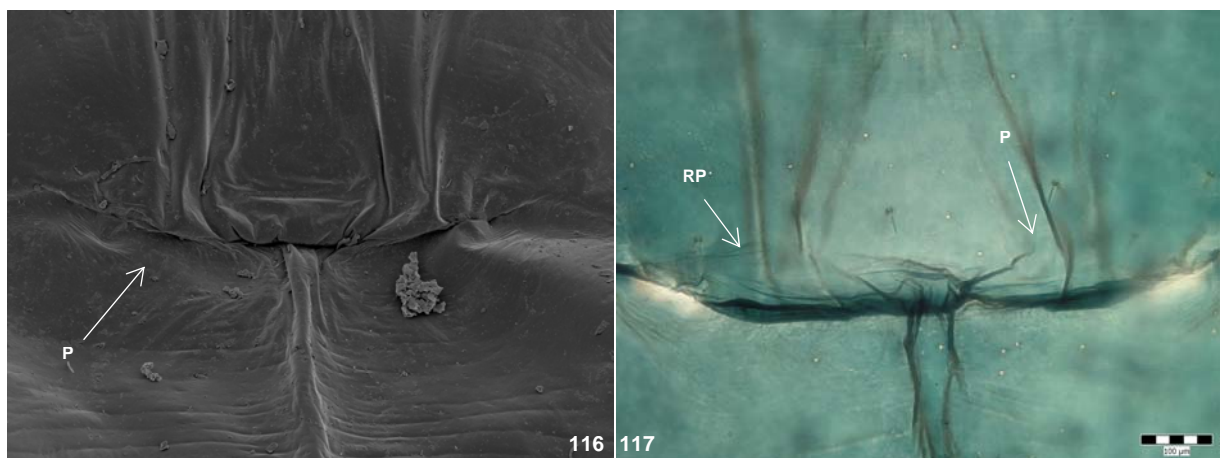
Obrázek 115. *Elasmucha ferrugata*, pátý larvální instar, samice, detail okolí pravé ostioly posteriorní DAG s rezervoárem; optický mikroskop. Vysvětlivky: E – evaporatorium, K – kanálky, OP – ostiola posteriorní DAG, OS – ouškovitá struktura, RP – rezervoár posteriorní DAG, Z – záklopka.

Plocha evaporatoria na mediálním skleritu byla naopak u samice větší a tvořila 5,92 % z plochy mediálního skleritu posteriorní žlázy.

V rezervoárech pátých instarů samčího pohlaví bylo nalezeno od 1280 do 1424 kanálků. Rozsah mediálního skleritu byl oproti samicím větší, sklerit zaujímal plochu o velikosti 3,17 % plochy dorsa abdominu. Na této sklerotizované ploše pak oblast evaporatoria tvořila 5,37 %, což je méně než u samic.

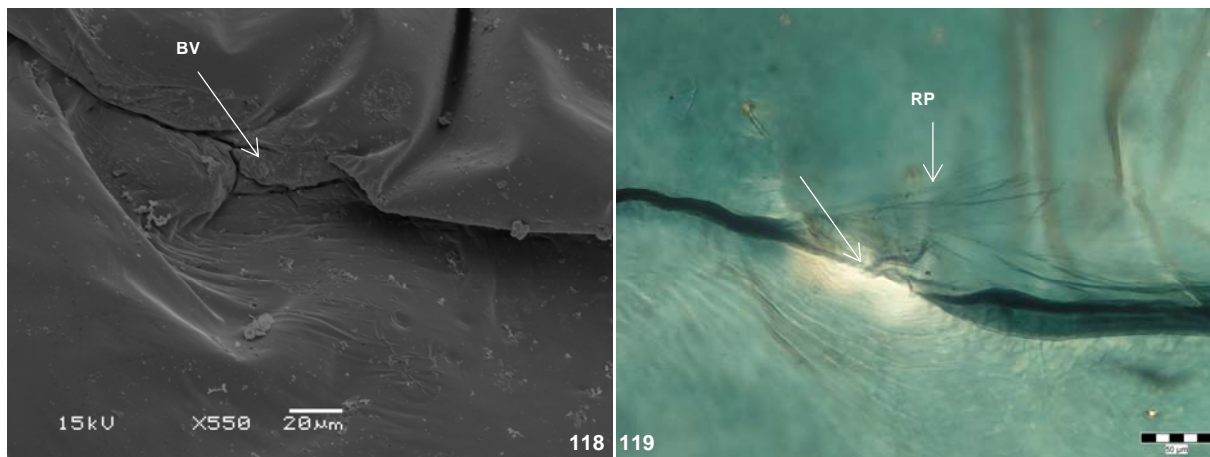
4.3.6. Imaga (Obrázek 116–121)

U posteriorní žlázy dospělců, na rozdíl od larválních instarů, nejsou vyvinuty žádné externí kutikulární struktury ani skulptury (Obrázek 116, 117).



Obrázek 116, 117. *Elasmucha ferrugata*, imago, samice, posteriorní DAG. 116 – SEM; zvětšeno 100x. 117 – optický mikroskop. Vysvětlivky: P – oblast posteriorní DAG, RP – rezervoár posteriorní DAG.

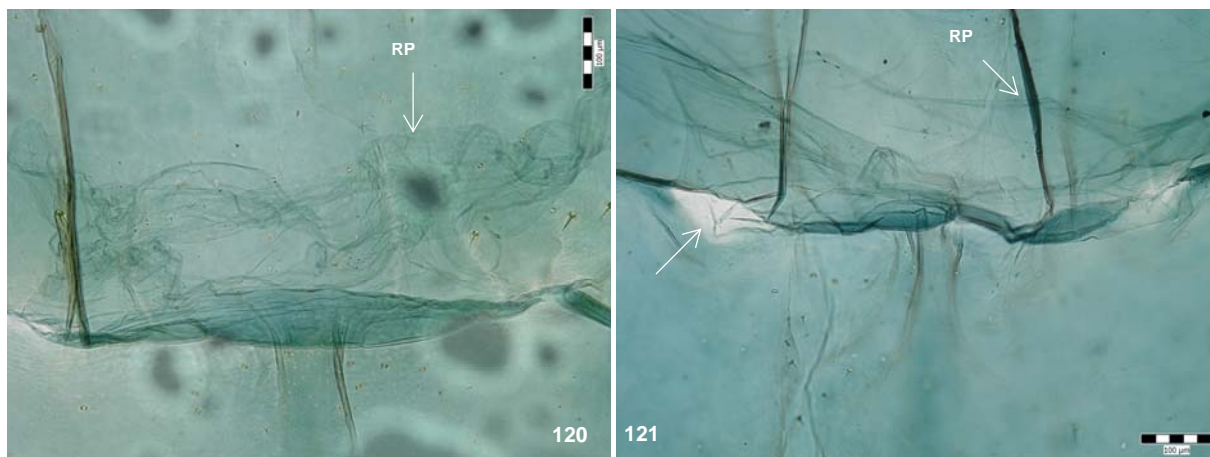
V oblasti, kde by byly u larev umístěny ostioly, je viditelné pouze zeslabení kutikuly. V elektronovém mikroskopu není vidět víc než zvrásněná kutikula a bochánkovité výstupky (Obrázek 118, 119).



