

# Analýza chlupů zvířat pomocí digitální mikroskopie

---

Bc. Jan Masný

Diplomová práce | 2026

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta aplikované informatiky

---





Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta aplikované informatiky  
Ústav elektroniky a měření

Akademický rok: 2025/2026

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Bc. Jan Masný  
Osobní číslo: A24715  
Studijní program: N1032A020003 Bezpečnostní technologie, systémy a management  
Specializace: Bezpečnostní technologie  
Forma studia: Prezenční  
Téma práce: Analýza chlupů zvířat pomocí digitální mikroskopie  
Téma práce anglicky: Analysis of Animal Hair Using Digital Microscopy

### Zásady pro vypracování

- Zpracujte literární rešerši zaměřenou na metody analýzy chlupů zvířat s důrazem na mikroskopické techniky.
- Popište principy digitální mikroskopie.
- Seznamte se s digitálním mikroskopem v Laboratoři forezních věd.
- Průběžně odebírejte a dokumentujte vzorky chlupů od různých druhů zvířat a zajistěte jejich vhodné označení a uchování.
- Pomocí digitální mikroskopie vzorky analyzujte a popište jejich markanty.
- Vytvořte digitální atlas analyzovaných vzorků a návrh postupu pro jejich rychlou analýzu pomocí digitální mikroskopie.

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

**Seznam doporučené literatury:**

1. WHEELER, Barbara. *Practical forensic microscopy: a laboratory manual*. Chichester, England: John Wiley, c2008. ISBN 9780470031766.
2. SIEGEL, Jay A.; SAUKKO, Pekka a HOUCK, Max M. (ed.). *Encyclopedia of forensic sciences*. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier/Academic Press, c2013. ISBN 9780123821652.
3. HOUCK, Max M. a SIEGEL, Jay A. *Fundamentals of forensic science*. 3rd ed. Amsterdam: Elsevier/Academic Press, c2015. ISBN 978-0-12-800037-3.
4. STRAUS, Jiří a PETŘÍKOVÁ, Tamara. Forenzní zkoumání zvířecích chlupů a kůže. Online. *Policajná teória a prax*. 2021, roč. 29, č. 2, s. 61-77. ISSN 1335-1370. Dostupné z: [https://www.akademiapz.sk/sites/default/files/PTP/2-2021/005%20%20STRAUS%2C%20PETRIKOVA%20%20Forenzni%20zkoumani%20zviricich%20chlupu-%20upraven%C3%BD\\_EDITED.pdf](https://www.akademiapz.sk/sites/default/files/PTP/2-2021/005%20%20STRAUS%2C%20PETRIKOVA%20%20Forenzni%20zkoumani%20zviricich%20chlupu-%20upraven%C3%BD_EDITED.pdf). [cit. 2025-10-23].
5. PIKHTIROVA, A. V.; IVCHENKO, V. D. a SHKROMADA, O. I. Characteristics of the microscopic hair structure of domestic mammals from Equidae family. Online. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*. 2019, roč. 2, č. 2, s. 31-36. ISSN 2617-6149. Dostupné z: <https://doi.org/10.32718/ujvas2-2.07>. [cit. 2025-10-23].

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Michaela Mikuličová, Ph.D.**  
Ústav elektroniky a měření

Konzultant diplomové práce: **Ing. Michal Indra**  
Ústav elektroniky a měření

Datum zadání diplomové práce: **26. listopadu 2025**

Termín odevzdání diplomové práce: **18. května 2026**

**doc. Ing. Jiří Vojtěšek, Ph.D. v.r.**  
děkan



**doc. Ing. Milan Navrátil, Ph.D. v.r.**  
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 26. listopadu 2025



## Prohlášení autora závěrečné kvalifikační práce

### Beru na vědomí, že

- odevzdáním závěrečné práce souhlasím se zpřístupněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb., v platném znění bez ohledu na výsledek obhajoby;
- závěrečná práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému;
- jedno vyhotovení závěrečné práce v listinné podobě bude ponecháno Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně k uložení;
- na moji závěrečnou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – závěrečnou práci – nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování závěrečné práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky závěrečné práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem závěrečné práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá; neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

•

### Prohlašuji, že

- jsem na závěrečné práci pracoval(a) samostatně a použitou literaturu jsem řádně citoval(a); v případě publikace výsledků budu uveden(a) jako spoluautor;
- odevzdaná verze závěrečné práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.
- Prohlašuji, že při tvorbě této práce jsem použil nástroj generativního modelu AI ChatGPT (<https://chat.openai.com>) za účelem kontroly gramatiky, stylistiky a formulace vět. Po použití tohoto nástroje jsem provedl kontrolu obsahu a přebírám za něj plnou zodpovědnost.

Ve Zlíně, dne .....

.....

podpis autora



## **Abstrakt**

Diplomová práce se zabývá morfologickou analýzou chlupů koně, králíka, psa a kočky pomocí digitální mikroskopie. Cílem bylo posoudit využitelnost identifikačních znaků a sestavit praktický srovnávací atlas. Pro druhovou identifikaci byl na základě výsledků zvolen typ meduly a kutikuly. Výstupem práce je digitální atlas a databáze snímků umožňující efektivní porovnávání vzorků.

### **Klíčová slova**

Digitální mikroskopie, morfologie chlupů, medula, kutikula

## **Abstract**

This thesis examines the morphological analysis of horse, rabbit, dog and cat hair using digital microscopy. The aim was to assess the usefulness of identifying characteristics and to compile a practical comparative atlas. Based on the results, the type of medulla and cuticle was selected for species identification. The output of the thesis is a digital atlas and a database of images that enable effective comparison of samples.

### **Keywords**

Digital microscopy, hair morphology, medulla, cuticle



Rád bych poděkoval vedoucí diplomové práce Ing. Michaele Mikuličové, Ph.D. za odborné vedení, ochotu a cenné připomínky při zpracovávání této práce. Poděkování patří také konzultantovi Ing. Michalu Indrovi za pomoc a odborné rady během praktické části práce.



# Obsah

<b>Seznam obrázků</b> .....	<b>17</b>
<b>Seznam použitých symbolů a zkratek</b> .....	<b>19</b>
<b>Seznam příloh</b> .....	<b>20</b>
<b>Úvod</b> .....	<b>21</b>
<b>1 Funkce, stavba a vlastnosti zvířecích chlupů</b> .....	<b>22</b>
1.1 Funkce ochlupení u zvířat.....	22
1.1.1 Termoregulační funkce .....	22
1.1.2 Ochranná funkce .....	23
1.1.3 Senzorická funkce.....	23
1.2 Stavba chlupu zvířat.....	23
1.2.1 Kutikula chlupu .....	24
1.2.2 Kortex chlupu .....	25
1.2.3 Medula chlupu .....	25
1.3 Anatomie dermální části chlupu .....	26
1.4 Růstový cyklus chlupu.....	26
1.4.1 Anagenní fáze .....	27
1.4.2 Katagenní fáze .....	27
1.4.3 Telogenní fáze.....	27
1.5 Morfologické typy chlupů .....	28
1.5.1 Krycí chlupy .....	28
1.5.2 Chlupy podsady .....	28
1.5.3 Specializované chlupy .....	28
<b>2 Analýza chlupů zvířat ve forenzní a laboratorní praxi</b> .....	<b>29</b>
2.1 Forenzní analýza chlupů .....	29
2.2 Sběr, zajištění a uchování chlupů.....	29
2.2.1 Odběr vzorků .....	30
2.2.2 Označování vzorků .....	30
2.2.3 Uchování a skladování vzorků.....	30
2.3 Metody zkoumání chlupů .....	30

2.3.1	Makroskopické metody.....	30
2.3.2	Mikroskopické metody .....	31
2.4	Digitální mikroskopie při analýze chlupů.....	32
2.4.1	Princip digitální mikroskopie.....	32
2.4.2	Optické vlastnosti.....	32
2.4.3	Barevné zobrazení a HDR technologie.....	32
2.4.4	Hloubkové skládání obrazu.....	33
2.4.5	Osvětlení .....	33
<b>3</b>	<b>Současný stav zkoumané problematiky .....</b>	<b>34</b>
<b>4</b>	<b>Cíle práce a výzkumné otázky .....</b>	<b>36</b>
<b>5</b>	<b>Metodika práce.....</b>	<b>37</b>
5.1	Výběr zvířat a odběr vzorků.....	37
5.2	Označení a uchování vzorků .....	37
5.3	Použité přístroje a software.....	40
5.3.1	Digitální mikroskop .....	40
5.3.2	Rastrovací elektronový mikroskop .....	42
5.3.3	Laserový skenovací mikroskop.....	44
5.4	Postup analýzy pomocí digitálního mikroskopu.....	44
5.4.1	Analýza povrchu chlupu .....	45
5.4.2	Analýza průřezu chlupu a morfometrie .....	46
5.4.3	Analýza meduly .....	47
5.4.4	Analýza barvy .....	48
5.5	Hodnocené morfologické znaky chlupů .....	48
<b>6</b>	<b>Výsledky analýzy zvířecích chlupů pomocí digitální mikroskopie.....</b>	<b>50</b>
6.1	Struktura kutikuly .....	50
6.1.1	Porovnání zobrazovacích režimů .....	50
6.1.2	Struktura kutikuly koňského chlupů .....	52
6.1.3	Struktura kutikuly králíčích chlupů.....	54
6.1.4	Struktura kutikuly psích chlupů .....	57
6.1.5	Struktura kutikuly kočičích chlupů .....	59
6.1.6	Porovnání kutikulárních struktur jednotlivých druhů .....	61

6.2	Analýza průřezu chlupů .....	61
6.2.1	Průřez koňského chlupu.....	61
6.2.2	Průřez králičího chlupu.....	62
6.2.3	Průřez psího chlupu .....	63
6.2.4	Průřez kočičího chlupu .....	64
6.2.5	Porovnání průřezů.....	64
6.3	Medula chlupů .....	64
6.3.1	Medula koňských chlupů.....	65
6.3.2	Medula králičích chlupů .....	67
6.3.3	Medula psích chlupů.....	68
6.3.4	Medula kočičích chlupů.....	70
6.3.5	Porovnání meduly jednotlivých druhů.....	72
6.4	Barva chlupů.....	73
6.5	Návrh postupu pro rychlou analýzu chlupů pomocí digitální mikroskopie.....	75
<b>7</b>	<b>Výsledky analýzy referenčních vzorků pomocí rastrovací elektronové mikroskopie .....</b>	<b>76</b>
7.1	Pozorování kutikuly koňského chlupu pomocí SEM .....	76
7.2	Pozorování kutikuly králičího chlupu pomocí SEM.....	76
7.3	Pozorování kutikuly psího chlupu pomocí SEM .....	77
7.4	Pozorování kutikuly kočičího chlupu pomocí SEM.....	78
7.5	Výsledky analýzy referenčních vzorků pomocí SEM .....	78
<b>8</b>	<b>Výsledky analýzy referenčních vzorků pomocí laserového skenovacího mikroskopu.....</b>	<b>79</b>
8.1	Pozorování kutikuly koňského chlupu pomocí laserového mikroskopu .....	79
8.2	Pozorování kutikuly králičího chlupu pomocí laserového mikroskopu .....	79
8.3	Pozorování kutikuly psího chlupu pomocí laserového mikroskopu.....	80
8.4	Pozorování kutikuly kočičího chlupu pomocí laserového mikroskopu.....	81
8.5	Výsledky analýzy referenčních vzorků pomocí laserového mikroskopu .....	81
<b>9</b>	<b>Výsledky analýzy referenčních vzorků lidských vlasů .....</b>	<b>82</b>
9.1	Pozorování kutikuly lidského vlasu.....	82
9.2	Pozorování meduly lidského vlasu .....	83
9.3	Porovnání lidského vlasu s chlupy zvířat .....	84

<b>Závěr .....</b>	<b>85</b>
<b>Seznam použité literatury .....</b>	<b>87</b>

## Seznam obrázků

Obr. 1: Rozdíl mezi letní a zimní srstí [6].....	23
Obr. 2: Schématické znázornění stavby chlupu [3] .....	24
Obr. 3: Typy šupinových vzorů kutikuly chlupu: (a) nepravidelně vlnitý typ, (b) pruhovaný typ, (c) mozaikový typ, (d) úzký kosočtverečný typ, (e) široký okvětní typ, (f) protáhlý okvětní typ [10].....	25
Obr. 4: Druhy meduly [12] .....	26
Obr. 5: Schéma růstového cyklu chlupu [14] .....	27
Obr. 6: Připravené označené sáčky pro odběr vzorků [zdroj: vlastní].....	38
Obr. 7: Ukázka fixace vzorků na černém podkladu [zdroj: vlastní] .....	39
Obr. 8: Fixace chlupů na želatinové hmotě [zdroj: vlastní].....	39
Obr. 9: Softwarové prostředí a ovládací panel mikroskopu [zdroj: vlastní].....	41
Obr. 10: Mikroskop s nasazeným objektivem VH-Z100UT [zdroj: vlastní].....	41
Obr. 11: Mikroskop s nasazeným objektivem VH-Z20T [zdroj: vlastní] .....	42
obr. 12: Rastrový elektronový mikroskop [zdroj: vlastní].....	42
obr. 13: Upevnění vzorků na nosiče (stubs) [zdroj: vlastní] .....	43
obr. 14: Naprašovačka pro pokovení vzorků Quorum Q150R ES [zdroj: vlastní].....	43
obr. 15: Laserový mikroskop Keyence VK-X1000 [zdroj: vlastní].....	44
Obr. 16: Količky pro uchycení chlupů při měření průřezu [zdroj: vlastní] .....	46
Obr. 17: Ukázka měření průřezu chlupů [zdroj: vlastní] .....	47
Obr. 18: Úprava vzorků pomocí peroxidu [zdroj: vlastní].....	48
Obr. 19: Struktura kutikuly ve standardním režimu zobrazení [zdroj: vlastní] .....	51
Obr. 20: Struktura kutikuly v režimu odstranění odlesků [zdroj: vlastní] .....	51
Obr. 21: Struktura kutikuly chlupu v režimu HDR [zdroj: vlastní] .....	52
Obr. 22: Struktura kutikuly koňského chlupu (vzorek č. 2, břicho) [zdroj: vlastní].....	52
Obr. 23: Struktura kutikuly koňského chlupu (vzorek č. 2, záda) [zdroj: vlastní].....	53
Obr. 24: Struktura kutikuly koňského chlupu (vzorek č. 2, přední noha) [zdroj: vlastní]...53	
Obr. 25: Struktura kutikuly koňského chlupu (vzorek č. 2, zadní noha) [zdroj: vlastní] ....	54
Obr. 26: Struktura kutikuly králíčího chlupu (vzorek č. 10, břicho) [zdroj: vlastní].....	55
Obr. 27: Struktura kutikuly králíčího chlupu (vzorek č. 10, záda) [zdroj: vlastní].....	55
Obr. 28: Struktura kutikuly králíčího chlupu (vzorek č. 10, přední noha) [zdroj: vlastní] ..	56
Obr. 29: Struktura kutikuly králíčího chlupu (vzorek č. 10, zadní noha) [zdroj: vlastní]....	56
Obr. 30: Struktura kutikuly psího chlupu (vzorek č. 14, břicho) [zdroj: vlastní] .....	57
Obr. 31: Struktura kutikuly psího chlupu (vzorek č. 14, záda) [zdroj: vlastní] .....	57
Obr. 32: Struktura kutikuly psího chlupu (vzorek č. 14, přední noha) [zdroj: vlastní].....	58
Obr. 33: Struktura kutikuly psího chlupu (vzorek č. 14, zadní noha) [zdroj: vlastní] .....	58
Obr. 34: Struktura kutikuly kočičího chlupu (vzorek č. 17, břicho) [zdroj: vlastní] .....	59
Obr. 35: Struktura kutikuly kočičího chlupu (vzorek č. 17, záda) [zdroj: vlastní] .....	59
Obr. 36: Struktura kutikuly kočičího chlupu (vzorek č. 17, přední noha) [zdroj: vlastní] ..	60
Obr. 37: Struktura kutikuly kočičího chlupu (vzorek č. 17, zadní noha) [zdroj: vlastní]....	60
Obr. 38: Průřez koňského chlupu ze zad [zdroj: vlastní].....	62
Obr. 39: Průřez králíčího chlupu z břicha [zdroj: vlastní] .....	62

