

# Abstrakt

Přežití žížal v prostředí závisí na jejich schopnosti rozpoznat a zlikvidovat potenciální patogeny. V této práci jsme se zaměřili na studium imunity dvou blízce příbuzných druhů žížal *Eisenia andrei* a *Eisenia fetida*, žijících v rozdílném životním prostředí se specifickou mikroflórou. Zatímco *E. andrei* žije v kompostu, *E. fetida* se vyskytuje v lesní hrabance, kde je množství a rozmanitost půdní mikroflóry řádově nižší. Oba druhy lze spolehlivě odlišit s použitím druhově specifických primerů pro gen kódující cytochrom c oxidázu I (COI) při dodržení přísných podmínek PCR.

Po vzájemné zkřížené mikrobiální stimulaci jsme nepozorovali velké rozdíly v aktivitě a ani v expresi genů kódujících CCF a lysozym. Hemolytická aktivita fetidinu/lyseninu však byla výrazně vyšší u *E. andrei* než u *E. fetida*. Genomová analýza DNA také prokázala výrazně vyšší hodnotu v počtu kopií fetidinu/lyseninu v genomu *E. andrei* ve srovnání s *E. fetida*, což naznačuje hypotetickou genovou duplicitu.

Žížaly žijí v neustálém úzkém kontaktu s mikrobiálním prostředím. Coelomová tekutina, stejně jako střevo žížaly *E. andrei* obsahuje mikroorganismy, jejichž množství se však liší. Počet bakterií ve střevě je více než šestkrát vyšší než v coelomové tekutině. Stimulace mikroorganismy *E. coli* O55, *B. subtilis* W23 nebo *S. cerevisiae* S288, vedla k zvýšení jejich počtu jak v coelomové dutině tak ve střevě. Po mikrobiální stimulaci byly pomocí kvantitativní PCR pozorovány také rozdíly v expresi obranných molekul CCF, *EaTLR*, *EaLBP/BPI* a antimikrobiálních molekul lysozymu a fetidinu/lyseninu v coelomocytech a ve střevě. Na buněčné úrovni byla imunitní reakce studována pomocí exprese genů kódujících CCF a *EaLBP/BPI* metodou *in situ* hybridizace. Střevní tkáň nevykazuje po mikrobiální stimulaci velké rozdíly v expresi molekul CCF a *EaLBP/BPI*, neboť tyto molekuly jsou konstitutivně exprimovány epitelem střeva jako obranná reakce na trvalé mikrobiální zatížení. Tato obrana je také podporována vysokým počtem a variabilitou *EaTLR* ve střevě a také zvýšenou aktivitou střevních enzymů proteáz, laminarináz a glukosaminidáz. Tyto enzymy slouží také k uvolnění skrytých molekulárních vzorů ostatním imunologicky významným molekulám rozpoznávajícím vzory.

Buněčná imunitní odpověď v coelomové dutině je zprostředkována coelomocyty uvolněnými z výstelky mezenchymu. Coelomocyty reagují na přítomnost bakterií zvýšením hladiny mRNA zejména pro CCF, *EaLBP/BPI*, *EaTLR* a také pro ferritin,

molekulu hrající roli v metabolismu železa. *EaLBP/BPI* jako jedna z LPS-vázajících molekul je konstitutivně exprimována v seminálních váčcích i v coelomocytech.

Přítomnost dioxinů v prostředí způsobuje poškození střevní stěny žízála a přilehlé chloragogenní tkáň. Kromě toho jejich přítomnost také způsobuje zvýšenou expresi genů pro molekuly oxidačního stresu, kalretikulinu (CRT) a Hsp70 a také obranné molekuly CCF. Zvýšená exprese genu CCF však není způsobena přítomností dioxinu samotného, ale jeho účinkem na změny v mikrobiální biomase.

Tyto výsledky naznačují možnost využití imunitních molekul při studiu půdní kontaminace, nicméně při vyhodnocování výsledků je třeba také zohlednit účinky mikroflóry.