Obrázek 118, 119. *Elasmucha ferrugata*, imago, samice, detailní pohled na okolí pravé ostioly posteriorní DAG. 118 –SEM. 119 – šipkou označeno místo zeslabené kutikuly; optický mikroskop. Vysvětlivky: BV – bochánkovité výstupky, RP – rezervoár posteriorní DAG.

Intima rezervoárů posteriorní žlázy je u dospělců vyvinuta, ale ani u jednoho pohlaví nebyly nalezeny žádné kanálky (Obrázek 120, 121).

Mezi samci a samicemi nebyly zjištěny žádné rozdíly ve studovaných strukturách.



Obrázek 120, 121. *Elasmucha ferrugata*, imago, rezervoár posteriorní DAG; optický mikroskop. 120 – samice, šipkou označeno místo zeslabené kutikuly. 121 – samec. Vysvětlivky: RP – rezervoár posteriorní DAG.

5. DISKUZE

Dosud nebyla publikována srovnávací studie kutikulárních struktur DAGs během celého ontogenetického vývoje druhu ploštice, u kterého perzistují funkční DAGs až do imaginálního stadia. Přitom jsou tyto struktury a skulptury dobře viditelné i na fixovaném materiálu a proto i dobře využitelné pro diagnostické a fylogenetické účely. Hlavně pro diagnostické účely jsou také počty a lokalizace ostiol a pigmentace struktur okolo nich často využívány (např. Pučkov 1961).

Jediná studie sledující vývoj pachových žláz během celé ontogeneze je práce Staddona (1995). Autor sledoval změny pachových žláz, DAGs i MTGs, druhu *Oncopeltus fasciatus* (Lygaeidae). U tohoto druhu ovšem nejsou DAGs perzistentní u dospělých stadií. Davidová-Vilímová (2006) se zabývala druhem s předpokládanou perzistencí DAGs u imag, *Aradus betulae* (Aradidae), ale práce obsahuje pouze informace o přítomnosti rezervoáru DAG a až od druhého larválního instaru.

Velmi důležitá řešená otázka se týkala určení stavu, který dokazuje, že žláza je opravdu funkční. Historicky byla za důkaz funkčnosti žlázy považována otevřená ostiola při pozorování v optickém mikroskopu (např. Verhoeff 1893) nebo později přítomnost rezervoáru, tj. jeho intimy, ale často i se zachovaným oranžovým zbarvením (např. Podoubský 1997). Za dobrý důkaz funkčnosti byla dále považována přítomnost kutikulárních struktur vlastních sekrečních jednotek (např. Staddon 1995, 1999, Weirauch 2006). A samozřejmě nejprokazatelnějším důkazem, že žláza je funkční je přítomnost samotných sekrečních jednotek (Gulde 1902, Henrici 1939, Lucchi 1990). Diplomová práce měla za úkol pokusit se objasnit i tuto otázku.

Výsledky předkládané práce mohly být srovnány se studiiemi několika druhů ploštic zaměřenými na detailní studium, včetně histologického, situace u pátého larválního instaru a imaga. Druhem, u kterého byla takto potvrzena jak perzistence tak funkčnost DAGs u dospělců je *Dysdercus cingulatus* (Pyrrhocoridae) (Farine 1987, 1988). Ve studiích Lucchi (1993) a Lucchi & Solinas (1990) byla detailně studována situace u druhu *Nezara viridula* (Pentatomidae). A poslední takovouto studii, o druhu *Lincus spurcus* (Pentatomidae: Discocephalinae), publikovali Cassier *et al.* (1994).

Ze srovnání výsledků diplomové práce s publikovanými údaji však vyplynula i řada otázek, které zůstávají nezodpovězené a představují tak možná témata dalšího studia.

Typickou situací pro larvální instary taxonu Pentatomoidea je párová anteriorní DAG, s párem ostiol, mediální a posteriorní žlázy nepárové, větší, také s párem ostiol. Tato situace byla potvrzena i u zástupců čeledi Acanthosomatidae. U druhu *E. ferrugata* byla pozorována shodná situace. Jedná se velmi pravděpodobně o obecný stav DAGs u larev této nadčeledi.

Rezervoáry u *E. ferrugata* našel u imag už Podoubský (1997). V této práci byla uvedena pouze přítomnost rezervoáru, nebyly počítány kanálky sekrečních jednotek, ani nebyla zmíněná jejich přítomnost či nepřítomnost.

Již dříve byl studován kongenerický druh *E. grisea* (např. poslední pátý larvální instar v pracích Podoubského 1997, Evanse *et al.* 1990). V poslední zmíněné práci autoři uvádějí, že u zástupců čeledi Acanthosomatidae je u pátého instaru anteriorní žláza nefunkční a jsou funkční pouze mediální a posteriorní žlázy. Jejich závěry však nesouhlasí s pozorováním u druhu *E. ferrugata*, u kterého je funkční i párová anteriorní žláza (u obou pohlaví bylo zjištěno kolem 1.000 kanálků) a nelze je tedy zobecnit pro celou čeleď.

U prvních instarů *E. ferrugata* jsou vyvinuty rezervoáry anteriorní žlázy, ale nebyly v nich zjištěny žádné kanálky sekrečních jednotek, stejně tak u dospělců byly pozorovány poměrně velké rezervoáry mediální a posteriorní žlázy, ale téměř bez kanálků (maximálně pět). U dospělých jedinců nebyly přítomné žádné externí kutikulární modifikace v okolí ostiol. Při posledním svlékání se tedy u imag už neobnoví sekreční jednotky včetně kutikulárních struktur, ale je zachována kutikulární intima rezervoáru. Zůstává tedy otázkou, z jakého důvodu nedojde i k odstranění „zbytečného“ rezervoáru.

U druhu *Nezara viridula* (Lucchi ,1993, Lucchi & Solinas 1990) byly kanálky sekrečních jednotek v anteriorní žláze zjištěny po celé intimě rezervoáru a v rezervoárech mediální a posteriorní DAGs jen ve ventrální (= posteriorní) stěně. U druhu *E. ferrugata* byla zjištěna odlišná situace, v rezervoárech anteriorní žlázy byly kanálky pozorovány v anteriorní části dorsální i ventrální stěny a u mediální a posteriorní žlázy byly kanálky po celé intimě rezervoáru. U druhu *Dysdercus cingulatus* (Farine 1987, 1988) bylo zjištěno ještě daleko komplikovanější rozložení sekrečních jednotek v epitelu rezervoáru. Ze známých výsledků je tedy zřejmé, že rozložení, resp. hustota sekrečních jednotek u DAGs není jednotné pro vyšší taxony.

U všech larválních instarů *E. ferrugata* byl zjišťován počet kanálků, respektive jejich vyústění do intimy rezervoáru. U prvního instaru nebyly zjištěny žádné kanálky v anteriorní žláze a jen minimální počet v mediální a posteriorní žláze, maximálně pět.

Tyto výsledky jednoznačně potvrzují, že ve stádiu prvního instaru není žádná DAG funkční.

U druhého instaru byl zjištěn velmi nízký počet kanálků v anteriorní a posteriorní žláze, 15 respektive 8, více pak kanálků v mediální žláze, 25. Nikdy nebylo publikováno ani příliš diskutováno od jakého počtu sekrečních jednotek je žláza funkční. Proto ani v případě druhého instaru nelze rozhodnout, je možné, že by tento stav mohl být na hranici funkčnosti.