Obr. 40: Průřez králíčího chlupu 2 ze zad [zdroj: vlastní] .....	63
Obr. 41: Průřez psího chlupu z břicha [zdroj: vlastní] .....	63
Obr. 42: Průřez kočičího chlupu ze zad [zdroj: vlastní] .....	64
Obr. 43: Struktura meduly koňského chlupu (vzorek č. 2, břicho) [zdroj: vlastní] .....	65
Obr. 44: Struktura meduly koňského chlupu (vzorek č. 2, záda) [zdroj: vlastní] .....	65
Obr. 45: Struktura meduly koňského chlupu (vzorek č. 2, přední noha) [zdroj: vlastní] ....	66
Obr. 46: Struktura meduly koňského chlupu (vzorek č. 2, zadní noha) [zdroj: vlastní] .....	66
Obr. 47: Struktura meduly králíčího chlupu (vzorek č. 7, břicho) [zdroj: vlastní] .....	67
Obr. 48: Struktura meduly králíčího chlupu (vzorek č. 7, záda) [zdroj: vlastní] .....	67
Obr. 49: Struktura meduly králíčího chlupu (vzorek č. 7, přední noha) [zdroj: vlastní] .....	68
Obr. 50: Struktura meduly králíčího chlupu (vzorek č. 7, zadní noha) [zdroj: vlastní] .....	68
Obr. 51: Struktura meduly psího chlupu (vzorek č. 14, břicho) [zdroj: vlastní] .....	69
Obr. 52: Struktura meduly psího chlupu (vzorek č. 14, záda) [zdroj: vlastní] .....	69
Obr. 53: Struktura meduly psího chlupu (vzorek č. 14, přední noha) [zdroj: vlastní] .....	70
Obr. 54: Struktura meduly psího chlupu (vzorek č. 14, zadní noha) [zdroj: vlastní] .....	70
Obr. 55: Struktura meduly kočičího chlupu (vzorek č. 19, břicho) [zdroj: vlastní] .....	71
Obr. 56: Struktura meduly kočičího chlupu (vzorek č. 19, záda) [zdroj: vlastní] .....	71
Obr. 57: Struktura meduly kočičího chlupu (vzorek č. 19, přední noha) [zdroj: vlastní] ....	72
Obr. 58: Struktura meduly kočičího chlupu (vzorek č. 19, zadní noha) [zdroj: vlastní] .....	72
Obr. 59: Tmavý chlup (pes, záda) [zdroj: vlastní] .....	73
Obr. 60: Světlý chlup (pes, přední noha) [zdroj: vlastní] .....	74
Obr. 61: Hnědý chlup (kůň, přední noha) [zdroj: vlastní] .....	74
Obr. 62: Porovnání barev (chlup psa – vlevo nahoře, chlup koně – vlevo dole, chlup kočky – vpravo nahoře, chlup – koně vpravo dole) [zdroj: vlastní] .....	75
Obr. 63: Struktura kutikuly koňského chlupu – SEM [zdroj: vlastní] .....	76
Obr. 64: Struktura kutikuly králíčího chlupu – SEM [zdroj: vlastní] .....	77
Obr. 65: Struktura kutikuly psího chlupu – SEM [zdroj: vlastní] .....	77
Obr. 66: Struktura kutikuly kočičího chlupu – SEM [zdroj: vlastní] .....	78
Obr. 67: Struktura kutikuly koňského chlupu – laserový mikroskop [zdroj: vlastní] .....	79
Obr. 68: Struktura kutikuly králíčího chlupu – laserový mikroskop [zdroj: vlastní] .....	80
Obr. 69: Struktura kutikuly psího chlupu – laserový mikroskop [zdroj: vlastní] .....	80
Obr. 70: Struktura kutikuly kočičího chlupu – laserový mikroskop [zdroj: vlastní] .....	81
Obr. 71: Struktura kutikuly světlého lidského vlasu [zdroj: vlastní] .....	82
Obr. 72: Struktura kutikuly hnědého lidského vlasu [zdroj: vlastní] .....	83
Obr. 73: Medula světlého lidského vlasu [zdroj: vlastní] .....	83
Obr. 74: Medula hnědého lidského vlasu [zdroj: vlastní] .....	84

## Seznam použitých symbolů a zkratek

CCD	Charge-Coupled Device (snímač s nábojovou vazbou)
CMOS	Complementary Metal.Oxide-Semiconductor (polovodičový obrazový snímač)
DNA	Deoxyribonucleic Acid (deoxyribonukleová kyselina)
EHT	Electron High Tension (urychlovací napětí elektronového mikroskopu)
HDR	High Dynamic Range (vysoký dynamický rozsah)
RGB	Red, Green, Blue (barevný model – červená, zelená, modrá)
SEM	Scanning Electron Microscopy (rastrovací elektronová mikroskopie)
UV	ultrafialové záření

## Seznam příloh

Příloha A: Digitální atlas zkoumaných vzorků	Atlas.pdf
Příloha B: Kompletní databáze mikroskopických snímků a naměřených hodnot Dp-masny	
Příloha C: Checklist	Checklist.pdf

## Úvod

Mikroskopická analýza biologických stop dnes hraje zásadní roli, a to nejen ve forenzních vědách, ale i v kriminalistice. Zvířecí srst a chlupy totiž představují jeden z vůbec nejčastějších typů stop, se kterými se odborníci v praxi setkávají. Schopnost přesně identifikovat původ těchto stop může poskytnout důležité informace. Často může potvrdit přítomnost konkrétního druhu zvířete na místě činu nebo chlupy přenesené z pachatele. Může ale také usnadnit vyšetřování nelegálního obchodu se zvířaty či pytláctví.

Tradiční metody zkoumání morfologických znaků chlupů sice nabízejí vysokou úroveň detailu, mají však své limity. Klasickým příkladem je rastrovací elektronová mikroskopie. Poskytuje sice vysoké rozlišení, ale z hlediska financí, času i technického vybavení je pro rutinní praxi obtížně použitelná. S rychlým technologickým postupem se tak do popředí dostává digitální mikroskopie. Ta představuje mnohem dostupnější a uživatelsky přívětivou variantu pro detailní výzkum tohoto typu. Moderní digitální mikroskopy navíc nabízejí pokročilé funkce. Patří mezi ně například režim HDR nebo různé možnosti osvětlení. Díky digitální mikroskopii se otvírají zcela nové možnosti pro rychlou laboratorní analýzu a tvorbu přehledné dokumentace.

Diplomová práce se proto zaměřuje na praktické využití digitální mikroskopie pro analýzu chlupů zvířat. Hlavním cílem je zdokumentovat klíčové morfologické znaky u vybraných druhů zvířat. Konkrétně jde o chlupy koně, králíka, psa a kočky. Chlupy byly odebírány vždy ze čtyř částí těla každého jedince. Tím je zohledněna i přirozená variabilita mezi chlupy jednoho jedince. Hlavním výstupem této analýzy je vytvoření přehledného digitálního atlasu zkoumaných vzorků. Ten může v budoucnu dobře posloužit jako praktická pomůcka pro orientační druhovou identifikaci.

Teoretická východiska nejprve shrnují poznatky o biologické stavbě a růstu chlupů, detailněji popisují jejich jednotlivé morfologické znaky a představují mikroskopické metody využívané ke zkoumání chlupů. Praktická část se věnuje samotné analýze připravených vzorků. Popisuje metodiku přípravy vzorků, proces snímání pomocí digitálního mikroskopu a vyhodnocení získaných dat. Pro ověření spolehlivosti digitální mikroskopie jsou výsledky podpořeny referenčním měřením na rastrovém elektronovém a laserovém skenovacím mikroskopu. Nechybí ani srovnání s lidským vlasem. Získané snímky tak poskytují ucelený pohled na to, jak může digitální mikroskopie obstát jako nástroj při zkoumání zvířecích chlupů.

# 1 Funkce, stavba a vlastnosti zvířecích chlupů

Zvířecí chlupy jsou považovány za významný biologický materiál, jímž je v organismu savců zajišťována řada podstatných funkcí. Jejich struktura i vlastnosti jsou formovány dlouhodobou adaptací na životní prostředí daného druhu a jeho fyziologické potřeby. Je proto kladen důraz nejen na funkční význam ochlupení, ale též na jeho morfologické znaky, jichž je využíváno při laboratorních a forenzních analýzách [1;2]. Mezi jednotlivými živočišnými druhy jsou ve funkci ochlupení shledávány značné odlišnosti, které jsou zrcadleny v rozdílné struktuře, hustotě i typu srsti. Tyto variace jsou podmiňovány prostředím, jež je daným druhem obýváno, stejně jako jeho velikostí a nároky na termoregulaci. Pro mikroskopickou analýzu je pak klíčové, že funkční specifika jsou vepsána do morfologických znaků, čehož je možno využít při laboratorním srovnávání [1;3].

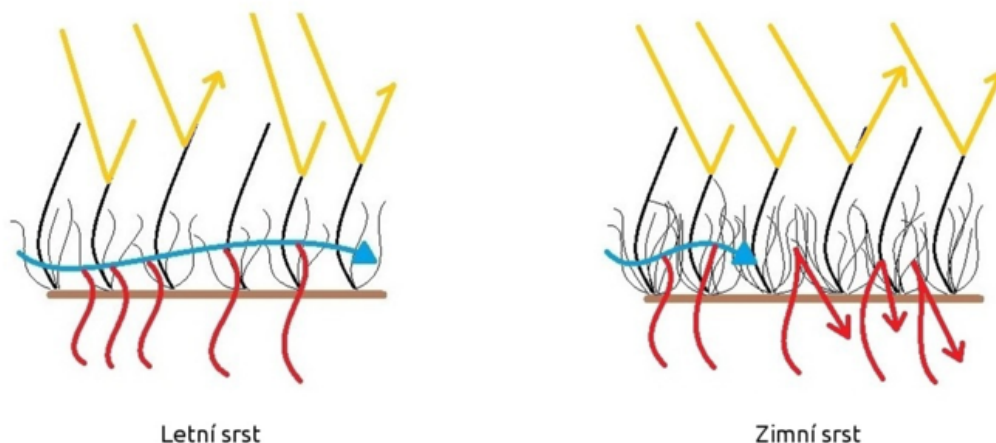
## 1.1 Funkce ochlupení u zvířat

Ochlupení je u savců vnímáno jako nedílná součást tělesného obalu, je ním zajišťována ochrana organismu a udržována fyziologická rovnováha. Konkrétní funkce ochlupení se liší druhovou příslušností, prostředím i způsobem života daného jedince. Za hlavní funkce ochlupení jsou považovány především funkce termoregulační, ochranné a senzorické, přičemž mezidruhové odlišnosti jsou odraženy v morfologických vlastnostech srsti [1;3].

### 1.1.1 Termoregulační funkce

Za jednu z nejvýznamnějších rolí ochlupení je považována termoregulace, díky níž je udržována stabilní tělesná teplota zvířete. Schopnost zadržování nebo naopak odvádění tepla je přímo ovlivněna hustotou, délkou a strukturou chlupů. V chladném prostředí je srst využívána jako izolační vrstva omezující tepelné ztráty, zatímco v teplejším prostředí je její izolační funkce uplatňována před nadměrným přehříváním. V návaznosti na klimatické vlivy jsou pak u mnoha druhů zvířat pozorovány sezónní změny srsti, které se projevují zejména změnou hustoty podsady a celkové struktury srsti v průběhu roku (viz obr. 1) [4;5].

Jak je patrné z obr. 1, zimní srst se vyznačuje vyšší hustotou podsady, což vytváří silnější izolační vrstvu a omezuje tepelné ztráty z povrchu těla. Letní srst je naopak řidší a umožňuje efektivnější odvod přebytečného tepla do okolního prostředí. Rozdílná struktura srsti tak představuje významný adaptační mechanismus savců na změny teplotních podmínek [4;5].



Obr. 1: Rozdíl mezi letní a zimní srstí [6]

### 1.1.2 Ochranná funkce

Ochranná funkce ochlupení je realizována vytvořením mechanické bariéry mezi povrchem těla a vnějším prostředím. Kůže je díky tomu chráněna před mechanickým poškozením, UV zářením i usazováním nečistot. U některých živočišných druhů je tento ochranný efekt dále umocněn specifickou strukturou chlupů, jako je například jejich zvýšená tvrdost, délka či hustota [3].

### 1.1.3 Senzorická funkce

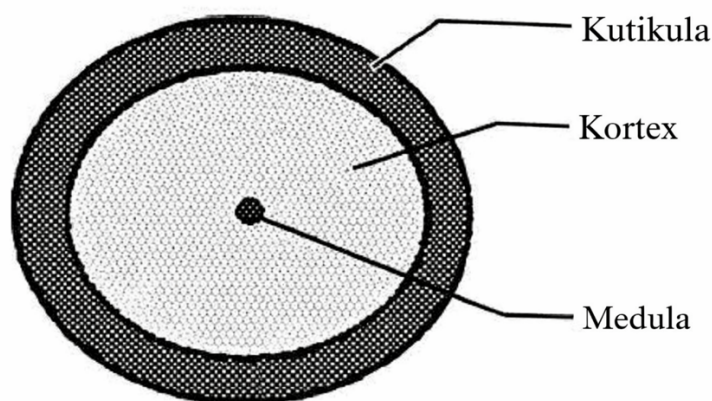
Ochlupením je zprostředkována rovněž sensorická funkce, realizovaná zejména prostřednictvím specializovaných hmatových chloupků, takzvaných vibrisů. Tyto struktury jsou bohatě inervovány, čímž je umožněna detekce mechanických podnětů, proudění vzduchu či blízkost překážek. Tato schopnost je sledována klíčovou především u živočichů, kteří jsou aktivní v noci nebo v prostředí se sníženou viditelností [2].

## 1.2 Stavba chlupu zvířat

Zvířecí chlup je klasifikován jako specializovaný pokožkový útvar, formovaný procesem keratinizace buněk pokožky. Ačkoliv je základní stavba chlupu u savců shledávána obecně analogickou, jsou mezi jednotlivými druhy evidovány odchylky v morfologii, tloušťce i vnitřní architektuře. Těmto rozdílům je přikládán značný význam zejména v mikroskopické a forenzní analýze, neboť je na jejich základě umožněno spolehlivé rozlišení vzorků pocházejících od odlišných živočišných druhů [1;2].

Z morfologického hlediska je stavba chlupu definována třemi základními vrstvami: kutikulou, kortexem a medulou (obr. 2). Tyto části jsou vzájemně odlišovány na základě rozdílné struktury, složení i funkčního významu. Základní stavba zvířecího chlupu je v mnoha ohledech srovnatelná se strukturou lidského vlasu. Podstatné odlišnosti jsou však pozorovány zejména v přítomnosti, tvaru a kontinuitě meduly, která je u zvířecích vzorků zpravidla

výraznější. Tyto rozdíly jsou důležité při srovnávací analýze biologických stop, neboť je na jejich základě umožněno odlišení lidského vlasu a zvířecího chlupu [1;2]. Z hlediska další analýzy je stavba chlupu zvířat zásadní především proto, že jednotlivé strukturální znaky jsou dobře pozorovatelné pomocí digitální mikroskopie [3;7].



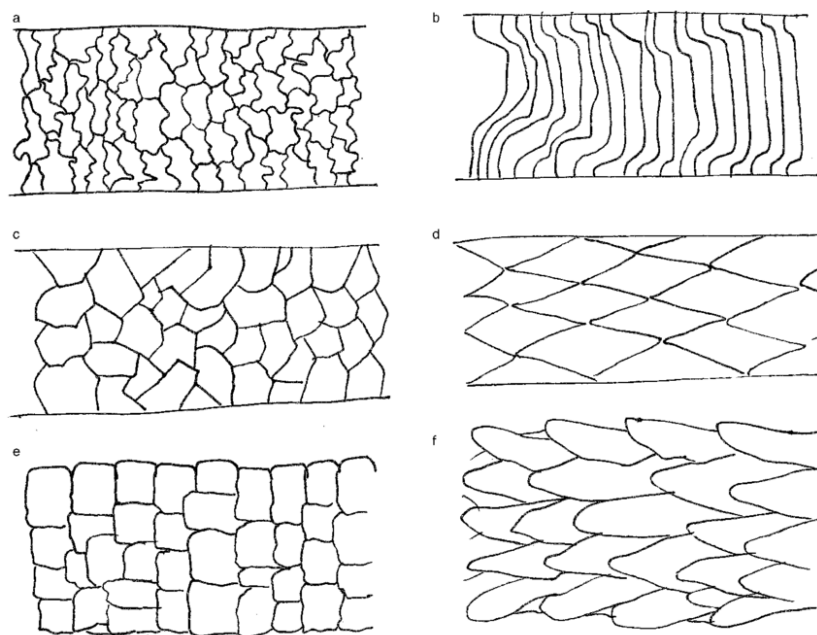
Obr. 2: Schématické znázornění stavby chlupu [3]

### 1.2.1 Kutikula chlupu

Kutikula tvoří vnější vrstvu chlupu a představuje jeho ochranný obal (obr. 2). Kutikula je složena z plochých, šupinově uspořádaných buněk, které se vzájemně překrývají. Tvar, velikost a způsob uspořádání šupin se mohou výrazně lišit mezi jednotlivými druhy zvířat, což zároveň představuje významný identifikační znak využívaný při mikroskopické analýze [3;8].