Ve třetím instaru se počet kanálků skokově zvyšuje, nejvíce v anteriorní DAG, a dále roste až do pátého instaru. U anteriorní DAG se počet zvyšuje dále na maximum u imag. U mediální a posteriorní žlázy byly zjištěny u imag maximálně tři kanálky, žlázy jsou prokazatelně nefunkční, i to i vzhledem k neotevřeným ostiolám. U larev samice je v pátém instaru v anteriorní a mediální žláze vyšší počet kanálků než u samce, a to i v nápadném kontrastu k situaci u imag, hlavně u anteriorní žlázy. Samice má v pátém instaru až 1.542 kanálků, samec jen 1.042, u imaga samice pak dochází k redukci počtu kanálků na maximálně 1.118. U imaga samce se dál počet kanálků zvyšuje až na maximálně 1.800. Se současnými znalostmi není možné zodpovědět otázku, proč dochází ke „zbytečnému“ nárůstu počtu sekrečních jednotek u samice v pátém instaru, když jejich počet následně u imaga klesne zhruba o čtvrtinu. Postupně vzrůstající počet kanálků během ontogeneze odpovídá i stavu zjištěnému u *Oncopeltus fasciatus* (Staddon 1995).

Tradičně se uvádí, že DAGs jsou funkční u larev ploštic od prvního instaru (např. Schuh & Slater 1995). Neexistují ale spolehlivé doklady takovéto situace. U druhu *Oncopeltus fasciatus* (Staddon 1995) nebyli jedinci prvního instaru pozorováni v dostatečném množství. U druhu *E. ferrugata* nebyly pozorovány žádné kanálky v rezervoárech anteriorní žlázy prvního instaru. Anteriorní žláza je tedy v tomto případě nefunkční. Možnou cestou k vyjasnění situace s anteriorní žlázou by mohla být srovnávací studie larev prvního instaru napříč taxony nadčeledi Pentatomoidea. Velkým problémem by ovšem mohlo být získání dostatečného množství materiálu. První instar ploštic žije většinou jen několik hodin po vylíhnutí a nalézt jej v přírodě je proto téměř nemožné. Řešením problému získání dostatečného materiálu by mohly být chovy.

U většiny zástupců Pentatomoidea je perzistující žlázou u imag, pokud je některá zachována, anteriorní žláza (Vilímová nepubl.). U druhu *Dysdercus cingulatus* (Farine 1987, 1988) jsou u larev přítomné tři nepárové DAGs, u imag dvě nepárové funkční žlázy, anteriorní a mediální DAGs. Z jakého důvodu existuje tak rozdílná situace u druhů

Pyrrhocoridae a Pentatomoidea, které mají podobný způsob života? Jedná se o druhy, které se vyskytují na zemi nebo v keřovém či stromovém patru vegetace, proto existuje i předpoklad, stejných nebo podobných predátorů či situací, kdy je potřeba obranných žláz.

Dalším rozdílem mezi druhy těchto taxonů je i velikost evaporatorií metathorakálních žláz. U zástupců Pyrrhocoridae je oblast evaporatorií MTGs velmi malá, zatímco u zástupců Pentatomidae či Asopinae je evaporatorium dobře vyvinuto na poměrně velké ploše (Schaefer 1972). Může existovat spojitost mezi počtem a velikostí perzistujících DAGs a velikostí evaporatorií MTGs? V situacích, kdy jsou DAGs zachovány ve větší míře nedochází k tak rozsáhlému vývoji MTGs nebo naopak?

Práce Schaefera (1972) je srovnávací studií evaporatorií MTGs druhů ze skupiny Trichophora (kam patří nadčeledi Lygaeoidea, Pyrrhocoroidea, Coreoidea a Pentatomoidea). Autor se domnívá, že by relativní rozsah evaporatoria mohl být vodítkem pro zjištění evoluce MTGs. Tuto plochu autor měřil v procentech plochy celé metapleury. Rozměry ploch modifikované kutikuly asociované s vyústěním DAGs nebyly zatím tímto způsobem studovány a zhodnoceny, diplomová práce je proto v tomto směru pilotní studií. Mediální sklerit, nesoucí vyústění i všechny další struktury a skulptury, je často nepřesně označován celý jako evaporatorium (např. Pučkov 1961). Relativní velikost jeho plochy se vyvíjí v ontogenezi druhu *E. ferrugata* zhruba stejným způsobem u všech tří DAGs. Plocha skleritu výrazně vzroste mezi prvním a druhým larválním instarem, naopak mezi druhým a třetím instarem se velikost plochy výrazně zmenší. Ve čtvrtém instaru se plocha ještě mírně zmenší, v pátém instaru se mírně zvětší. V případě anteriorní žlázy, funkční u imag, se v tomto stadiu velikost skleritu až 10x zmenší ve srovnání s pátým instarem.

Skulptura modifikované kutikuly v těsném sousedství ostioly, tj. evaporatoria není shodná u všech tří DAGs. U anteriorní žlázy se zásadně liší, kutikula má tvar jednotlivých bochánkovitých výstupků. Tento typ modifikace je popsán u ploštic poprvé i s uvedeným novým popisným termínem. Od bochánkovité skulptury je v kruhu výrazně zvrásněná kutikula. Plocha s bochánkovitou skulpturou se mírně zmenšuje mezi prvním a druhým instarem, následně se postupně zvětšuje od druhého instaru až do imaginálního stadia. Změna velikosti zvrásněné kutikuly není takto pravidelná, plocha vzroste mezi prvním a druhým instarem, zmenší se u třetího instaru, poté se zvětšuje do pátého instaru, ale u imag se zmenší zhruba na relativní velikost jako u prvního instaru. K zásadnímu odpaření sekrece anteriorní žlázy dochází na ploše s bochánkovitou skulpturou, zvrásněná kutikula zřejmě „odvede“ zbytek sekrece dále od ostioly. Zvětšení plochy bochánkovité skulptury je u imag nápadnější u samice než u samce, přitom změna z pátého instaru do imaga je velmi

nápadná, minimálně 2.5x, naopak plocha se zvrásněním se mezi pátým instarem a imagem zmenší, zhruba o čtvrtinu. Je tedy zřejmé, že k odpařování sekretu anteriorní žlázy dochází na ploše s bochánkovitou skulpturou, není však jisté, proč je zvrásněná plocha u anteriorní žlázy u imag výrazně větší než zmíněná skulptura.

U mediální a posteriorní žlázy je vyvinuta síťovitá skulptura evaporatoria, jejíž tvar je postupně v ontogenezi komplikovanější, dochází k silnějšímu zvrásnění kutikuly jednotlivých buněk, až zhruba připomíná charakteristickou skulpturu evaporatorií MTGs. U prvního instaru je však kutikula u ostioly bez skulptury, maximálně jemně zvlněná, charakteristické evaporatorium je vyvinuto od druhého instaru, jeho relativní rozsah se postupně zvětšuje do čtvrtého instaru, mírně snižuje v pátém instaru. V totožné poloze nebyla u imag zjištěna žádná modifikovaná struktura.

Obdobný vzor skulptur kutikuly byl popsán i u *Nezara viridula* (Lucchi 1993), pravděpodobně se může jednat o obecný pattern u larev kněžic, Pentatomoidea. K přesnému a jednoznačnému zhodnocení funkce a tak i změn velikosti ploch s jednotlivými skulpturami sloužícími k odpařování sekretu DAGs by bylo zapotřebí znát fyzikální vlastnosti skulptur a jejich interakci se sekrecí.

Obecně se předpokládá, že nadčeď Pentatomoidea měla společného předka s nadčeďí Lygaeoidea, ale ze srovnání výsledků práce Xue & Bu (2008), kteří se zabývali kutikulárními strukturami asociovanými s DAGs u Lygaeoidea, vychází, že situace jsou u obou nadčeďí velmi odlišné. U Lygaeoidea jsou ostioly spojeny výraznou rýhou, v jejich blízkosti nejsou přítomné ouškovité struktury (viz. níže), síťovitá skulptura evaporatoria má pravidelný tvar, u ostiol mediální a posteriorní žlázy je přítomna i kuželovitá skulptura, podobná bochánkovité skulptuře. U druhu *E. ferrugata* je nad ostiolami přítomný kutikulární val, ale ostioly jím nejsou spojeny, u ostiol je vyvinutý nápadný ouškovitý výběžek. Hlubší srovnání však není zatím možné díky nedostatečným, jen jednotlivým informacím.

Na posterolaterální ploše záklopek ostiol mediální a posteriorní žlázy jsou u druhu *E. ferrugata* od druhého instaru u mediální žlázy, od třetího instaru u posteriorní žlázy přítomné bochánkovité výstupky, které připomínají bochánkovitou skulpturu asociovanou s anteriorní DAG. Funkce výstupků není zcela jasná, mohou zabránit zpětnému toku sekretu při otevřené ostiole tím, že na takto zvětšené ploše dochází k vypařování sekretu.

Od druhého larválního instaru je u mediální a posteriorní DAGs vyvinuta ouškovitá struktura laterálně od ostioly. Postupně je na větší ploše na její posterolaterální části rozšířena síťovitá skulptura, která sem zasahuje kontinuálně z evaporatoria. Taková situace nebyla zatím u larev kněžic popsána. Jako nejpravděpodobnější funkcí ouškovité struktury se nabízí usměrnění toku vyloučené sekrece DAG a zároveň její odvedení z plochy abdominu, obdobně jako peritrema MTGs, protože apex ouška je vyvýšen nad okolní plochu. Lucchi (1993) popisuje obdobnou strukturu u *N. viridula* a její funkci vysvětluje následovně. Na bázi této struktury je zevnitř v abdominu inzerován sval ovládající otvírání ostioly. Při vypuštění sekrece ouškovitá struktura změní svou polohu a otevře ostiolu v koordinaci se svalem, který zploští rezervoár a „vytlačí“ sekret, to vše za asistence elastické intimy rezervoáru. Je pravděpodobné, že ouško má funkci několik a mimo uvedených u *N. viridula* může i usměrňovat vypouštěný sekret. Na místě ouška je u prvního larválního instaru vyvinut jen zesílený kutikulární výběžek, jeho protažením vznikne u starších instarů ouškovitá struktura.

Zatímco u anteriorní DAG je situace u prvního instaru zhruba shodná s dalšími instary, u mediální a posteriorní DAGs je zásadně odlišná. U nich je ostiola štěrbinovitá, obdobně jako u anteriorní DAG, ne polokruhovitá. U prvního instaru není vyvinuta charakteristická síťovitá skulptura evaporatoria. Momentálně neznáme vysvětlení této situace.

Odlišná stavba kutikulárních struktur a skulptur u anteriorní verus mediální plus posteriorní žlázy a jejich shodná stavba u mediální a posteriorní žlázy ukazuje velmi pravděpodobně na odlišnou funkci anteriorní DAG a dvou zbývajících DAGs. Tomuto předpokladu by odpovídala i perzistence funkční pouze anteriorní žlázy u dospělých jedinců.

Studovaný druh patří do čeledi Acanthosomatidae, která je známá péčí o potomstvo, zůstává nezodpovězená otázka, zda funkční perzistující žlázy imag hrají roli i v tomto druhu chování. A pokud ano, tak jakou.

U příbuzného druhu, *E. grisea* byla zjištěna iniciace specifického chování samic zapojením larválních DAGs, po vyloučení sekretu larvami samice reaguje tím, že je brání (Maschwitz & Gutmann 1979). Chemická ochrana by ovšem mohla fungovat i opačně, po vyrušení/ohrožení samice nad snůškou roztáhne křídla, vibruje jimi, při tom by mohlo docházet k uvolnění sekrece z anteriorní DAG a pomocí křídel k jejímu rozptylování do

okolí. Podobné chování bylo pozorováno i u zástupců z čeledi Tingidae, kteří vykazují péči o potomstvo (např. Tallamy 1999). Autor toto chování vysvětlil tak, že samice roztažením křídel zvětší opticky svoji velikost a tím zastraší nepřítele. Pokud by však měla perzistující žláza u druhu *E. ferrugata* sloužit výhradně k obraně snůšky, měl by hypoteticky být počet kanálků větší u rezervoárů samic, které snůšku hlídají a brání, než u samců. Zjištěn byl ale vyšší počet kanálků u samců, zhruba o 1/3 než u samic, žláza je tedy nápadně sexuálně dimorfní. Takováto situace je např. u zástupců Asopinae vysvětlena feromonální sekrecí žlázy (např. Aldrich 1988a). K vysvětlení funkce anteriorní DAG u imag je samozřejmě zapotřebí dalších podrobných studií.

Péči o potomstvo, a tím modifikovaným chováním se zřejmě dá vysvětlit i to, že první larvální instar druhu *E. ferrugata* nemá funkční žádnou DAG a druhý instar pravděpodobně také ne, nebo jen ve velmi omezené míře. Samice se o larvy stará do druhého instaru včetně (Hanelová 2005).

Ze získaných výsledků a jejich srovnáním s publikovanými daty o dalších plošticích se dá závěrem shrnout, že přítomnost kutikulární intimy rezervoáru a/nebo otevřené ostioly rozhodně nestačí jako důkaz toho, že žláza je funkční. Byla například pozorována intima rezervoáru u mediální a posteriorní DAGs u dospělců studovaného druhu, zachovaná intima byla i značného rozsahu, ale nebyly v ní viditelné žádné kanálky sekrečních jednotek.

Jednoznačným důkazem funkčnosti žlázy je přítomnost aspoň kutikulárních struktur vlastních sekrečních jednotek, nemáme-li možnost provést histologickou studii, protože tyto struktury vznikají po každém svlékání de novo, a pokud vzniknou, tak již v daném stadiu nedegenerují (Henrici 1939). Z externích kutikulárních struktur na funkčnost žlázy nejspíše ukazuje vyvinuté evaporatorium.

Toto studium také jednoznačně dokázalo, že je nutné zkombinovat data z optického mikroskopu s daty nejlépe z elektronového mikroskopu, například ztenčená kutikula u imag v místě larválních ostiol mediální a posteriorní DAGs vypadá jako otevřený otvor v optickém mikroskopu, teprve SEM ukázal, že v této oblasti je kutikula kontinuální.

Tato podrobná ontogenetická studie tak sice odpověděla na většinu původních otázek, ale naopak další, na které není při současné míře znalostí možné odpovědět, položila.

6. ZÁVĚRY

Zjištěný stav DAGs u larev druhu *Elasmucha ferrugata* je zřejmě dalším potvrzením obecného vzoru DAGs u nadčeledi Pentatomoidea: vyvinuty tři DAGs, anteriorní párová s párem ostiol, mediální a posteriorní nepárové s párovými ostioly.