Struktura kutikuly je dobře pozorovatelná pomocí digitální mikroskopie, přičemž jsou hodnoceny zejména znaky povrchu chlupu, jako je typ okrajů šupin a jejich pravidelnost. Tyto znaky bývají relativně stabilní a mohou vykazovat druhovou specifitu, což zvyšuje jejich význam při srovnávací analýze chlupů [9].

Různé způsoby uspořádání šupin kutikuly vytvářejí charakteristické vzory, které lze při mikroskopickém pozorování rozlišit (viz obr. 3). Rozdíly mezi jednotlivými typy spočívají zejména ve tvaru šupin, jejich velikosti a způsobu překrývání. Tyto morfologické znaky mohou napomoci k druhovému určení chlupů nebo k rozlišení různých typů chlupů téhož zvířete [3;9].



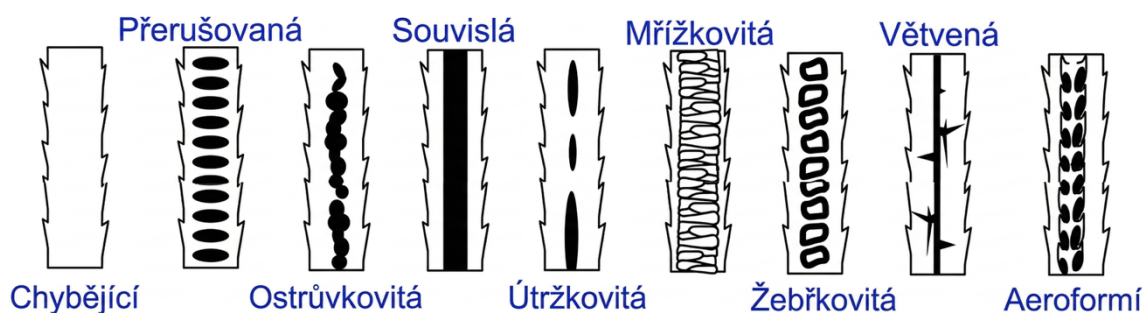
Obr. 3: Typy šupinových vzorů kutikuly chlupu: (a) nepravidelně vlnitý typ, (b) pruhovaný typ, (c) mozaikový typ, (d) úzký kosočtverečný typ, (e) široký okvětní typ, (f) protáhlý okvětní typ [10]

### 1.2.2 Kortex chlupu

Kortex chlupu je označován za hlavní objemovou složku chlupu a nachází se pod vrstvou kutikuly, jak je vidět na obr. 2. Tato vrstva je formována keratinizovanými buňkami s obsahem pigmentových zrn, jimiž je determinováno výsledné zbarvení chlupu. V rámci pigmentace jsou přímo pozorovány variace nejen mezi odlišnými druhy, ale i v rámci jednoho chlupu [11].

### 1.2.3 Medula chlupu

Medula chlupu tvoří centrální část vlasového stvolu, což je patrné i na obr. 2. Medula je na základě své celistvosti klasifikována jako kontinuální, fragmentová, přerušovaná nebo zcela chybějící (viz obr. 3). V přítomnosti či absenci meduly a jejím tvaru a kontinuitě jsou mezi jednotlivými živočišnými druhy výrazné odlišnosti. Zatímco u zvířecí srsti je tato vnitřní struktura zpravidla silně vyvinutá, v případě lidského vlasu je často fragmentovaná či zcela chybí. Medula vykazuje ze všech tří vrstev chlupu nejvyšší míru variability, a to jak mezi jednotlivými druhy, tak i mezi různými typy chlupů u stejného jedince [3;8].



Obr. 4: Druhy meduly [12]

### 1.3 Anatomie dermální části chlupu

Jako dermální část chlupu je definován úsek chlupu ukotvený v kůži, v němž jsou soustředěny struktury nezbytné pro růst, výživu a celkovou fixaci. Jelikož jsou však vzorky nejčastěji zajišťovány bez kořenné zóny, není tato oblast při běžném laboratorním a forezním zkoumání zpravidla k dispozici. I přesto je popis dermální části chlupu v odborných pracích uváděn, neboť skrze ni je dokreslován kontext potřebný pro pochopení vzniku a vývoje celého chlupu [1;13].

Dermální část chlupu je tvořena především vlasovým folikulem, jenž je charakterizován jako zanoření pokožky do hlubších vrstev kůže. Ve spodním úseku folikulu je vlasová cibulka, v níž probíhá intenzivní buněčné dělení spolu s keratinizací. Do této oblasti je zahrnována také dermální papila, jejímž prostřednictvím je cestou krevního zásobení zajišťován přívod živin a kyslíku [1;13].

Z hlediska forezní a laboratorní analýzy chlupů má dermální část omezený význam, neboť bez přítomnosti kořínku není možné hodnotit znaky spojené s růstovou aktivitou chlupu nebo provádět analýzy vyžadující genetický materiál. Z toho důvodu je v této práci pozornost soustředěna především na epidermální část chlupu, která poskytuje dostatečné množství morfologických znaků využitelných pro mikroskopickou analýzu [3;7].

### 1.4 Růstový cyklus chlupu

Růst chlupu je chápán jako dynamický proces, uskutečňovaný v několika na sebe navazujících fázích, které jsou souhrnně označovány jako růstový cyklus. Tento děj je regulován biologickými a hormonálními mechanismy, přičemž jeho průběh se může lišit v závislosti na druhu zvířete, věku jedince, zdravotním stavu, anebo také vnějších podmínkách. Znalost růstového cyklu chlupu je důležitá zejména pro pochopení variability vlastních chlupů, se kterými se pracuje v laboratorní a forezní praxi. Z hlediska laboratorní a forezní analýzy je růstový cyklus chlupu významný především tím, že ovlivňuje vlastnosti chlupů, se kterými je dále pracováno. Různé fáze růstového cyklu se mohou promítat do rozdílů ve struktuře a mechanických vlastnostech chlupů, což je třeba zohlednit při jejich mikroskopickém hodnocení [2;7].

Růstový cyklus chlupu je standardně členěn do tří fází: anagenní, katagenní a telogenní viz obr. 5. Jednotlivá stádia jsou vzájemně odlišována délkou trvání, intenzitou buněčné aktivity i aktuálním stavem vlasového folikulu. Napříč živočišnými druhy je pak v těchto konkrétních fázích evidována značná variabilita [1;13].



Obr. 5: Schéma růstového cyklu chlupu [14]

#### 1.4.1 Anagenní fáze

Anagenní fáze představuje aktivní fázi růstu chlupu, během níž dochází k intenzivnímu buněčnému dělení v oblasti vlasové cibulky. Chlup je v tomto období pevně fixován ve folikulu, přičemž je zajišťováno jeho postupné prodlužování. Časový úsek trvání této fáze je mezi jednotlivými druhy zvířat značně proměnlivý a je jedním z faktorů ovlivňujících délku a hustotu srsti [7;13].

#### 1.4.2 Katagenní fáze

Jedná se o přechodnou fázi, během níž dochází k postupnému ukončení růstu chlupu. Buněčná aktivita ve vlasovém folikulu se snižuje a chlup se postupně odděluje od vlasové papily. Tato fáze je relativně krátká a její trvání je u většiny savců omezeno na několik dní až týdnů [3;13].

#### 1.4.3 Telogenní fáze

Tato fáze je označována za klidové stadium růstového cyklu, v jehož průběhu je chlup uvolněn z vazby ve vlasovém folikulu, a může tak být snadno odstraněn mechanickým způsobem. Proces aktivního růstu je v tomto období zcela zastaven. U řady druhů zvířat může docházet k synchronizaci telogenní fáze u většího počtu chlupů, což se projevuje sezonním línáním [3;13].

## **1.5 Morfologické typy chlupů**

Zvířecí srst není formována jednotně, ale je složena z několika morfologicky i funkčně specifických kategorií. Tyto typy chlupů se liší svou délkou, tloušťkou, strukturou i umístěním na těle zvířete. Rozdělení chlupů podle morfologických znaků je důležité nejen z biologického hlediska, ale též pro účely mikroskopické a forenzní analýzy, protože mohou být u jednotlivých typů v rámci laboratorního hodnocení detekovány odlišné vlastnosti [3;15].

Z morfologického hlediska jsou u savců nejčastěji rozlišovány krycí chlupy, chlupy podsady a specializované chlupy. Zastoupení jednotlivých typů chlupů se může lišit mezi druhy zvířat, ale také mezi různými oblastmi těla téhož jedince. Tyto rozdíly jsou významné zejména při porovnávání vzorků chlupů odebraných z různých částí těla [3].

### **1.5.1 Krycí chlupy**

Povrchová vrstva srsti je formována tzv. krycími chlupy, které jsou zpravidla delší, silnější a mechanicky odolnější ve srovnání s ostatními druhy chlupů. Jejich prostřednictvím je zajišťována primární ochrana těla před mechanickými poškozeními i negativními vlivy okolního prostředí. Z mikroskopického hlediska jsou tyto struktury charakterizovány výraznější kutikulou a často plně vyvinutou medulou [13;16].

### **1.5.2 Chlupy podsady**

Tato vrstva chlupů se nachází pod krycími chlupy a vytváří hustou izolační vrstvu srsti. Tyto chlupy jsou obvykle kratší, jemnější a méně pigmentované. Z hlediska mikroskopické analýzy mohou chlupy podsady vykazovat redukovanou nebo zcela chybějící medulu, což je významný znak při jejich rozlišení od krycích chlupů [13;16].

### **1.5.3 Specializované chlupy**

Specializované chlupy jsou přizpůsobeny specifickým funkcím. Typickým příkladem jsou vibrisy (hmatové chlupy), které jsou silně inervované a umožňují zvířeti vnímat mechanické podněty z okolního prostředí. Dalšími příklady mohou být ochranné štětiny nebo chlupy přizpůsobené extrémním podmínkám prostředí. Tyto chlupy často vykazují atypickou morfolonii a výrazně se liší od běžných krycích a podsadových chlupů [13;16].

## 2 Analýza chlupů zvířat ve forenzní a laboratorní praxi

Analýza chlupů je v laboratorní a forenzní praxi řazena mezi tradiční metody zkoumání biologických stop. Jelikož může být tento materiál přenesen mezi objekty, osobami či zvířaty přímým i nepřímým kontaktem, je jeho výskyt často zaznamenáván na místech činu nebo na předmětech souvisejících s vyšetřovanou událostí. I přesto, že ve vzorcích není vždy obsažen genetický materiál vhodný pro DNA analýzu, jsou z nich získávány cenné morfologické poznatky, jimiž je napomáháno při identifikaci původu [17;18].

Analýza zvířecích chlupů má ve forenzní praxi specifické postavení, neboť umožňuje prokázat přítomnost zvířete nebo kontakt mezi zvířetem a člověkem. Tyto informace mohou být významné například při vyšetřování násilných trestných činů, pytláctví, týrání zvířat nebo při analýze stop při vloupání. V laboratorní praxi je proto kladen důraz především na mikroskopické hodnocení morfologických znaků chlupů [17;18].

### 2.1 Forenzní analýza chlupů

Forenzní analýza chlupů je zaměřena na hodnocení morfologických znaků s cílem určit původ chlupu a případně jej porovnat s referenčními vzorky. Chlupy jsou považovány za neživou biologickou stopu, která může poskytovat informace o druhu zvířete, typu chlupu a někdy i o místě jeho původu na těle. Výsledky analýzy jsou zpravidla vyhodnocovány v kontextu ostatních stop nalezených na místě činu [17;18].

Základní metodou forenzní analýzy je mikroskopické porovnávání, při němž jsou sledovány znaky kutikuly, kortexu a meduly. Hodnoceny jsou rovněž pigmentace, tloušťka chlupu, typ meduly a celkový vzhled chlupu. Tyto znaky jsou porovnávány s referenčními vzorky, přičemž výsledkem není absolutní identifikace, ale určení míry shody či neshody mezi vzorky [9;18].

V případě zvířecích chlupů je forenzní analýza zpravidla zaměřena na určení druhu zvířete, nikoli na ztotožnění konkrétního jedince. Tato identifikace je realizována na základě souboru morfologických znaků, jež jsou pro daný druh typické. Přesnost určení závisí na kvalitě vzorku, zkušenostech hodnotitele a dostupnosti a kvalitě referenčních materiálů [8;17].

Z hlediska důkazní hodnoty je nutné zdůraznit, že výsledky forenzní analýzy chlupů mají indikační charakter. Získané poznatky jsou z tohoto důvodu zpravidla interpretovány v kombinaci s dalšími důkazy, jako jsou biologické stopy, mechanické stopy nebo svědectví. Správné vyhodnocení vyžaduje opatrnost a jasné vymezení limitů použité metody [18].

### 2.2 Sběr, zajištění a uchování chlupů

Správný sběr, zajištění a uchování chlupů jsou ve forenzní a laboratorní analýze vnímány jako klíčové kroky, protože kvalitou odebraného vzorku jsou přímo ovlivňovány možnosti jeho následného zkoumání. V rámci analýzy chlupů jsou rozlišovány náhodné (stopové)

vzorky a referenční vzorky odebrané od známého jedince. Nevhodný způsob odběru nebo skladování může vést k mechanickému poškození chlupu, kontaminaci vzorku nebo znehodnocení morfologických znaků důležitých pro mikroskopickou analýzu. Z tohoto důvodu je kladen důraz na důsledné dodržování standardizovaných metod pro manipulaci s biologickými stopami [17;19].

### **2.2.1 Odběr vzorků**

Odběr může být prováděn různými způsoby v závislosti na účelu analýzy a dostupnosti vzorku. V laboratorní praxi se rozlišuje odběr chlupů s kořínkem a bez kořínku. Při odběru vzorků je důležité dbát na to, aby chlupy nebyly mechanicky poškozeny a aby nedošlo ke kontaminaci vzorku s cizím materiálem. Standardizace odběru, včetně určení místa a způsobu získání vzorku, je nezbytná pro možnost následného porovnání jednotlivých vzorků [19].

### **2.2.2 Označování vzorků**

Každý odebraný vzorek musí být jednoznačně označen, aby byla zajištěna jeho identifikovatelnost po celou dobu zpracování. Označení by mělo obsahovat informace o druhu zvířete, místě odběru na těle, datu odběru a identifikaci vzorku. Správné značení je zásadní pro zabránění záměně vzorků a pro zachování přehlednosti při laboratorním zpracování [19].

### **2.2.3 Uchování a skladování vzorků**

Archivace vzorků je realizovaná metodikou, jejímž prostřednictvím je minimalizováno riziko jejich mechanického poškození či kontaminace. Pro krátkodobé skladování jsou vhodné suché a čisté obaly, které umožňují zachování morfologických znaků chlupů. Je doporučeno uchovávat chlupy v papírových obalech nebo označených obálcích, přičemž je třeba zabránit působení vlhkosti a přímého světla [19].

V případě krátkodobého uchování, například v řádu několika týdnů, nedochází při dodržení vhodných podmínek ke změnám morfologických znaků chlupů, které by ovlivnily analýzu. Z tohoto důvodu je možné vzorky uchovávat po omezenou dobu bez nutnosti speciálních konzervačních postupů [17;19].

## **2.3 Metody zkoumání chlupů**

Zkoumání chlupů v laboratorní a forenzní praxi je založeno na kombinaci několika metod, které se liší svou náročností, přesností i informační hodnotou. Volba konkrétní metody závisí na typu vzorku, účelu analýzy a dostupném vybavení. V praxi jsou nejčastěji využívány makroskopické a mikroskopické metody, které umožňují hodnocení morfologických znaků bez nutnosti destruktivního zásahu do vzorku [17].