U larev druhu *E. ferrugata* jsou u pátého larválního instaru funkční všechny tři DAGs, nebyl tak potvrzen publikovaný závěr, že u všech zástupců Acanthosomatidae je u pátého instaru anteriorní DAG nefunkční.

Rozložení sekrečních jednotek ve stěnách rezervoárů DAGs není pravděpodobně jednotné v rámci vyšších taxonů, zde Pentatomoidea.

Anteriorní DAG druhu *E. ferrugata* je prokazatelně nefunkční pouze u prvního larválního instaru, pravděpodobně také u druhého instaru.

Mediální a posteriorní DAGs druhu *E. ferrugata* jsou prokazatelně nefunkční u imag, téměř jistě také u prvního larválního instaru a pravděpodobně se slabou intenzitou fungování u druhého instaru.

Ke skokovým změnám relativní velikosti mediálního skleritu dochází v ontogenezi mezi prvním a druhým instarem (zvětšení) a mezi druhým a třetím instarem a pátým instarem a imagem (zmenšení).

Evaporatorium anteriorní DAG je tvořeno plochou se dvěma odlišnými kutikulárními skulpturami, bochánkovitou těsně u ostioly a na ní navazujícím vrásněním. Tento vzor je naprosto odlišný od mediální a posteriorní žlázy. Evaporatoria mediální a posteriorní DAGs jsou tvořena síťovitou kutikulární skulpturou, ta nebyla zjištěna u prvního larválního instaru a u imag. Obdobný vzor modifikací kutikuly byl již publikován u zástupce Pentatomidae.

Ostioly anteriorní DAG jsou štěrbinovité, bez valvy. Ostioly mediální a posteriorní DAGs jsou v klidu uzavřeny kutikulární valvou, původem z ventrální (= posteriorní) stěny rezervoáru, která má posterolaterální plochu modifikovanou v bochánkovité výstupky,

obdobné bochánkovité skulptury u ostioly anteriorní DAG. Přítomnost obdobné kutikuly byla zjištěna i v posteriorní části ostioly mediální a posteriorní DAGs prvního instaru a u imag na místě larvální ostioly mediální DAG.

Počet sekrečních jednotek, jejich kanálků, roste u všech DAGs od druhého do pátého larválního instaru, u anteriorní žlázy až do imaginálního stadia.

Bylo zjištěno, že u samic je v anteriorní DAG více sekrečních jednotek v pátém instaru než ve stadiu imaga, u samců je v pátém instaru méně jednotek než u imaga. U imag tak existuje výrazný sexuální dimorfismus v počtu sekrečních jednotek, je vyšší u samců.

U mediální a posteriorní DAGs je od druhého instaru laterálně od ostioly vyvinuta ouškovitá struktura, na jejíž posterolaterální ploše je síťovitá struktura kontinuální s evaporatoriem.

Zjištěné rozdíly kutikulárních struktur a skulptur u anteriorní DAG a na rozdíl od toho u mediální a posteriorní žlázy mohou znamenat odlišnou funkci žláz, eventuálně složení jejich sekrecí.

Zjištěný vzor externích kutikulárních struktur a skulptur asociovaných s DAGs zhruba souhlasí se situací popsanou u dalších kněžic, může tedy zřejmě představovat vzor obecný.

Situace, kdy DAGs nejsou funkční u prvního larválního instaru, maximálně s minimální výkonností u druhého instaru a anteriorní žláza je naopak funkční u imag lze nejpravděpodobněji vysvětlit péčí samice o potomstvo do druhého instaru.

Prokazatelným důkazem, že DAG je funkční je přítomnost vyústění kanálků sekrečních jednotek do intimy rezervoáru, z vnějších struktur vyvinuté evaporatorium.

7. PŘEHLED CITOVANÉ LITERATURY

* = takto označené práce nebyly studovány v originále

- ALDRICH J. R. 1988a. Chemical ecology of the Heteroptera. *Ann. Rev. Entomol* **33**: 211–238.
- ALDRICH J.R. 1988b. *Chemistry and biological activity of pentatomoid sex pheromones*. Pp.: 418-431. In: CUTLER H. G. (ed.): *Biologically active natural products: Potencial use in agriculture*. Washington D. C.: ACS Symposium Series No. 380.
- ALDRICH J.R. 1991. Pheromones of good and bad bugs. *Entomol. Soc. Queens. News Bull.* **19**: 19-27.
- ALDRICH J.R. 1995. *Chemical communication in the true bugs and parasitoid exploitation*. Pp.: 318-363. In: CARDÉ R. T. ET BELL W. J. (eds.): *Chemical ecology of insects II*. New York: Chapman et Hall.
- BRINDLEY M. D. H. 1930: On the metasternal scent glands of certain Heteroptera. *Trans. Entomol. Soc. London* **78**: 199–207.
- CASSIER P., NAGNAN P., LLOSA J. F., ANDRE M. & GUILLAUMIN D. 1994: Fine structure and physiochemical analysis of the nymphal and imaginal scent gland systems of *Lincus spurcus* (Rolston) (Heteroptera: Pentatomidae). *Int. J. Ins. Morphol. Embryo.* **23**: 371–382.
- COBBEN R. H. 1968: *Evolutionary trends in Heteroptera. Part I. Eggs, architecture of the shell, gross embryology, and eclosion*. Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, 475 pp.
- COBBEN R. H. 1978: Evolutionary Trends in Heteroptera. Part II. Mouthpart-structures and feeding strategies. *Mededelingen Landbouwhogeschool (Wageningen)* **78 (5)**: 1–407.
- DAVIDOVÁ-VILÍMOVÁ J. 1993: Ontogeny of three European Coptosoma species (Heteroptera: Plataspidae). *Acta Univ. Carol. Biologica* **36** (1992): 249–279.
- DAVIDOVÁ-VILÍMOVÁ J. 2006: Dorsal abdominal glands in *Aradus betulae* (Heteroptera, Aradidae). In: RABITSCH W. (ed.): Hug the bug – For love of true bugs. Festschrift zum 70. Geburtstag von Ernst Heiss. *Denisia* **19**: 137–148.
- DAVIDOVÁ-VILÍMOVÁ J. & PODOUBSKÝ M. 1999: Larval and adult dorso-abdominal scent glands and androconia of Central European Pentatomoidea (Insecta: Heteroptera). *Acta Soc. Zool. Bohem.* **62**: 37–69.
- * DUFOUR L. 1833: Recherches anatomiques et physiologiques sur les Hémiptères. *Mém Savants Étrang Acad. Sci.* **9**: 129–462.
- DUPUIS C. 1947: Données sur la morphologie des glandes dorso-abdominales des Hémiptères-Hétéroptères. Historique et discussion. *Feuille Natur.* **49**: 13–21.
- DUPUIS C. 1949: Données nouvelles sur la morphologie abdominale des Hémiptères Hétéroptères et en particulier des Pentatomoidea. *Compte Rendu Seances XIII e Cong. Internat. Zool.*, **1948**: 471–472.
- DUPUIS C. 1952: Notes, remarques et observations diverses sur les Hémiptères. Première Série: III. - Dimorphisme sexuel de la glande dorso-abdominale antérieure de certains Asopinae (Pentatomidae). *Feuille Natur.*, N.S. **7**: 4.
- DUPUIS C. 1959: Notes, remarque et observations diverses sur les Hémiptères. Quatrième Série: XII. - Dimorphisme de la glande dorsale antérieure des Asopinae. *Cahiers Natur., Bull. N. P., N. S.* **15**: 45–52.
- EVANS C. E., STADDON B. W. & GAMES D. E. 1990: *Analysis of gland secretions of Pentatomoidea (Heteroptera) by gas chromatography-mass spectrometry techniques*. Pp. 321-328. In: McCaffery A. R. et Wilson I. D, (eds.): *Chromatography and isolation of insect hormones and pheromones*. New York: Plenum Press.
- FARINE J.-P. 1987: The exocrine glands of *Dysdercus cingulatus* (Heteroptera, Pyrrhocoridae): morphology and function of the nymphal glands. *J. Morphol.* **194**: 195–207.
- FARINE J.-P. 1988: The exocrine glands of *Dysdercus cingulatus* (Pyrrhocoridae): Morphology and function of adults' glands. *Ann. Soc. Entomol. Fr.* **24**: 241–256.

- FAÚNDEZ E.I. & OSORIO G.A. 2010: New data on the biology of *Sinopla perpunctatus* Signoret, 1864 (Hemiptera: Heteroptera: Acanthosomatidae). *Bol. Biodiv. Chile* **3**: 24–31.
- GULDE J. 1902: Die Dorsaldrüsen der Larven der Hemiptera-Heteroptera. Ein Beitrag zur Kenntnis derselben. *Ber. Senckenberg. Naturforsch. Ges.* (Frankfurt a. M.) **1902**: 85–137.
- GUPTA A. P. 1961: A critical review of the studies on the so-called stink or repugnatorial glands of Heteroptera with further comments. *Canad. Entomol.* **93**: 482–486.
- GUPTA A. P. 1964: Musculature and mechanism of the nymphal scent-apparatus of *Riptortus linearis* H. S. (Heteroptera: Alydidae) with comments on the number, variation and homology of the abdominal scent glands in other Heteroptera. *Proc. of the Ent. Soc. of Washington* **66**: 12–18.
- HAMILTON J. G. C., GOUGH A. J. E., STADDON B. W. & GAMES D. E. 1985: Multichemical Defense of Plant Bug *Hotea gambie* (Westwood) (Heteroptera: Scutelleridae): (E)-2-Hexenol from Abdominal Gland in Adults. *J. Chem. Ecol.* **10**: 1399–1409.
- HANELOVÁ J. 2005: Péče o potomstvo u ploštíc čeledi Acanthosomatidae (Heteroptera). Diplomová práce. PřF UK v Praze, katedra zoologie. 104 pp. + 39obr.
- HENRICI H. 1939: Die Hautdrüsen der Landwanzen (Geocorisae), ihre mikroskopische Anatomie, ihre Histologie und Entwicklung. Teil 1.: Die abdominalen Stinkdrüsen, die Drüsenpakete und die zerstreuten Hautdrüsen. *Zool. Jahrb. Anatomie* **65**: 141–228.
- HO H.-Y., HSU Y.-C., HO J.-Z., LO L.-W. & CHUANG Y.-C. 2006: Volatiles in the dorsal abdominal glands and exuviae of *Leptocoris abdominalis* and *Leptocoris augur* (Heteroptera: Rhopalidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* **99** (5): 859–864.
- HO H.-Y., KOU R. & TSENG H.-K. 2003: Semiochemicals from the predatory stink bug *Eocanthecona furcellata* (Wolff): components of metathoracic gland, dorsal abdominal gland, and sternal gland secretions. *J. Chem. Ecol.* **29**: 2101–2114.
- KERSHAW J. C. & MUIR F. 1907: XV. Life-history of *Tessaratomia papillosa* Thunberg, with notes on the stridulating organ and stink-glands. *Trans. Entomol. Soc. London* **1907**: 253–258.
- KMENT P. & VILÍMOVÁ J. 2010: Thoracic scent efferent systém of the Pentatomoidea (Hemiptera: Heteroptera): a review of terminology. *Zootaxa*, in press.
- KOPŘIVOVÁ M. 1998: Vybrané aspekty morfologie a bionomie druhů *Ceratocombus coleoptratus*, *Ceratocombus brevipennis* a *Pachycoleus pusillimus* (Heteroptera: Dipsocoromorpha). Diplomová práce. PřF UK v Praze, katedra zoologie. 60 pp. + 20 pp. příloh.
- KOŘÍNEK V. 2005: Dichotomický klíč perlooček (Cladocera) České republiky (bez čeledi Chydoridae). www.blatna.cuni.cz. 38 pp.
- KUTALOVÁ K. 2007: Persistence larválních pachových žláz u vybraných zástupců taxonu Pentatomoidea (Heteroptera). Bakalářská práce. PřF UK v Praze, katedra zoologie. 39 pp.
- * KÜNCKEL D' HERCULAI J. 1866: Recherches sur les organes de secretion chez les insectes de l'ordre d' Hemipteres. *C. R. Ac. Sci.* **63**: 433–436.
- LUCCHI A. 1993: The scent gland system of *Nezara viridula* (L.) (Rhyncota, Heteroptera, Pentatomidae) II. Nymphal abdominal glands. *Redia* **76**: 129–145.
- LUCCHI A. & SOLINAS M. 1990: The scent gland system of *Nezara viridula* (L.) (Rhyncota, Heteroptera, Pentatomidae). I. The adult dorsal abdominal glands. *Frustula Entomol.* **13**: 237–263.
- MASCHWITZ U. & GUTMANN CH. 1979: Spur- und Alarmstoffe bei der gelfleckten Brutwanze *Elasmucha grisea* (Heteroptera: Acanthosomatidae). *Insectes Sociaux* **26**: 101–111.
- MATESCO V. C., SCHWERTNER C. F. & GRAZIA J. 2008: Immature stages of *Chinavia musiva* (Berg, 1878): a unique pattern in the morphology of *Chinavia* Orian, 1965 (Hemiptera, Pentatomidae). *J. Nat. His.* **42**: 1749–1763.
- MOODY D.L. 1930: The morphology of the repugnatory flanda of *Anasa tristis* de Geer. *Ann. Ent. Soc. of Am.* **XXII**. 81–104.
- NICHOLS S.W.(ed) & SCHUH R.T.(man. ed.) 1989: *The Torre-Bueno glossary of Entomology. Revise edition of a glossary of entomology by J.R. de la Torre-Bueno including suplement A by George S. Tulloch.* The New York Entomological society & American Museum of Natural History, xvii +840pp.