### **2.3.1 Makroskopické metody**

Makroskopické metody představují základní stupeň zkoumání chlupů a jsou zaměřeny na hodnocení znaků pozorovatelných pouhým okem nebo s využitím lupy. Hodnotí se zejména

celkový vzhled vzorku, tj. barva, délka, tvar, charakteristické rysy a případné mechanické poškození chlupu. Makroskopické metody slouží především k orientačnímu posouzení vzorku a k jeho předběžnému třídění. Makroskopické hodnocení nelze samostatně využít pro stanovení celkových závěrů, představuje však významnou dílčí fázi analýzy, která může poskytnout důležité informace pro volbu dalšího postupu zkoumání [15].

### 2.3.2 Mikroskopické metody

Mikroskopické metody představují klíčový nástroj pro analýzu chlupů ve forenzní a laboratorní praxi. Pomocí těchto metod je možné provádět podrobné hodnocení morfologických charakteristik vzorků, které zahrnují strukturu kutikuly, charakteristiku kortexu, typ a kontinuitu meduly, pigmentaci a průměr chlupu. Tyto znaky jsou důležité při srovnávání vzorků a určování jejich původu. Mikroskopická analýza dovoluje identifikovat také jemné rozdíly mezi druhy či jednotlivci. Důležitost mikroskopických metod spočívá v jejich schopnosti zachytit detaily, které nejsou vidět pouhým okem. Tímto způsobem poskytují důležité informace pro forenzní vyšetřování i biologický výzkum. [16;20].

V mikroskopické analýze chlupů je využíváno několik druhů mikroskopických technik, které jsou rozlišovány podle oblastí jejich využití i principem zobrazení. Světelná mikroskopie je jednou z nejčastějších a umožňuje základní porovnání struktury chlupu, zejména meduly, pigmentace a uspořádání vnitřních vrstev. Výhodami této metody jsou jednoduchost, dostupnost a rychlost analýzy. Nevýhodou je naopak její nižší rozlišovací schopnost, což může být limitující při hodnocení velmi jemných morfologických znaků, například struktury kutikuly [17;20].

Další technikou je polarizační mikroskopie, která je založena na interakci polarizovaného světla s analyzovaným vzorkem. Polarizační metoda umožňuje zvýraznění optických vlastností chlupu, zejména uspořádání vláken a vnitřní struktury, které nejsou vždy zřetelné při použití světelné mikroskopie. Tato metoda je tedy využívána spíše jako doplňková a může přispět k lepšímu pochopení struktury chlupu a k přesnějšímu vyhodnocení některých znaků [2;21].

Pokročilejší metodou při analýze chlupů je rastrovací elektronová mikroskopie (SEM), která umožňuje detailní zobrazení povrchu chlupu. Pomocí skenovací elektronové mikroskopie je možné pozorovat jemné struktury kutikuly, včetně tvaru a uspořádání šupin, což má význam zejména při druhovém určení chlupu. SEM poskytuje výrazně vyšší rozlišovací schopnost než světelná mikroskopie, avšak je finančně náročnější a může zahrnovat náročnější přípravu vzorku [22].

V současnosti je stále častěji využívána digitální mikroskopie, která kombinuje principy světelné mikroskopie s moderními technologiemi pro digitální záznam a zpracování obrazu. Umožňuje nejen porovnání vzorku, ale také jeho dokumentaci, archivaci a následnou analýzu pomocí softwarových nástrojů. Výhodou je možnost provádět měření přímo v obraze a snadné sdílení výsledků, což je vhodné například při tvorbě databází nebo právě atlasů chlupů [21].

## 2.4 Digitální mikroskopie při analýze chlupů

Digitální mikroskopie je moderní způsob mikroskopického porovnávání, který kombinuje optické principy s digitálním zpracováním obrazu. Na rozdíl od optických mikroskopů, kde je obraz pozorován přímo přes okulár, je zde obraz snímán pomocí obrazového senzoru a zobrazován na monitoru. Tento přístup umožňuje pohodlné pozorování, ale také snadnou archivaci, sdílení a následnou analýzu dat. Digitální mikroskopie je využívána v řadě oborů, včetně průmyslu, biologie či forenzních věd [20;21].

Význam spočívá především v možnosti kombinovat pozorování, měření a dokumentaci v rámci jednoho systému. Moderní systémy navíc umožňují pracovat s velmi širokým rozsahem zvětšení a poskytují kvalitní obraz v reálném čase [23].

### 2.4.1 Princip digitální mikroskopie

Základním prvkem digitálního mikroskopu je obrazový senzor, nejčastěji typu CCD (Charge-Coupled Device) nebo CMOS (Complementary Metal-Oxide-Semiconductor), který zajišťuje převod optického signálu na elektrický signál. Tento signál je následně digitalizován a zpracován do výsledného obrazu, který je zobrazen na monitoru [20;22,23].

Obraz vzniká dopadem světla na jednotlivé fotodiody senzoru, které zaznamenávají intenzitu světla a převádí ji na elektrický signál. Elektrický signál je následně digitalizován a poté upraven pomocí digitálních algoritmů, které zajišťují správnou hodnotu jasu, kontrastu a barev. Pro získání barevného obrazu je před senzorem umístěn barevný filtr RGB, který umožňuje zaznamenávání jednotlivých barevných složek. Výhodou tohoto řešení je možnost dalšího zpracování obrazu, například zvětšení, úpravy kontrastu nebo měření vybraných parametrů [23].

### 2.4.2 Optické vlastnosti

Optické vlastnosti ovlivňují kvalitu obrazu a patří sem především rozlišení a hloubka ostrosti. Rozlišení nám udává schopnost mikroskopu zobrazit jemné detaily a je dáno počtem pixelů obrazového senzoru a vlastnostmi optické soustavy. Vyšší rozlišení umožňuje přesnější analýzu pozorovaného objektu [23].

Hloubka ostrosti představuje rozsah vzdáleností, ve kterém je objekt zobrazen ostře. Tento parametr je důležitý hlavně při pozorování nerovných nebo prostorově složitých objektů, jako jsou například šupiny kutikuly. Platí však, že s rostoucím rozlišením dochází ke snížení hloubky ostrosti, což představuje určitý kompromis mezi detailností a rozsahem zaostření [23].

### 2.4.3 Barevné zobrazení a HDR technologie

Barevné zobrazení je dáno schopností senzoru zaznamenat různé odstíny barev. Tuto schopnost vyjadřuje barevná hloubka, která určuje počet možných barevných kombinací. Například u 8bitových systémů je možné zobrazit více než 16 milionů barev, což je dostatečné pro většinu běžných aplikací [24].

Pro náročnější aplikace je využívána technologie HDR (High Dynamic Range), která umožňuje zachytit širší rozsah jasu a barev. Princip je založen na spojení několika snímků s různou expozicí do jednoho výsledného obrazu. Díky tomu lze zobrazit detaily jak ve velmi světlých, tak i ve velmi tmavých oblastech obrazu. Technologie je velmi přínosná při pozorování lesklých nebo nízko kontrastních materiálů, kde by při běžném snímání docházelo ke ztrátě detailů [24].

#### **2.4.4 Hloubkové skládání obrazu**

Technologie hloubkového skládání obrazu řeší problém s malou hloubkou ostrosti, kdy je zaostřena pouze část objektu. Hloubkové skládání kombinuje více snímků pořízených s různým zaostřením do jednoho výsledného obrazu. Výsledný obraz je ostrý v celé své hloubce, což umožňuje detailní analýzu. Na princip hloubkového skládání navazuje tvorba 3D modelů. Pomocí metod, lze v rozdílu zaostření určit výšku jednotlivých bodů objektu a vytvořit jeho 3D model [25].

#### **2.4.5 Osvětlení**

Osvětlení je důležitou součástí při získávání kvalitních mikroskopických obrazů. V digitální mikroskopii se využívají různé druhy osvětlení v závislosti na pozorovaném objektu. Základní dělení zahrnuje procházející a dopadající světlo. Procházející osvětlení se používá pro transparentní objekty, zatímco dopadající osvětlení slouží k pozorování povrchu neprůhledných objektů [26].

Speciální typy dopadajícího osvětlení, jako koaxiální nebo difúzní osvětlení, umožňují optimalizovat podmínky pozorování. Koaxiální osvětlení je vhodné pro lesklé povrchy, protože zajišťuje přímý odraz světla do objektivu. Naopak difúzní osvětlení světlo rozptyluje a minimalizuje vznik stínů a odlesků. Moderní digitální mikroskopy umožňují také regulaci intenzity a směru osvětlení, což umožňuje přizpůsobit pozorování konkrétnímu vzorku a zvýraznit důležité detaily [26].

### 3 Současný stav zkoumané problematiky

Forenzní zkoumání zvířecích chlupů se dlouhodobě opírá o mikroskopické hodnocení morfologických znaků chlupového stvolu. Tato metoda se v odborné literatuře uvádí jako základní nástroj pro rozlišení druhů a orientační identifikaci původu chlupu. Hodnocení se obvykle zaměřuje na strukturu kutikuly, charakter meduly a pigmentaci kortexu [15;18].

Během posledních let je však v odborných článcích stále častěji poukázováno na potřebu systematického a standardizovaného přístupu k hodnocení těchto znaků, a to zejména s ohledem na biologickou variabilitu mezi jednotlivými druhy, plemeny i oblastmi těla. Variabilita morfologických znaků může v některých případech komplikovat jednoznačné závěry, což vedlo k rozšíření výzkumu směrem ke kvantifikaci znaků a k využití modernějších zobrazovacích metod [10;15].

V experimentální práci [27] zaměřené na forenzní identifikaci domácích druhů zvířat byla provedena srovnávací histologická analýza chlupů několika savců, konkrétně koně, osla, psa a kočky, s použitím světelné mikroskopie. Na základě vzorku kutikulárních šupin, typu a průměru meduly a pigmentace byly identifikovány charakteristické znaky pro jednotlivé druhy, přičemž například u osla byl pozorován odlišný typ šupin v porovnání s ostatními druhy zvířat. Studie rovněž potvrzuje, že různé druhy vykazují výrazné rozdíly ve struktuře meduly a kutikuly, které mohou sloužit jako rozdílové markanty pro druhovou identifikaci, a zdůrazňuje potřebu tvorby referenčních databází pro forenzní praxi.

Komparativní mikroskopické hodnocení lidských a zvířecích chlupů bylo provedeno ve studii vydané v roce 2022, kde byla k analýze morfologických znaků chlupového stvolu použita stereomikroskopie [28]. Pozornost byla zaměřena především na hodnocení charakteru meduly, uspořádání kutikulárních šupin a celkové struktury chlupu s cílem stanovit spolehlivé rozdílné znaky mezi lidským a zvířecím chlupem. Bylo zjištěno, že některé znaky, zvláště typ meduly a její rozsah v poměru k celkové šířce stvolu, představují významné rozlišovací znaky. Studie současně potvrzuje, že mikroskopická analýza zůstává prakticky využitelnou metodou ve forenzní praxi, přičemž přesnost identifikace závisí na systematickém hodnocení více strukturálních znaků současně.

Význam kvantitativního hodnocení morfologických znaků je zdůrazňován ve studii [29]. Vedle kvalitativního popisu kutikuly a meduly byly do zkoumání zahrnuty také morfometrické analýzy, konkrétně stanovení medulárního indexu (poměr šířky meduly k celkové šířce stvolu). V závěru bylo uvedeno, že aplikace měřitelných parametrů přispívá k vyšší objektivitě hodnocení a umožňuje přesnější druhové rozlišení. Současně bylo upozorněno na možný vliv místa odběru a individuální rozdíly, přičemž je kladen důraz na práci s odpovídajícím množstvím vzorků a dodržení jednotného postupu.

V rámci rozsáhlého výzkumu v roce 2020 [30] byla zhodnocena oblast analýzy a interpretace chlupů. Analýze byly podrobeny postupy používané v různých laboratořích při mikroskopickém zkoumání, přičemž důraz byl kladen zejména na způsoby dokumentace, interpretaci morfologických znaků a formulaci závěrů. Mezi jednotlivými pracovišti byly

zjištěny rozdíly jak v metodických postupech, tak v terminologii používané pro popis zjištěných strukturálních znaků. Z tohoto důvodu je v závěru zdůrazněna potřeba vyšší míry standardizace a sjednocení přístupu, čímž by byla zajištěna srovnatelnost výsledků mezi laboratořemi.

Další ze studií [31] byla zaměřena na identifikaci vybraných druhů na základě morfologických znaků pozorovaných pomocí světelné mikroskopie a skenovací elektronové mikroskopie. Byly hodnoceny typy kutikulárních šupin, charakter meduly a profil chlupového stvolu. Článek uvádí, že jednotlivé druhy vykazují specifické kombinace znaků, které umožňují jejich druhové rozlišení. Současně je zdůrazněna významnost jednotného postupu a dokumentace pozorovaných vzorků, aby bylo možné vytvořit srovnávací soubor pro identifikační účely.

Možnost využití morfologické analýzy jako prvotního screeningového kroku při forezním hodnocení byla popsána ve studii zaměřené na identifikaci živočišných kožešin [32]. Byla provedena mikroskopická analýza struktury chlupu s důrazem na charakter meduly, uspořádání kutikuly a celkový morfologický profil. Z článku vyplývá, že morfologická analýza představuje časově i ekonomicky efektivní metodu prvotního třídění vzorků, přičemž v případě nejednoznačných výsledků může být doplněna dalšími analytickými metodami. Současně byla zdůrazněna potřeba systematického zaznamenávání mikroskopických znaků a jejich porovnávání s referenčními databázemi.

V [33] byla provedena analýza chlupů velbloudů s využitím skenovací elektronové mikroskopie doplněné o prvkovou analýzu, přičemž byla současně provedena morfologická měření. V rámci článku byly hodnoceny povrchová struktura chlupu, charakter meduly a další morfologické znaky v závislosti na věku zvířete. Bylo zjištěno, že morfologické parametry mohou vykazovat rozdíl v souvislosti se stářím jedince. Je kladen důraz na významnost kombinace pozorování a měření pro objektivnější hodnocení znaků chlupů.

V dostupném online zdroji [12] je prezentována obrazová galerii mikroskopických snímků chlupů různých druhů zvířat. Tento zdroj poskytuje základní přehled o morfologických znacích chlupů. Zejména struktury kutikuly, charakteru meduly a celkovém profilu chlupu. Tato stránka může být využita jako podpůrný materiál při orientačním porovnávání vzorků mezi jednotlivými druhy.

Z provedené rešerše vyplývá, že mikroskopická analýza zvířecích chlupů je ve forezní praxi dlouhodobě používanou metodou druhového rozlišení. Za klíčové identifikační znaky jsou ve všech studiích opakovaně označeny struktura kutikuly, charakter meduly, pigmentace a celkový profil stvolu. Ve většině prací je však zdůrazněna biologická variabilita, která může komplikovat jednoznačnost interpretace nálezů. Současný výzkum proto klade důraz na jednotný popis markantů, zavádění měřitelných parametrů a sjednocení hodnotících postupů. I přes existenci studií zaměřených na konkrétní druhy či morfometrii dosud chybí ucelené, systematicky a sjednoceně zpracované digitální soubory pro rychlé srovnání. Právě absence přehledného digitálního atlasu a standardizované metodiky digitální mikroskopie tak definuje prostor pro navazující výzkum.

## 4 Cíle práce a výzkumné otázky

Hlavním cílem diplomové práce je provést analýzu chlupů vybraných druhů zvířat pomocí digitální mikroskopie a na základě získaných výsledků vytvořit přehledný digitální atlas analyzovaných vzorků.

Za účelem naplnění hlavního cíle byly stanoveny následující dílčí cíle:

1. Provést odběr vzorků chlupů u vybraných druhů zvířat z předem definovaných tělních oblastí.
2. Zajistit správné označení, evidenci a uchování odebraných vzorků
3. Provést mikroskopickou analýzu morfologických znaků chlupů pomocí digitální mikroskopie.
4. Realizovat morfometrická měření vybraných parametrů (např. průměr chlupu, šířka meduly).
5. Provést mezidruhové srovnání analyzovaných vzorků.
6. Systematicky zdokumentovat pozorované markanty a vytvořit digitální obrazovou databázi.
7. Navrhnout standardizovaný postup rychlé analýzy chlupů pomocí digitální mikroskopie.

Na základě dílčích cílů byla formulována výzkumná otázka:

- Jaké morfologické znaky chlupů vybraných druhů zvířat jsou využitelné pro jejich vzájemné rozlišení při použití digitální mikroskopie?

Pro podrobnější zkoumání problematiky byly dále stanoveny dílčí výzkumné otázky:

- Do jaké míry se liší morfologické znaky chlupů mezi jednotlivými druhy zvířat?
- Je průměr chlupu vhodným identifikačním znakem ve srovnání s ostatními morfologickými znaky?

## 5 Metodika práce

Tato kapitola popisuje postup práce od sběru vzorků až po jejich následnou analýzu. Metodika je zaměřena na jednotlivé kroky zpracování vzorků, jejich přípravu pro měření a způsob vyhodnocení sledovaných morfologických znaků. V rámci práce byly analyzovány chlupy 4 vybraných druhů zvířat, přičemž u každého druhu bylo hodnoceno 5 jedinců. Vzorky byly odebírány ze 4 různých částí těla, aby bylo možné posoudit variabilitu morfologických znaků nejen mezi jednotlivými druhy, ale i v rámci jednotlivce. Pro účely srovnání byly do analýzy zařazeny také tři vzorky lidských vlasů.

Postup práce zahrnoval sběr vzorků, jejich přípravu pro mikroskopické pozorování a vlastní analýzu. V průběhu práce byly testovány různé způsoby snímání vzorků, přičemž finální metodika byla zvolena s ohledem na kvalitu získaných dat a možnosti dostupného technického vybavení.

### 5.1 Výběr zvířat a odběr vzorků

Vzorky chlupů byly odebírány od čtyř vybraných druhů zvířat, konkrétně psa, kočky, králíka a koně, přičemž u každého druhu bylo analyzováno pět jedinců. Tento způsob umožnil získat dostatečný počet vzorků pro analýzu. Odběr chlupů byl prováděn stříháním co nejbližší k povrchu kůže, což vedlo k tomu, že nebyl zachován kořínek chlupu. Tento postup byl zvolen s ohledem na hlavní cíl práce, která je zaměřena na morfologické znaky chlupů, nikoliv na analýzu kořenové části chlupů.

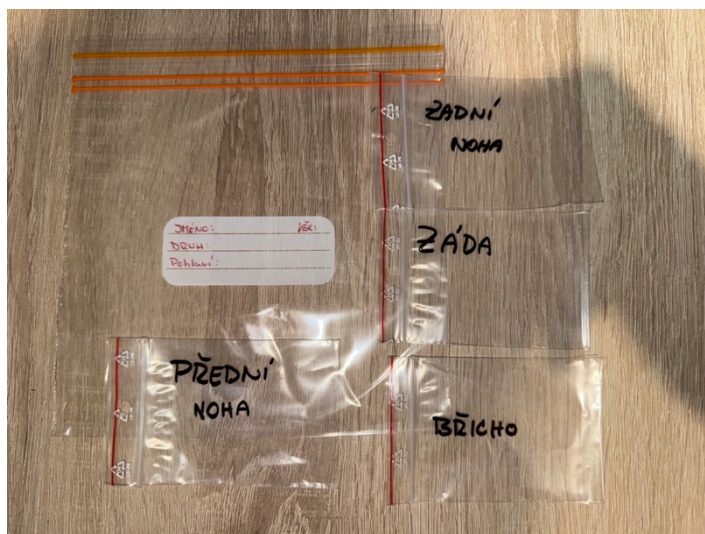
Vzorky byly odebírány ze 4 různých částí těla, konkrétně ze zad, břicha, přední a zadní končetiny. Tato odběrová místa byla zvolena s cílem zachytit případnou variabilitu morfologických znaků v rámci konkrétního jedince v závislosti na umístění chlupu. Z každého odběrového místa bylo odebráno větší množství chlupů, zpravidla v řádu desítek kusů, aby byla zajištěna dostatečná zásoba vzorků pro případné opakování měření. Odběr byl prováděn za suchých podmínek, aby nedocházelo k ovlivnění kvality vzorků vlhkostí, která by mohla negativně ovlivnit jejich následné zpracování nebo skladování.

Vzhledem k tomu, že se jednalo převážně o domácí zvířata, bylo předpokládáno, že jejich srst je v relativně dobrém hygienickém stavu. Z tohoto důvodu nebyla prováděna žádná speciální očista vzorků přímo při odběru. Bezprostředně po odběru byly ke každému vzorku zaznamenány základní informace o daném jedinci, aby byla zajištěna jejich jednoznačnost při dalším zpracování.

### 5.2 Označení a uchování vzorků

Ihned po odběru byly jednotlivé vzorky chlupů systematicky označeny a uloženy tak, aby byla zajištěna jejich přehlednost a jednoznačná identifikace při dalším zpracování. Pro uchování byly využity samostatné uzavíratelné plastové sáčky, které byly připraveny před samotným odběrem. Každý sáček byl označen podle odběrového místa (např. záda, břicho, přední

a zadní noha), což umožnilo přehledné třídění vzorků přímo při jejich sběru a minimalizovalo riziko jejich záměny viz obr.6.



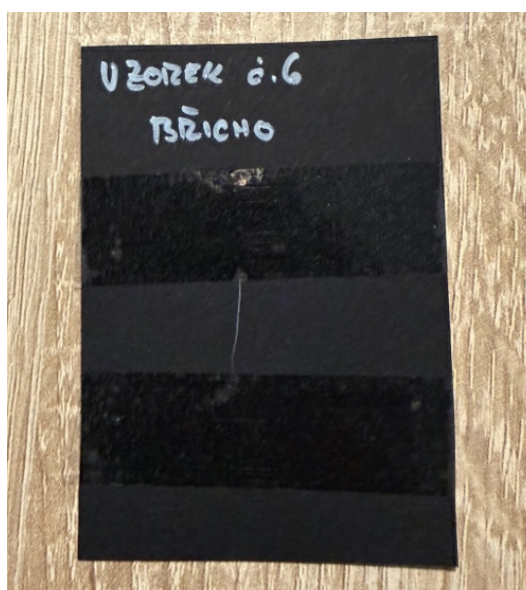
**Obr. 6: Připravené označené sáčky pro odběr vzorků [zdroj: vlastní]**

Pro každý soubor vzorků byl současně připraven jeden větší uzavíratelný sáček, do kterého byly následně vloženy čtyři menší sáčky odpovídající jednotlivým odběrovým místům. Větší sáček, zachycený rovněž na obr. 6, sloužil zároveň jako nosič identifikačních údajů o zvířeti, přičemž na něj byly zaznamenány informace o druhu, plemeni, věku a pohlaví jedince. Tímto způsobem bylo dosaženo přehledného seskupení vzorků a jejich jednoznačné označení v návaznosti na konkrétního jedince.

Evidence vzorků byla dále vedena v textovém dokumentu, ve kterém byly vzorky systematicky označeny a očíslovány (vzorek č.1–20). Ke každému vzorku byly přiřazeny základní údaje o zvířeti, což umožnilo přehledné uspořádání. Dále byla ke každému zvířeti zajištěna fotografie, a to buď vlastním pořízením, nebo jejím zasláním od majitele zvířete. Fotografie byly využity při tvorbě digitálního atlasu chlupů, kde slouží jako doplňující vizuální informace k jednotlivým vzorkům.

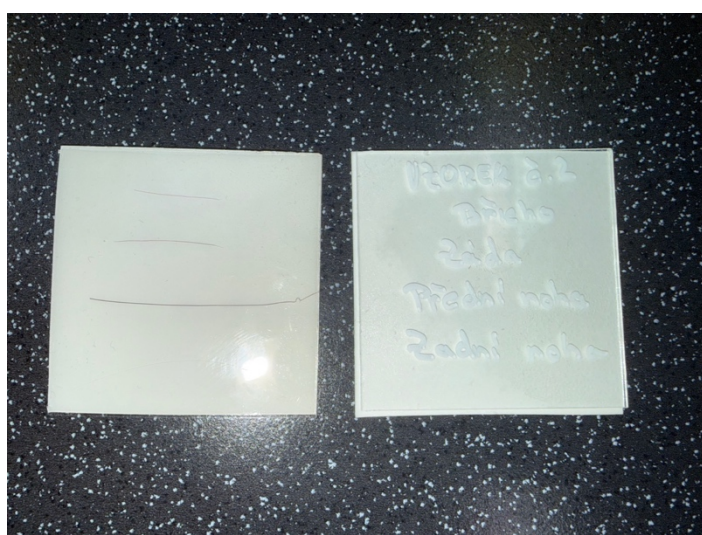
Vzorky byly uchovány v přehledně organizované složce, kde byly rozděleny do jednotlivých skupin podle druhu zvířete. Uchování probíhalo při pokojové teplotě a byl kladen důraz na suché prostředí bez světla, aby nedocházelo k negativnímu ovlivnění vzorků.

Během přípravy byly chlupy fixovány na podkladový materiál, konkrétně černý tvrdý papír, za účelem jejich stabilizace při mikroskopickém pozorování pomocí digitálního mikroskopu. Postup spočíval v umístění chlupu na tvrdý papír a jeho následné uchycení pomocí izolepy (viz obr. 7).



**Obr. 7: Ukázka fixace vzorků na černém podkladu [zdroj: vlastní]**

V průběhu práce se však ukázalo, že tento způsob fixace vzorků nebyl zcela vyhovující. Při mikroskopickém snímání docházelo k pohybu chlupů, což negativně ovlivnilo stabilitu vzorků a kvalitu získaných snímků. Současně nebylo dosaženo dostatečně homogenního pozadí. Na základě těchto zjištění byla metodika přípravy vzorků pro digitální mikroskop upravena. Bílá želatinová folie byla nejdříve lepidlem ve spreji přilepena na sklíčko a poté do želatinové hmoty umístěny chlupy. Tímto bylo docíleno pevnějšího uchycení chlupů a současně vytvořeno homogenní pozadí, které bylo vhodnější pro mikroskopické snímání. Jednotlivé vzorky byly přímo označeny na sklíčko, tím byla zajištěna identifikace pro opakované zkoumání vzorků (obr. 8).



**Obr. 8: Fixace chlupů na želatinové hmotě [zdroj: vlastní]**

Při manipulaci se vzorky byla využita plastová pinzeta, která umožnila přesnější uchopení jednotlivých chlupů a současně minimalizovala riziko jejich mechanického poškození.

### **5.3 Použité přístroje a software**

Tato kapitola popisuje přístroje a softwarové vybavení využitě při mikroskopické analýze chlupů. Hlavní část pozorování a dokumentace vzorků byla prováděna pomocí digitálního mikroskopu, který umožnil detailní snímání vzorků při různých zvětšeních. Pro doplnění a srovnání získaných výsledků byly u vybraných referenčních vzorků dále využity rastrovací elektronový mikroskop (SEM) a laserový skenovací mikroskop. Následující podkapitoly popisují jednotlivé použité přístroje a jejich využití v rámci analýzy.

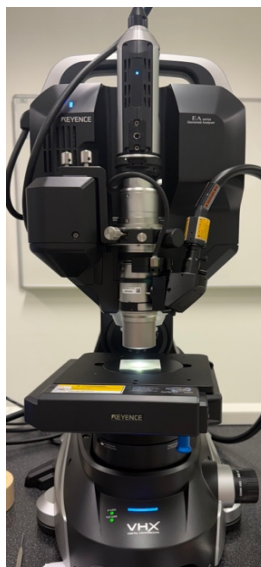
#### **5.3.1 Digitální mikroskop**

Pro mikroskopickou analýzu chlupů byl využit digitální mikroskop VHX-X1 od společnosti Keyence. Mikroskop je vybaven vysoce citlivým CMOS snímačem s rozlišením 4K, který umožňuje detailní zobrazení. Zařízení umožňuje pozorování v širokém rozsahu zvětšení a nabízí pokročilé funkce pro úpravu obrazu a jeho následnou analýzu. Součástí mikroskopu je řídicí jednotka a softwarové prostředí, které umožňuje nejen snímání obrazu, ale také následnou úpravu a analýzu. Software poskytuje funkce pro měření, úpravu kontrastu, jasu a barevnosti, stejně jako pokročilé zobrazovací režimy, například HDR nebo odstranění odlesků. Ovládání mikroskopu bylo prováděno pomocí ovládacího panelu (obr. 9), který umožňuje přesné nastavení ostření, regulaci osvětlení a pohyb motorizovaného stolku ve všech směrech.



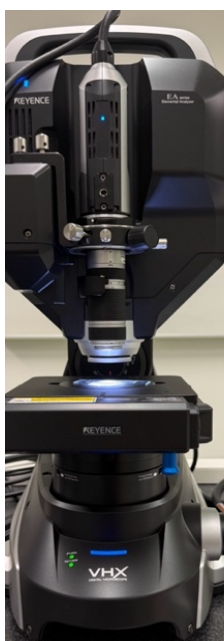
**Obr. 9: Softwarové prostředí a ovládací panel mikroskopu [zdroj: vlastní]**

V rámci analýzy byly použity 2 výměnné objektivy. Objektiv VH-Z100UT byl použit pro detailní pozorování a dosahuje zvětšení 100x–1000x. Mikroskop s tímto objektivem lze vidět na obr. 10.



**Obr. 10: Mikroskop s nasazeným objektivem VH-Z100UT [zdroj: vlastní]**

Druhý použitý objektiv VH-Z20T umožňuje menší zvětšení (20x–200x) a je vybaven prstencovým osvětlením, které zajišťuje rovnoměrné nasvícení vzorku, popřípadě možnost zvolit směr, ze kterého je vzorek nasvícen. Mikroskop s tímto objektivem je vidět na obr. 11.



Obr. 11: Mikroskop s nasazeným objektivem VH-Z20T [zdroj: vlastní]

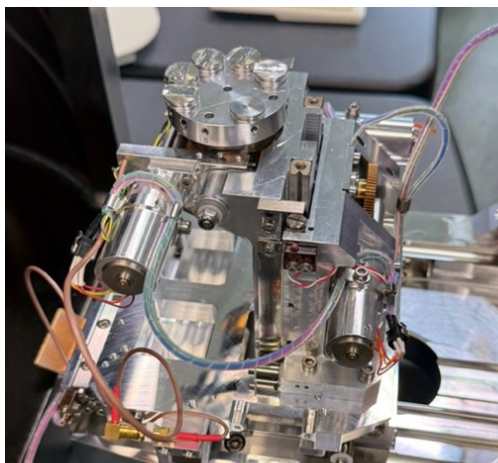
### 5.3.2 Rastrovací elektronový mikroskop

Pro srovnávací a detailní analýzu povrchové struktury chlupů byla použita rastrovací elektronová mikroskopie (SEM – Scanning Electron Microscopy). Měření bylo realizováno pomocí mikroskopu ZEISS Evo MA15 (viz obr. 12), který umožňuje získat vysoce detailní snímek povrchu při vysokém zvětšení a rozlišení.



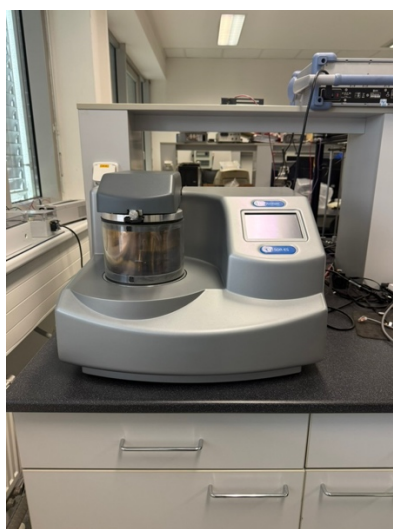
obr. 12: Rastrový elektronový mikroskop [zdroj: vlastní]

Před samotným měřením bylo nutné vzorky chlupů upravit tak, aby byly vhodné pro analýzu v elektronovém mikroskopu. Z každého sledovaného druhu (kůň, králík, kočka, pes) byl vybrán jeden referenční chlup odebraný ze zad vybraného jedince. Vzorky byly upevněny na standardní nosiče (tzv. stubs), jak je vidět na obr. 13.



**obr. 13: Upevnění vzorků na nosiče (stubs) [zdroj: vlastní]**

Následně byly vzorky pokoveny tenkou vrstvou zlata pomocí naprašovačky Quorum Q150R ES (viz obr. 14). Pokovení bylo provedeno za účelem zvýšení elektrické vodivosti vzorků a eliminaci jejich nabíjení během pozorování. Tloušťka nanesené vrstvy zlata byla 3 nm.



**obr. 14: Naprašovačka pro pokovení vzorků Quorum Q150R ES [zdroj: vlastní]**

Na snímcích pořízených pomocí SEM bylo současně zaznamenáno i použité nastavení mikroskopu. Měření byla provedena při urychlovacím napětí (EHT) v rozmezí 10–15 kV. Pracovní vzdálenost se pohybovala v rozmezí 7–12 mm. Pro snímání byl využíván detektor sekundárních elektronů, který je vhodný pro zobrazování povrchů. Zvětšení bylo voleno individuálně podle charakteru vzorku.