- NOIROT C. & QUENNEDEY A. 1991: Glands, gland cells, glandular units: some comments on terminology and classification. *Ann. Soc. Fr.* **27**: 123–128.
- PAVIS C. 1987: Les sécrétion exocrines des hétéroptères (allomones et phéromones). Une mise au point bibliographique. *Agronomie* **7**: 547–561.
- PLUOT-SIGWALT D. 2008: A pair of basi-abdominal sex pheromone glands in the male of some burrower bugs (Hemiptera: Heteroptera: Cydnidae). *Acta Ent. Mus. Nat. Pragae* **48** (2): 511–522.
- PODOUBSKÝ M. 1997: Srovnávací morfologická studie dorsálních abdominálních pachových žláz zástupců nadčeledi Pentatomoidea (Heteroptera). Diplomová práce. PřF UK v Praze, katedra zoologie. 58 pp. + 82 pp. příloh.
- PRUNER L. & MÍKA P. 1996: List of settlements in the Czech Republic with associated map field codes for faunistic grid mapping system. *Klapalekiana* **32** (Suppl.): 1–175.
- PUČKOV V.G. 1961: Ščitniki. Fauna Ukraini. Tom 21. Vypusk 1. Vidavnictvo Akademii Nauk Ukrainskoj RSR, Kiib, 338 pp.
- QUENNEDEY A. 1998: CHAPTER 8. Insect Epidermal Gland Cells: Ultrastructure and Morphogenesis. Pp. 177–207. In: *Microscopic Anatomy of Invertebrates. Volume 11A: Insecta*. Wiley-Liss, Inc.
- REMOLD H. 1962: Über die biologische Bedeutung der Duftdrüsen (kontrola) bei den Landwanzen (Geocorisae). *Zeitschr. Vergleich. Physiol.* **45**: 636–694.
- REMOLD H. 1963: Scent-glands of land-bugs, their physiology and biological function. *Nature* **198**: 764–768.
- SCHAEFER C. W. 1972: Degree of Metathoracic Scent-Gland Development in the Trichophorous Heteroptera (Hemiptera). *Ann. Entomol. Soc. Am.* **4**: 810–821.
- SCHUH R. T. & SLATER J. A. 1995: *True bugs of the world (Hemiptera: Heteroptera). Classification and natural history*. Ithaca: Cornell University Press. 336pp.
- STADDON B. W. 1979: The scent glands of Heteroptera. *Adv. Insect Physiol.* **14**: 351–418.
- STADDON B. W. 1990: Male sternal pheromone glands in acanthosomatid shield bugs from Britain. *J. Chem. Ecol.* **16**: 2195–2202.
- STADDON B. W. 1995: Observations on growth, morphogenesis and programmed obsolescence of scent glands in the milkweed bug, *Oncopeltus fasciatus* (Heteroptera). *J. Insect Physiol.* **41**: 313–320.
- STADDON B. W. 1999: Note on pregenital abdominal glandular structures of British Pentatomoidea (Hemiptera). *Entomol. Mon. Mag.* **135**: 177–182.
- STADDON B. W., THORNE M. J. & KNIGHT D. W. 1987: The scent glands and their chemicals in the aposematic cotton harlequin bug, *Tectocoris diophthalmus* (Heteroptera: Scutelleridae). *Aust. J. Zool.* **35**: 227–234.
- TALLAMY D.W. 1999: Child care among the insects. *Sci. Amer.* **280**: 72–77.
- VERHOEFF C. 1893: Vergleichende Untersuchungen ueber die Abdominalsegmente der weiblichen Hemiptera-Heteroptera, ein Beitrag zur Kenntnis der Phylogenie derselben. *Verhand. Naturhist. Ver.* **50**: 307–374.
- WEIRAUCH C. 2006: Dorsal abdominal glands in adult Reduviidae (Heteroptera, Cimicomorpha). *Dtsch. Entomol. Z.* **53**: 91–102.
- XUE H. & BU W. 2007: Changes of cuticular structures of *Ischnodemus caspius* (Heteroptera: Lygaeoidea: Blissidae) from the fifth instar to the adult. *Entomol. Fennica* **18**: 218–225.
- XUE H. & BU W. 2008: Morphology of abdominal evaporatoria in larvae of some Lygaeoidea (Insecta: Hemiptera: Heteroptera): functional and bearing on classification. *J. Nat. His* **42**: 35–58.

8. PŘÍLOHY

Tabulka 1. Seznam studovaného materiálu

Rr = Ribes rubrum, Rn = Ribes nigrum, V = Vaccinium myrtillus

* = čísla mapových polí podle Prunera & Míky (1996)

1., 2., 3., 4., 5. = larvální instary, im. = imago

JV = Jitka Vilímová, KK = Kateřina Kotalová, PŠ = Pavlína Ševčíková

Lokalita	datum sběru	stadium	počet jedinců	sbíral	živná rostlina	
South Bohemia, Křižanov (*6552, 6652)	3.7.2008	4., 5., im.	3, 20, 5	KK, PŠ	V	
	4.7.2008	4., 5., im.	2, 17, 7	KK, PŠ	V	
	5.7.2008	5., im.	19, 8	KK, PŠ	V	
	6.7.2008	5., im.	22, 5	KK, PŠ	V	
	7.7.2008	4., 5., im.	1, 32, 17	KK, PŠ	V	
	16.7.2008	5., im.	5, 19	KK, PŠ	V	
	20.7.2008	5., im.	3, 22	KK, PŠ	V	
	5.7.2009	4., 5., im.	11, 15, 2	KK, PŠ	V	
	6.7.2009	4., 5., im.	7, 19, 5	KK, PŠ	V	
	7.7.2009	5., im.	17, 23	KK, PŠ	V	
	25.7.2009	5., im.	13, 26	KK, PŠ	V	
	27.7.2008	5., im.	7, 22	KK, PŠ	V	
	South Bohemia, Oslov (*6551, 6651)	27.7.1992	5.	1	JV	Rr
		28.7.1992	5.	2	JV	Rn
29.7.1992		5.	1	JV	Rr	
30.7.1992		5.	1	JV	Rr	
10.7.1993		1., 2., im.	28, 23, 1	JV	Rn	
25.7.1993		3.	17	JV	Rn	
26.7.1993		4., 5.	25, 16	JV	Rr	
27.7.1993		4., 5.	13, 15	JV	Rr	
30.7.1993		4., 5.	28, 32	JV	Rn	
18.7.1994		3., 4., 5.	19, 27, 9	JV	Rr	
19.7.1994		3., 4., 5.	2, 33, 18	JV	Rn	
Central Bohemia, Zbiroh (*6148)	1.7.2008	1., im.	17, 5	KK	Rr	
	2.7.2008	1., im.	23, 2	KK	Rr	
	8.7.2008	2.	18	KK	V	
	10.7.2008	3., 4.	12, 4	KK	V	
	31.7.2008	5., im.	7, 13	KK	V	
	15.6.2009	im.	7	KK	V	
	20.6.2009	1., im.	32, 6	KK	V	
	25.6.2009	1., im.	28, 12	KK	V	
	28.6.2009	2.	24	KK	V	
	30.6.2009	3.	13	KK	V	
	15.7.2009	3., 4.	24, 16	KK	V	
	22.7.2009	5., im.	12, 5	KK	V	
	13.8.2009	im.	13	KK	V	

Tabulka 2: Rozsah abdominálních dorsálních mediálních skleritů druhu *Elasmucha ferrugata* z plochy dorsa abdominu (v μm^2)

U všech ontogenetických stadií N = 10

L = levá část mediálního skleritu anteriorní DAG, P = pravá část mediálního skleritu anteriorní DAG