### 5.3.3 Laserový skenovací mikroskop

Pro analýzu povrchové struktury chlupu byl využit mikroskop Keyence VK-X1000 (viz obr. 15), který umožňuje kombinaci optického a laserového snímání povrchu.



obr. 15: Laserový mikroskop Keyence VK-X1000 [zdroj: vlastní]

Princip tohoto mikroskopu je využití kombinace optické mikroskopie a laserového skenování. Optická část umožňuje klasické zobrazení vzorku, naopak laserový paprsek slouží k detailnímu snímání povrchové struktury. Odražené světlo je následně detekováno a zpracováno do výsledného obrazu. Tato kombinace umožňuje získat detailní snímek struktury s přesnějším zobrazením povrchových nerovností. Výhodou oproti SEM mikroskopu je menší náročnost na přípravu vzorků, které není nutné pokovovat [21].

Vzorky chlupů byly připevněny jednoduchým způsobem, kdy byl chlup fixován izolepou na podložní sklíčko. Pozorování bylo prováděno při zvětšení 20x, které bylo zvoleno jako dostatečné pro zachycení potřebných snímků. Použitý mikroskop umožňuje široký rozsah zvětšení od 2,5x až po 150x. Při měření byla využita kombinace optického a laserového snímání, což umožnilo zvýraznění povrchové struktury. Měření probíhalo za stabilních podmínek a nastavení mikroskopu bylo použito stejné pro všechny vzorky.

## 5.4 Postup analýzy pomocí digitálního mikroskopu

Po přípravě vzorků následoval přesun k mikroskopické analýze vzorků pomocí digitálního mikroskopu. Jednotlivé vzorky byly postupně umísťovány na pracovní plochu a fixovány tak, aby byla zajištěna stabilita při pozorování a pořizování snímků. Před snímáním bylo vždy provedeno nastavení základních parametrů, zejména zvětšení, typu a intenzity osvětlení a ostření. V průběhu byly využívány různé zobrazovací režimy dostupné v softwaru mikroskopu, jejich volba závisela na konkrétním typu hodnoceného znaku.

Mikroskopická analýza byla prováděna podle jednotlivých typů hodnocených znaků. Nejprve byla u všech vzorků nasnímána jejich vnější struktura, následně bylo provedeno měření průřezu chlupu a poté hodnocení charakteru meduly. Snímání barvy chlupu bylo realizováno až v závěrečné fázi, a to z důvodu nutnosti výměny používaného objektivu.

Při hodnocení struktury kutikuly bylo u každého vzorku pořízeno více snímků za využití různých zobrazovacích režimů, konkrétně standardní režim, HDR a režim pro odstranění odlesků. Tento postup umožnil následný výběr nejvhodnějšího snímku pro zobrazení kutikuly v atlasu. Naopak při hodnocení dalších znaků, jako byl průměr chlupu, charakter meduly a barvy, byl ve většině případů využíván standardní zobrazovací režim. V případě hodnocení barvy chlupu bylo současně použito jednotné nastavení osvětlení, aby byly zajištěny srovnatelné podmínky snímání a nedocházelo k ovlivnění výsledného odstínu vlivem změny intenzity světla.

Bylo zjištěno že kvalita výsledného obrazu je výrazně ovlivněna zejména způsobem osvětlení a stabilitou vzorku. Z tohoto důvodu bylo nutné jednotlivé parametry průběžně optimalizovat s ohledem na prováděné měření. Mikroskopická analýza byla zaměřena na hodnocení konkrétních morfologických znaků chlupů, jako byla struktura kutikuly, průměr chlupu, charakter meduly a barva. Pro každý z těchto znaků byl zvolen specifický postup a nastavení mikroskopu, které je podrobně popsáno v následujících podkapitolách.

#### **5.4.1 Analýza povrchu chlupu**

Kutikula byla hodnocena pomocí horního osvětlení, které umožňuje zvýraznění povrchových struktur chlupu. Pro snímání bylo použito zvětšení 600x, které poskytlo dostatečný detail pro pozorování jednotlivých kutikulárních šupin. Pro každý vzorek bylo pořízeno více snímků v různých zobrazovacích režimech, konkrétně ve standardním režimu, režimu odstranění odlesků a HDR. S ohledem na 4 odběrová místa a 3 použité zobrazovací metody bylo u každého jedince pořízeno 12 snímků zaměřených na strukturu kutikuly. Tento postup umožnil následný výběr nejvhodnějšího zobrazení pro detailní analýzu povrchové struktury chlupu.

Pozornost byla věnována také způsobu uchycení vzorků. Původně byly chlupy fixovány na podklad z černého papíru, avšak tento způsob se ukázal jako nevhodný, zejména z důvodu pohybu vzorku při pozorování. Z tohoto důvodu byla následně použita bílá želatinová hmota, která zajistila lepší fixaci chlupu a lepší podmínky pro pozorování.

Po pořízení snímků byla provedena jejich dodatečná úprava pomocí dostupného softwaru mikroskopu, konkrétně snížení jasu a zvýraznění struktury, čímž bylo dosaženo lepší čitelnosti sledovaných znaků. Tyto úpravy byly prováděny pouze v režimu HDR, který tyto úpravy umožňuje. Úpravy byly prováděny u všech vzorků se stejným nastavením, aby byla zachována jejich srovnatelnost.

Při snímání kutikuly bylo současně zjištěno, že kvalita zobrazení je výrazně ovlivněna přítomností odlesků a celkovým odrazem světla od povrchu chlupu. I přes snahu o odstranění těchto nežádoucích odrazů se nepodařilo tento jev zcela odstranit, a to zejména s ohledem na dostupné technické vybavení. Tento faktor byl proto zohledněn při výběru nejvhodnějších snímků pro další analýzu.

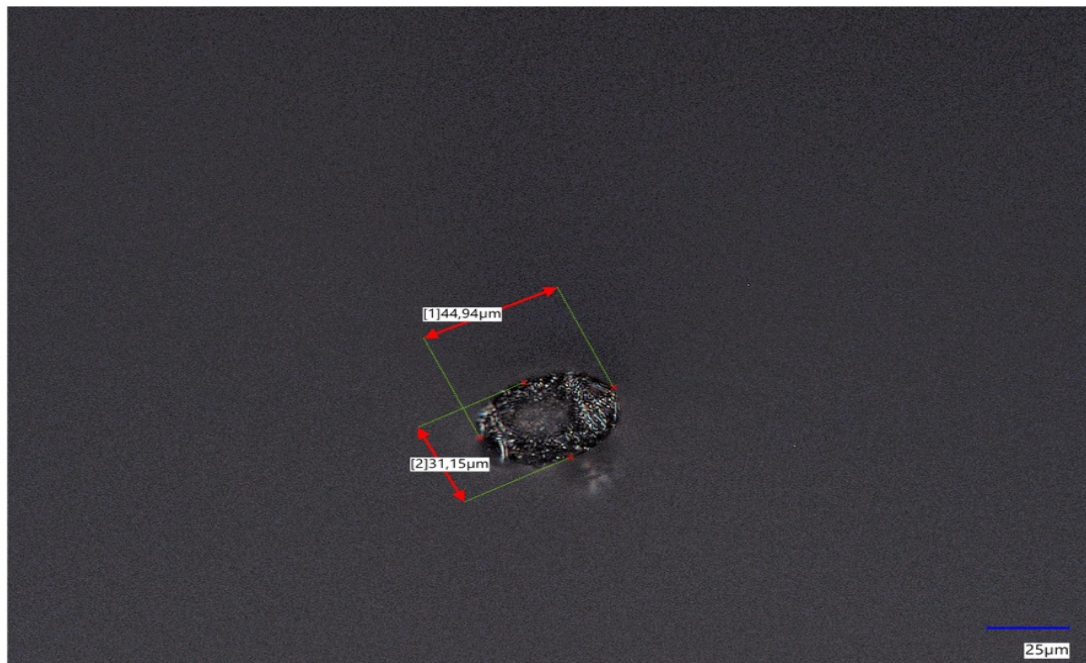
#### 5.4.2 Analýza průřezu chlupu a morfometrie

Stanovení průměru chlupu bylo prováděno na základě mikroskopického pozorování příčných řezů chlupů. Pro získání těchto řezů byly jednotlivé chlupy mechanicky upraveny pomocí ostrého odlamovacího nože, přičemž byl kladen důraz na co nejkolmější provedení řezu vzhledem k podélné ose chlupu. Následně byly chlupy uchyceny pomocí plastových kolíčků, které umožňovaly jejich stabilní fixaci v požadované poloze (viz obr. 16). Díky tomuto způsobu uchycení byla zajištěna lepší manipulace se vzorkem a rovněž to umožnilo přesnější zobrazení průřezu chlupu.



**Obr. 16: Kolíčky pro uchycení chlupů při měření průřezu [zdroj: vlastní]**

Snímání průřezu bylo realizováno při zvětšení 1000x v kombinaci s horním osvětlením. Zobrazovaný průřez chlupu byl následně měřen pomocí měřicích nástrojů dostupných v softwaru mikroskopu, kde bylo možné určit vzdálenost mezi dvěma zvolenými body, jak je vidět na obr. 17.



**Obr. 17: Ukázka měření průřezu chlupů [zdroj: vlastní]**

Samotné měření průřezu bylo realizováno tak, že u každého vzorku byly určeny hodnoty odpovídající nejširší a nejužší části chlupu. Tento postup byl zvolen s ohledem na skutečnost, že průřez chlupu není pravidelně kruhový, ale může vykazovat určitou nepravidelnost nebo oválný tvar. U každého chlupu bylo prováděno celkem pět opakování měření, a to jak pro nejširší, tak pro nejužší část. Naměřené hodnoty byly zapsány do tabulky v Microsoft Excelu a následně z nich byla vypočtena směrodatná odchylka, která sloužila k vyjádření variability měření a omezení vlivu nepřesnosti při určování měřicích bodů.

### 5.4.3 Analýza meduly

Pro pozorování vnitřní struktury chlupu (meduly), bylo použito mikroskopické snímání za pomoci spodního osvětlení. Tento typ osvětlení umožňuje průchod světla skrz chlup, čímž dochází ke zvýraznění vnitřních struktur. Vzorky byly pro toto měření připravovány umístěním chlupů na podložní sklíčko, na které byl následně aplikován glycerol. Glycerol sloužil jako optické médium, protože díky svému indexu lomu, který je blízký indexu lomu chlupu i indexu lomu mikroskopického sklíčka, snižuje lom a rozptyl světla na rozhraních jednotlivých prostředí a umožňuje tak získat obraz s lepším kontrastem a ostrostí. Po aplikaci glycerolu byl chlup překryt krycím sklíčkem.

U některých vzorků, zvláště u silnějších a tmavě pigmentovaných chlupů, nebylo možné medulu dostatečně zobrazit pomocí standardního postupu. Z tohoto důvodu bylo u vybraných vzorků přistoupeno k jejich úpravě pomocí technického peroxidu vodíku o koncentraci 30 %, ve kterém byly chlupy ponechány po dobu jedné hodiny. Namočení chlupů v peroxidu je vidět na obr. 18.



**Obr. 18: Úprava vzorků pomocí peroxidu [zdroj: vlastní]**

Po ukončení procesu byly vzorky opláchnuty destilovanou vodou a vysušeny. Následně byly opět připraveny na podložní sklíčko s použitím glycerolu a krycího sklíčka. Tato úprava vedla k částečnému zesvětlení a narušení povrchové struktury chlupu, což vedlo k lepšímu průchodu světla a tím i lepšímu zobrazení meduly. Samotné snímání bylo realizováno ve standardním režimu bez dodatečných úprav obrazu.

#### **5.4.4 Analýza barvy**

Hodnocení barvy chlupů bylo prováděno při zvětšení 200x. Pro toto snímání byla použita odlišná optika, konkrétně objektiv VH-Z20T (viz obr. 11 v kapitole 5.3). Tento objektiv je vybaven prstencovým osvětlením, které umožňuje rovnoměrné nasvícení vzorků a tím i věrnější zobrazení jeho barevných vlastností. Snímání bylo prováděno ve standardním režimu při zachování jednotného nastavení osvětlení a parametrů obrazu pro všechny chlupy. Postup byl zvolen z důvodu zajištění srovnatelnosti mezi jednotlivými snímky a eliminaci vlivu proměnlivých podmínek na výsledné barevné zobrazení.

V průběhu snímání bylo zjištěno, že u některých chlupů dochází vlivem intenzity osvětlení k prosvícení chlupu, což může ovlivnit výsledné vnímání barvy. Tento problém byl způsoben kombinací menší tloušťky chlupu a intenzity dopadajícího světla. S ohledem na tento problém bylo nutné přistupovat k hodnocení barvy s odstupem a zohlednit vliv osvětlení při interpretaci výsledků. Snímky byly dále použity pro určení barvy srsti.

### **5.5 Hodnocené morfologické znaky chlupů**

V rámci práce byly u jednotlivých vzorků hodnoceny vybrané morfologické znaky chlupů. Tyto znaky byly zvoleny s ohledem na jejich význam při druhové identifikaci a možnosti jejich pozorování pomocí použitého digitálního mikroskopu.

Hodnoceny byly následující znaky:

- struktura kutikuly, zahrnující charakter povrchových šupin chlupu,
- tvar a velikost průřezu chlupu, včetně jeho rozměrů,
- charakter meduly, zejména její přítomnost, vyvinutost a charakter,
- barevné vlastnosti chlupu při jednotných podmínkách osvětlení.

Znaky byly následně využity pro vzájemné porovnání jednotlivých vzorků v rámci praktické části práce.

## 6 Výsledky analýzy zvířecích chlupů pomocí digitální mikroskopie

V této kapitole jsou prezentovány výsledky mikroskopické analýzy chlupů pomocí digitální mikroskopie. Výsledky jsou členěny podle jednotlivých hodnocených morfologických znaků, konkrétně struktury kutikuly, průřezu chlupu, charakteru meduly a barvy. Uvedeny jsou pouze reprezentativní ukázky jednotlivých druhů a vzorků, které ilustrují jejich charakteristické znaky. S ohledem na rozsah pořízených snímků a získaných dat není v této kapitole obsažena kompletní dokumentace všech analyzovaných vzorků.

Kompletní sada snímků v systematickém uspořádání je obsažena v digitálním atlasu chlupů, který je přiložen jako elektronická příloha k práci (příloha A). Atlas umožňuje detailní srovnání jednotlivých vzorků a doplňuje zde prezentované výsledky.

### 6.1 Struktura kutikuly

Struktura kutikuly je jeden z klíčových morfologických znaků chlupu a je využívána při mikroskopickém hodnocení. V rámci práce byla pozornost zaměřena na způsob zobrazení kutikulárních šupin a jejich následné porovnání mezi jednotlivými vzorky. Nejprve bylo provedeno porovnání různých zobrazovacích režimů, které umožnilo výběr režimu nejvhodnějšího pro zobrazení kutikuly. Následně byly prezentovány výsledky analýzy kutikuly u jednotlivých druhů.

#### 6.1.1 Porovnání zobrazovacích režimů

Snímání struktury kutikuly bylo provedeno ve třech zobrazovacích režimech dostupných v softwaru digitálního mikroskopu. Konkrétně se jednalo o standardní režim, režim pro odstranění odlesků a režim s vysokým dynamickým rozsahem (HDR). Cílem bylo porovnat a vyhodnotit vliv jednotlivých režimů na kvalitu zobrazení povrchové struktury chlupu.

Pro každý vzorek byly pořízeny 3 snímky, vždy v jednom z uvedených režimů. S ohledem na 4 odběrová místa a 3 použité zobrazovací režimy bylo u každého jedince pořízeno 12 snímků zobrazujících strukturu kutikuly. Tímto postupem bylo dosaženo přímého porovnání jednotlivých režimů za stejných podmínek snímání. Pro pořízení snímků v jednotlivých režimech bylo využito jednotné přiblížení, konkrétně 600x a na všech obrázcích se jedná o tožný chlup, který pochází ze zad koně.

Ve standardním režimu bylo dosaženo základního zobrazení chlupu, struktura kutikuly byla méně výrazná a jemné detaily nebyly dostatečně ostré, jak je vidět na obr. 19.



**Obr. 19: Struktura kutikuly ve standardním režimu zobrazení [zdroj: vlastní]**

Režim odstranění odlesků umožnil potlačení světelných odrazů na povrchu chlupu, což vedlo k mírnému zpřehlednění struktury. Současně však docházelo k ztmavení obrazu a k celkovému snížení kontrastu barev (viz obr. 20).



**Obr. 20: Struktura kutikuly v režimu odstranění odlesků [zdroj: vlastní]**

Nejvýraznějšího zobrazení struktury bylo dosaženo v režimu HDR, kde došlo ke zvýraznění povrchových detailů chlupu a lepšímu rozlišení jednotlivých kutikulárních šupin, jak je patrné na obr. 21. V tomto režimu byla struktura nejlépe čitelná. Na základě tohoto porovnání byly pro další hodnocení struktury kutikuly využity snímky pořízené v režimu HDR.

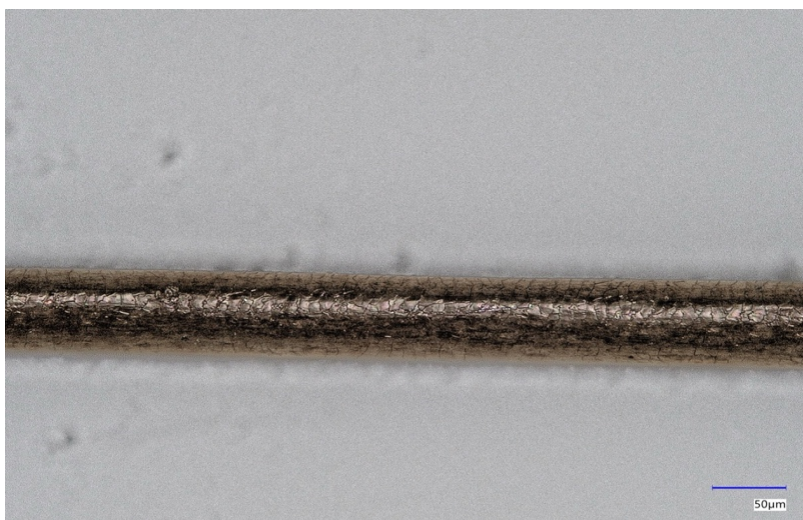


Obr. 21: Struktura kutikuly chlupu v režimu HDR [zdroj: vlastní]

### 6.1.2 Struktura kutikuly koňského chlupů

Hodnocení struktury kutikuly z koňského chlupu (vzorek č. 2) bylo provedeno na základě 4 odebraných vzorků z různých částí těla (břicho, záda, přední a zadní noha). Na všech snímcích byla pozorována šupinatá struktura kutikuly odpovídající mozaikovému typu dle uvedené klasifikace v teoretické části práce.

U vzorku z oblasti břicha byla struktura méně zřetelná, jednotlivé šupiny byly hůře ohraničené a celkový charakter kutikuly byl méně zřetelný, Mozaikový typ kutikuly je zde patrný pouze omezeně (viz obr. 22).



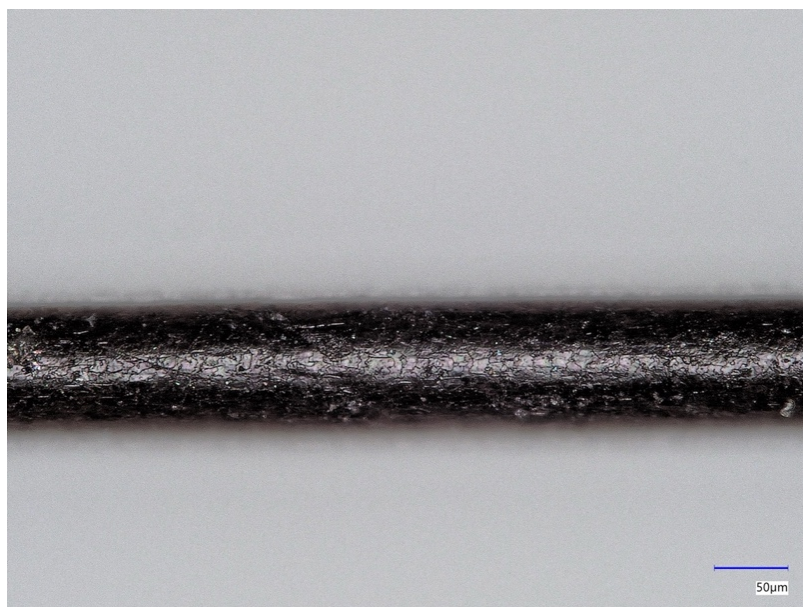
Obr. 22: Struktura kutikuly koňského chlupu (vzorek č. 2, břicho) [zdroj: vlastní]

Vzorek z oblasti zad vykazoval výraznější strukturu, jednotlivé šupiny byly lépe patrné a jejich uspořádání odpovídalo mozaikovému typu (viz obr. 23).



**Obr. 23: Struktura kutikuly koňského chlupu (vzorek č. 2, záda) [zdroj: vlastní]**

Struktura kutikuly z oblasti přední nohy vykazuje nepravidelné uspořádání s dobře viditelnými hranicemi šupin, které rovněž odpovídá mozaikovému typu (obr. 24).



**Obr. 24: Struktura kutikuly koňského chlupu (vzorek č. 2, přední noha) [zdroj: vlastní]**

Posledním posuzovaným vzorkem je vzorek chlupu ze zadní nohy koně (obr. 25). Tento vzorek má místy méně zřetelnou strukturu, avšak typ kutikuly zůstává stejný jako

u předchozích vzorků a jedná se tedy o mozaikový typ. Z obr. 25 je dále patrné, že na rozdíl od dříve analyzovaných vzorků přirozeně tmavých chlupů se jedná o přirozeně světlý chlup.



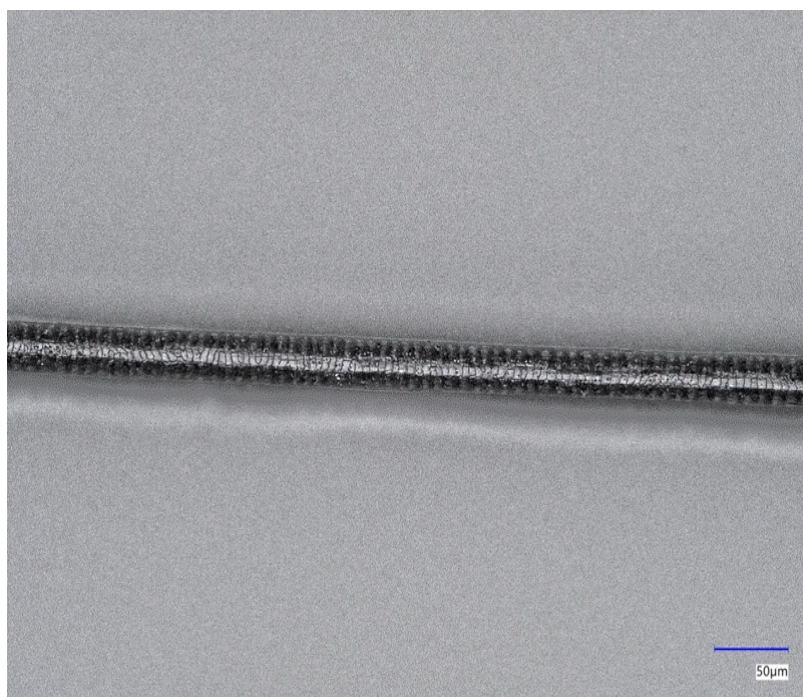
**Obr. 25: Struktura kutikuly koňského chlupu (vzorek č. 2, zadní noha) [zdroj: vlastní]**

Celkově lze konstatovat, že neohledně na odběrové místo a přirozenou barevnost vykazují všechny vzorky koňského chlupu stejný mozaikový typ struktury. Jednotlivé zhoršené pozorovací rysy mohou být dány kvalitou snímku nebo také ovlivněny poškozením chlupu.

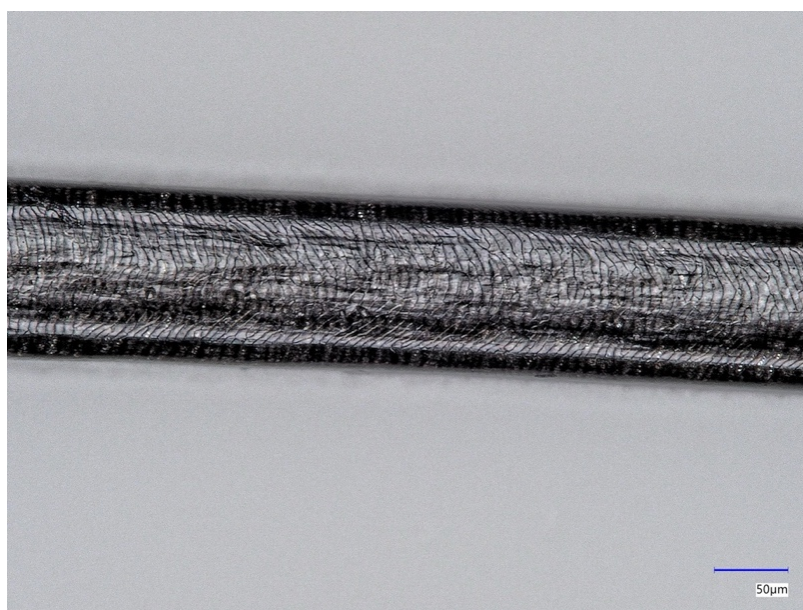
### **6.1.3 Struktura kutikuly králíčích chlupů**

Struktura králíčího chlupu byla hodnocena u vzorku č. 10 na základě vzorků odebraných ze 4 různých částí těla (břicho, záda, přední a zadní noha). Na všech sledovaných snímcích byly pozorovány šupiny kutikuly odpovídající pruhovanému typu.

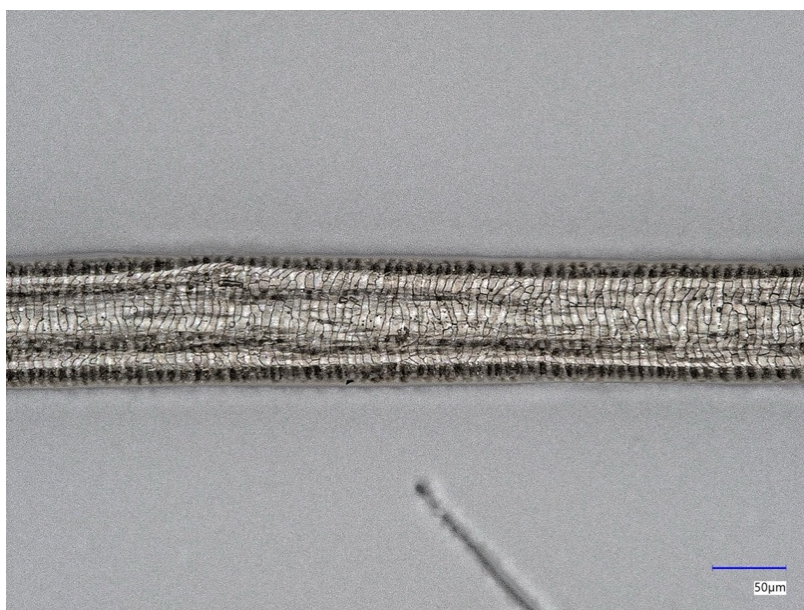
U vzorku z břicha je kutikula méně zřetelná, jednotlivé šupiny jsou hůře rozlišitelné, ale i přesto je zřejmé že se jedná o pruhovaný typ kutikuly (viz obr. 26). Tyto zhoršené pozorovací podmínky budou pravděpodobně přímo souviset s velikostí zkoumaného chlupu.



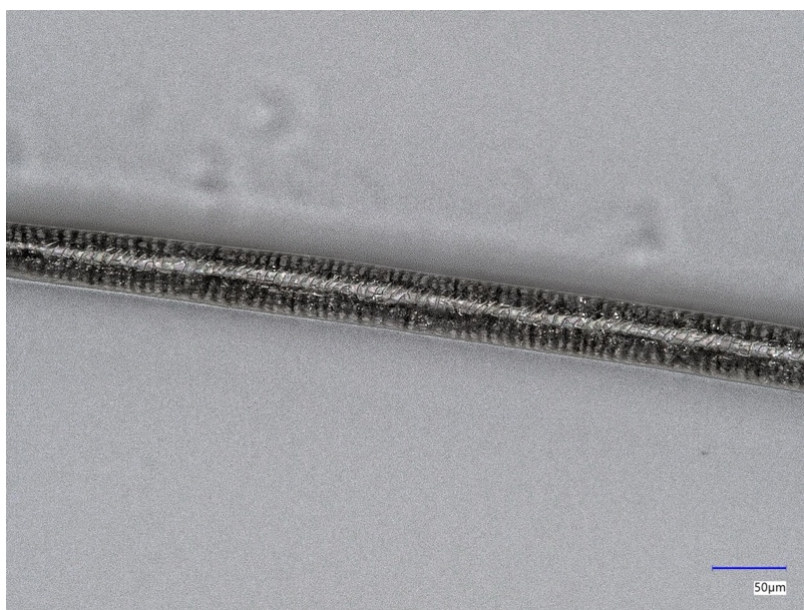
**Obr. 26: Struktura kutikuly králičího chlupu (vzorek č. 10, břicho) [zdroj: vlastní]**  
Při pozorování vzorku odebraného ze zad králíka byla struktura výraznější, jednotlivé šupiny jsou dobře viditelné a struktura odpovídala pruhovanému typu, jak je patrné z obr. 27.



**Obr. 27: Struktura kutikuly králičího chlupu (vzorek č. 10, záda) [zdroj: vlastní]**  
Vzorek odebraný z přední končetiny vykazoval stejný charakter struktury, přičemž jednotlivé šupiny byly poměrně dobře čitelné a jednalo se o pruhovaný typ (obr. 28).



**Obr. 28: Struktura kutikuly králičího chlupu (vzorek č. 10, přední noha) [zdroj: vlastní]**  
U vzorku ze zadní končetiny je struktura místy méně zřetelná, avšak zůstal zachován stejný typ struktury jako u předchozích vzorků (obr. 29).

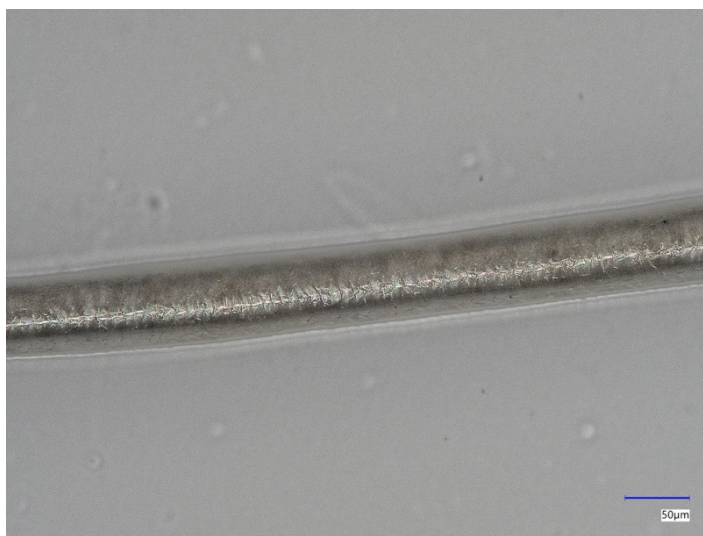


**Obr. 29: Struktura kutikuly králičího chlupu (vzorek č. 10, zadní noha) [zdroj: vlastní]**  
Na závěr lze konstatovat, že kutikula králičího chlupu odpovídá pruhovanému typu s mírnou variabilitou, která je závislá na místě odběru a kvalitě snímku.