(%) = % z plochy příslušného mediálního skleritu, Ø = průměrné hodnoty

pokud hodnoty neuvedeny struktura není vyvinuta

	N	Celé dorsum	Anteriorní L	Anteriorní P	Mediální	Posteriorní	Anteriorní L (%)	Anteriorní P (%)	Mediální (%)	Posteriorní (%)
1. INSTAR	1	678349	6794	6905	22011	18349	1,00	1,02	3,24	2,71
	2	689879	6835	6743	26096	20086	0,99	0,98	3,78	2,91
	3	722963	7949	7965	26927	20065	1,10	1,10	3,72	2,78
	4	710535	7288	7230	25605	20625	1,03	1,02	3,60	2,90
	5	691191	6790	6865	27416	20267	0,98	0,99	3,97	2,93
	6	691098	7388	7472	27803	20617	1,07	1,08	4,02	2,93
	7	694883	7205	7052	25880	20108	1,04	1,01	3,72	2,89
	8	692610	7033	7127	27114	18212	1,02	1,03	3,91	2,63
	9	711417	6755	6832	25559	19451	0,95	0,96	3,60	2,73
	10	741134	6758	7065	27850	21765	0,91	0,95	3,76	2,93
	Ø	702405,90	7079,50	7125,60	26226,10	19954,50	1,01	1,01	3,73	2,83
2. INSTAR	1	813403	16468	16861	54458	46724	2,02	2,07	6,70	5,74
	2	993054	17962	17677	61140	55498	1,81	1,78	6,16	5,59
	3	901640	16462	16778	59784	53484	1,83	1,86	6,63	5,93
	4	821261	14603	14815	57949	51886	1,78	1,80	7,06	6,31
	5	864887	15413	15097	56865	51641	1,78	1,75	6,57	5,97
	6	871271	15620	14662	58817	51523	1,79	1,68	6,75	5,91
	7	880693	15653	15715	56834	49562	1,78	1,78	6,45	5,63
	8	926413	17991	17064	58822	49418	1,94	1,84	6,35	5,33
	9	816232	13957	13771	58164	52911	1,71	1,69	7,13	6,48
	10	927138	14848	15168	59070	53499	1,60	1,64	6,37	5,77
	Ø	881599,20	15897,70	15760,80	58614,40	51614,60	1,80	1,79	6,62	5,87
3. INSTAR	1	3677346	31062	32188	124273	103380	0,85	0,88	3,38	2,81
	2	3655452	30090	29741	124308	101354	0,82	0,81	3,40	2,77
	3	3603823	30533	30169	123116	102615	0,85	0,84	3,42	2,85
	4	3850520	30423	31001	127937	110714	0,79	0,81	3,32	2,88
	5	4074111	30148	30705	130289	108675	0,74	0,75	3,20	2,66
	6	3296397	30047	30662	121915	99255	0,91	0,93	3,70	3,01
	7	3819840	31728	31380	125253	105410	0,83	0,82	3,28	2,76
	8	3638636	29752	29263	124589	104535	0,82	0,80	3,42	2,87
	9	3449551	30275	29941	120028	99197	0,88	0,87	3,48	2,88
	10	3419356	21046	31606	123548	101540	0,91	0,92	3,61	2,97
	Ø	3648503,20	30510,40	30665,60	124525,60	103667,50	0,84	0,84	3,42	2,85

	N	Celé dorsum	Anteriorní L	Anteriorní P	Mediální	Posteriorsní	Anteriorní L (%)	Anteriorní P (%)	Mediální (%)	Posteriorsní (%)
4. INSTAR	1	8781252	67661	68770	233335	215649	0,77	0,78	2,66	2,46
	2	9902137	72515	72680	234563	218108	0,73	0,73	2,37	2,2
	3	9874748	71120	71345	236181	219269	0,72	0,72	2,39	2,22
	4	8222373	72481	72942	239998	219527	0,88	0,89	2,92	2,67
	5	7984739	68380	71947	237220	218057	0,86	0,90	2,97	2,73
	6	8330079	70039	71820	240824	219501	0,84	0,86	2,89	2,64
	7	9364852	74818	73908	246593	218525	0,8	0,79	2,63	2,33
	8	7304407	66222	69117	245045	217006	0,91	0,95	3,36	2,97
	9	8923337	77890	76260	244650	218143	0,87	0,85	2,74	2,44
	10	8732350	69760	71336	235409	219785	0,80	0,82	2,70	2,52
	Ø	8742027,00	71088,60	72012,50	239381,80	218357,00	0,82	0,83	2,76	2,52
5. INSTAR SAMEC	1	12278674	132778	132285	423962	400455	1,08	1,08	3,45	3,26
	2	12002009	121821	120867	425751	398207	1,01	1,01	3,54	3,31
	3	12849293	134016	133897	419098	389098	1,04	1,04	3,26	3,10
	4	12451388	125933	125279	412997	374035	1,01	1,01	3,32	3,00
	5	12586894	132851	131985	418017	395305	1,06	1,05	3,32	3,14
	6	12606109	129869	130657	415926	389357	1,03	1,04	3,30	3,09
	7	12069664	134583	133142	421057	393454	1,12	1,10	3,49	3,26
	8	12567594	135321	134267	420003	379813	1,08	1,07	3,34	3,02
	9	12169605	129734	131453	417215	396976	1,07	1,08	3,43	3,26
	10	12255224	132012	131193	414675	399451	1,08	1,07	3,38	3,26
	Ø	12385945,00	130891,80	130502,50	418871,10	391615,10	1,06	1,06	3,38	3,17
5. INSTAR SAMICE	1	13852997	138377	139149	476557	380538	1,00	1,00	3,44	1,48
	2	13750357	135069	135487	467833	406622	0,98	0,99	3,40	2,96
	3	13598742	139960	139203	471867	421713	1,03	1,02	3,47	3,10
	4	13876804	139159	139536	469805	389862	1,01	1,01	3,40	2,82
	5	13207265	137971	138012	473212	398815	1,04	1,04	3,58	3,02
	6	13665338	139419	138018	473892	392716	1,02	1,01	3,47	2,87
	7	13527265	138512	139638	468876	390502	1,02	1,03	3,47	2,89
	8	13288052	139392	138836	472319	398772	1,05	1,04	3,55	3,00
	9	14086620	137586	137942	469764	401058	0,98	0,98	3,33	2,85
	10	13651436	139753	138935	470003	396613	1,02	1,02	3,44	2,91
	Ø	13644488,00	138519,80	138475,60	471412,80	397721,10	1,01	1,01	3,46	2,79
IMAGO SAMEC	1	13504331	20267	19964			0,15	0,15		
	2	14159237	18641	18756			0,13	0,13		
	3	13560911	16071	15986			0,12	0,12		
	4	13088614	13858	13659			0,11	0,10		
	5	12407907	14245	14307			0,11	0,12		
	6	13365155	14193	14096			0,11	0,11		
	7	14092282	13456	13512			0,10	0,10		
	8	13670232	14030	13978			0,10	0,10		
	9	14088264	15247	15295			0,11	0,11		
	10	13569821	14985	15039			0,11	0,11		
	Ø	13550675,40	15499,30	15459,20			0,12	0,12		
IMAGO SAMICE	1	16765632	15404	15362			0,09	0,09		
	2	17121471	15160	15238			0,09	0,09		
	3	16715829	14741	14896			0,09	0,09		
	4	17592688	23578	22514			0,13	0,13		
	5	16774059	15752	15645			0,09	0,09		
	6	16489990	16202	16032			0,10	0,10		
	7	16789322	15990	16059			0,10	0,10		
	8	17688083	15662	15764			0,09	0,09		
	9	16766460	16181	16235			0,10	0,10		
	10	16477048	15863	15692			0,10	0,10		
	Ø	16918058,20	16453,30	16343,70			0,10	0,10		