#### 6.1.4 Struktura kutikuly psích chlupů

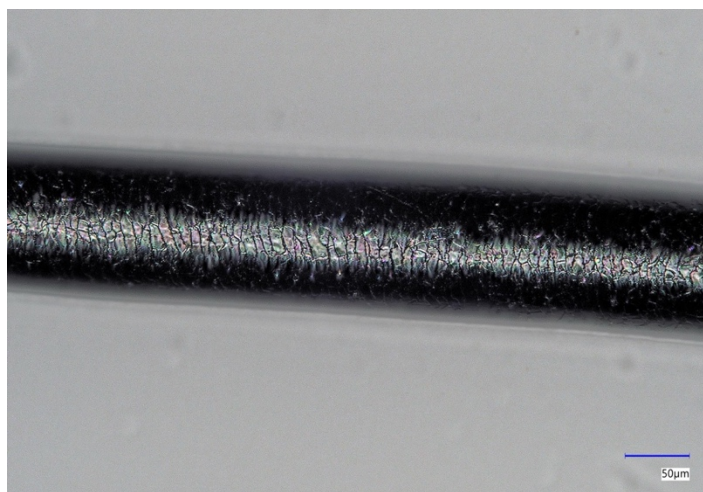
Struktura psího chlupu je hodnocena u vzorku č. 14 na základě odebraných vzorků ze 4 různých částí těla (břicho, záda, přední a zadní noha). Na všech 4 snímcích byly pozorovány šupiny kutikuly odpovídající mozaikovému typu.

Pro vzorek z oblasti břicha je z obr. 30 patrné, že kutikula je méně zřetelná, jednotlivé šupiny jsou hůře rozlišitelné, ale i přesto je zřejmé, že se jedná o mozaikový typ. Tyto zhoršené pozorovací schopnosti mohou být způsobeny jak kvalitou snímku, tak i vlastnostmi chlupu.



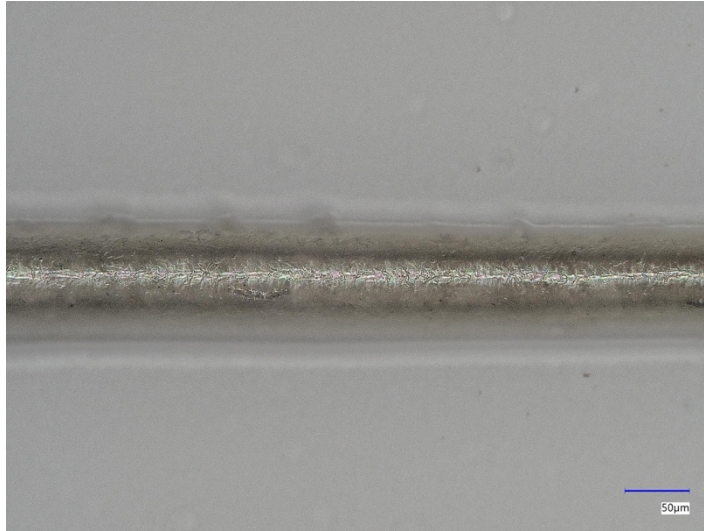
**Obr. 30: Struktura kutikuly psího chlupu (vzorek č. 14, břicho) [zdroj: vlastní]**

Při pozorování vzorku odebraného ze zad byla struktura výraznější, jednotlivé šupiny jsou dobře viditelné a jejich uspořádání odpovídá mozaikovému typu (obr. 31).



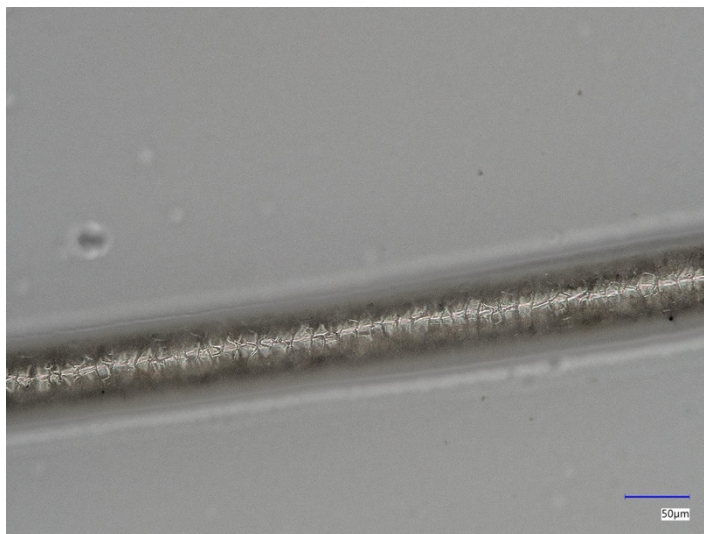
**Obr. 31: Struktura kutikuly psího chlupu (vzorek č. 14, záda) [zdroj: vlastní]**

Vzorek odebraný z přední nohy měl strukturu méně výraznou, jednotlivé šupiny jsou hůře zřetelné, přesto lze rozeznat jejich nepravidelné uspořádání odpovídající mozaikovému typu (obr. 32).



**Obr. 32: Struktura kutikuly psiho chlupu (vzorek č. 14, přední noha) [zdroj: vlastní]**

U vzorku ze zadní nohy je struktura opět zřetelnější, jednotlivé šupiny jsou dobře rozlišitelné a rovněž odpovídají mozaikovému typu (obr. 33).



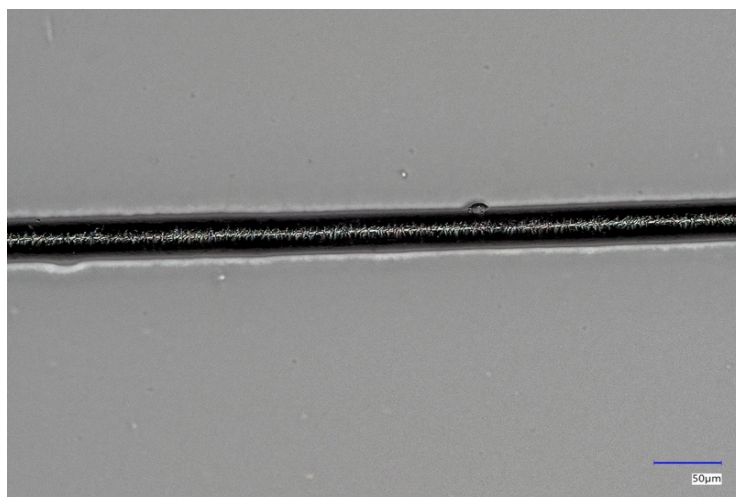
**Obr. 33: Struktura kutikuly psiho chlupu (vzorek č. 14, zadní noha) [zdroj: vlastní]**

Lze tedy konstatovat, že u všech sledovaných částí těla psa byl pozorován mozaikový typ kutikuly, přičemž nejlépe byla tato struktura patrná u vzorků ze zad a zadní končetiny.

### 6.1.5 Struktura kutikuly kočičích chlupů

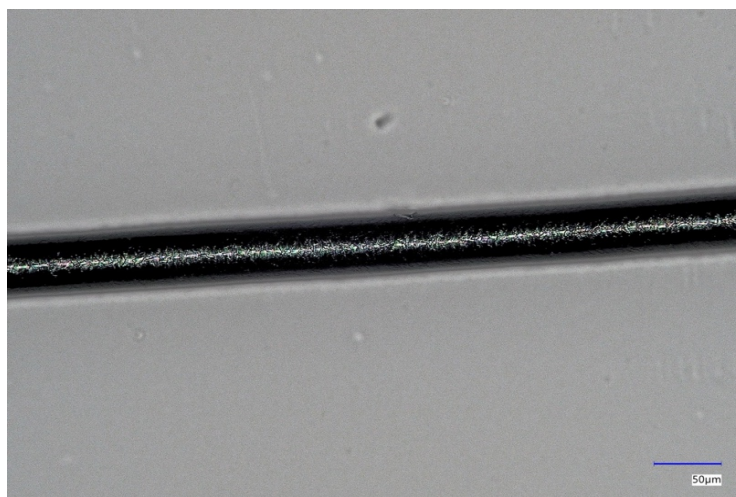
Struktura kočičího chlupu byla hodnocena u vzorku č. 17 na základě 4 odebraných vzorků z různých částí těla (břicho, záda, přední a zadní noha). Na všech sledovaných místech byly pozorovány šupiny kutikuly odpovídající nepravidelně vlnitému typu.

Při pozorování snímku odebraného z oblasti břicha byla kutikula méně zřetelná, jednotlivé šupiny však jsou při bližším pozorování patrné. Struktura působila jemně, místy méně výrazně, což může souviset s menší tloušťkou chlupu nebo kvalitou zobrazení. Přesto bylo zachováno nepravidelně vlnité uspořádání šupin (viz obr. 34).



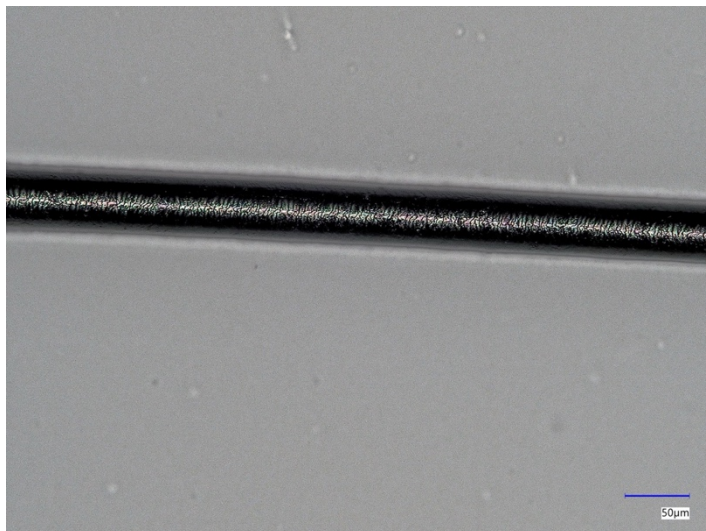
Obr. 34: Struktura kutikuly kočičího chlupu (vzorek č. 17, břicho) [zdroj: vlastní]

Při srovnání vzorku ze zad byla struktura kutikuly výraznější. Jednotlivé šupiny byly lépe rozlišitelné a jejich nepravidelný průběh byl zřetelnější. Celkový charakter povrchu chlupu odpovídal stejnému typu jako u předchozího vzorku (obr. 35).



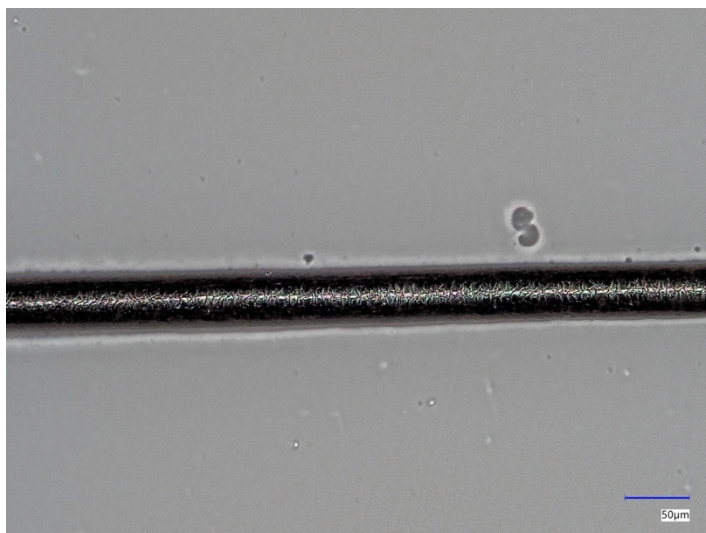
Obr. 35: Struktura kutikuly kočičího chlupu (vzorek č. 17, záda) [zdroj: vlastní]

Vzorek z přední nohy vykazoval kutikulu dobře patrnou, přičemž šupiny vykazovaly podobnou velikost i tvar jako u předchozího pozorování. Struktura je dobře patrná a zobrazená na obr. 36.



**Obr. 36: Struktura kutikuly kočičího chlupu (vzorek č. 17, přední noha) [zdroj: vlastní]**

Podobné charakteristiky byly pozorovány i u vzorku ze zadní nohy, kde byla kutikula místy méně zřetelná, avšak stále dobře identifikovatelná. Struktura odpovídá ostatním pozorovaným vzorkům. Struktura ze zadní nohy je vidět na obr. 37.



**Obr. 37: Struktura kutikuly kočičího chlupu (vzorek č. 17, zadní noha) [zdroj: vlastní]**

Celkově lze konstatovat, že u všech sledovaných vzorků kočičího chlupu byl pozorován nepravidelně vlnitý typ kutikuly. Rozdíly mezi jednotlivými částmi těla se projevily především ve viditelnosti a kontrastu šupin, což může být ovlivněno jak velikostí chlupu, tak i kvalitou zobrazení nebo chlupu.

### **6.1.6 Porovnání kutikulárních struktur jednotlivých druhů**

U koně byl ve všech případech pozorován mozaikový typ kutikuly. Šupiny byly poměrně výrazné, dobře rozlišitelné a nepravidelně uspořádané. Kutikula tohoto typu působila ve srovnání s ostatními druhy čitelně a byla nejlépe patrná.

Struktura kutikuly králíka byla charakteristická pravidelnějším uspořádáním šupin, které odpovídalo pruhovanému typu. Šupiny byly orientovány podél podélné osy chlupu a vytvářely pravidelný, liniový vzor. V některých případech byla struktura méně patrná, což mohlo být způsobeno menším průřezem chlupu.

Chlupy psa vykazovaly mozaikový typ kutikuly, podobně jako chlupy koně. Ve srovnání s koňským chlupem byla struktura méně výrazná a šupiny lehce jemnější. Přesto bylo možné dobře rozlišit vzájemné uspořádání šupin a určit jejich typ.

U kočky byl identifikován nepravidelně vlnitý typ kutikuly. Struktura byla relativně jemná, avšak ve většině případů dobře pozorovatelná.

Při vzájemném porovnání lze konstatovat, že jednotlivé druhy vykazují odlišné typy struktury kutikuly. U koně a psa byl pozorován mozaikový typ, u králíka byl dobře viditelný pruhovaný typ a u kočky typ nepravidelně vlnitý. Rozdíly mezi jednotlivými druhy zvířat mohou být ovlivněny jak vlastnostmi chlupu (např. jeho tloušťkou, funkcí nebo typem srsti), tak i kvalitou pořízených snímků. I přes tyto vlivy však byly mezi jednotlivými druhy pozorovány patrné rozdíly, které umožňují jejich vzájemné odlišení na základě struktury kutikuly.

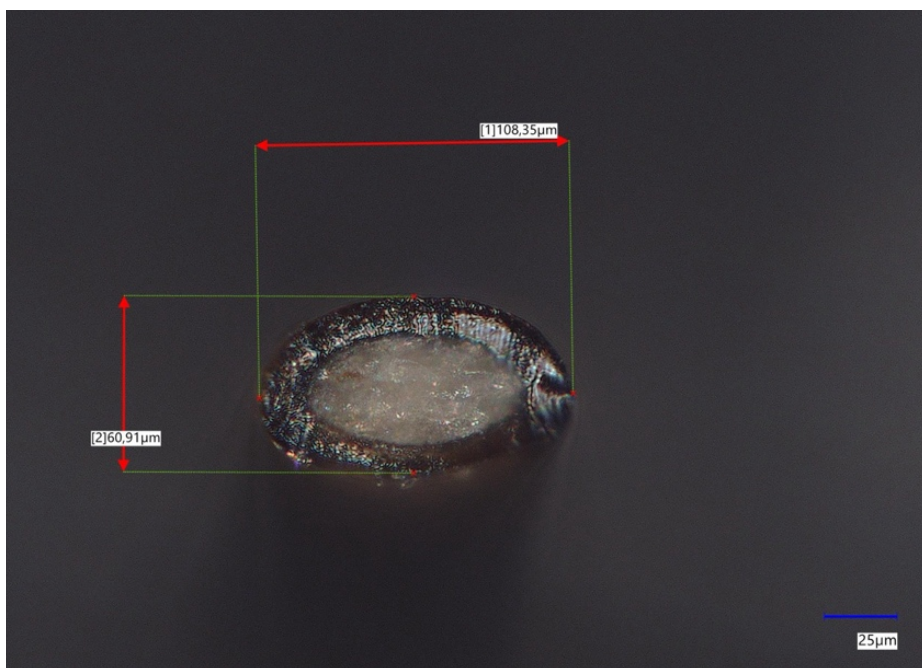
## **6.2 Analýza průřezu chlupů**

V této kapitole byla hodnocena morfologie průřezu chlupů vybraných živočichů, konkrétně koně, králíka, psa a kočky. Kapitola obsahuje pouze vybrané reprezentativní snímky zobrazující typické znaky průřezů chlupů jednotlivých druhů. Hodnocení bylo provedeno na základě mikroskopických snímků při zvětšení 1000x a doplněno o měření jednotlivých rozměrů průřezů. U každého druhu bylo analyzováno pět jedinců, přičemž vzorky byly odebrány ze čtyř různých částí těla (břicho, záda, přední a zadní noha).

Měření zahrnovalo stanovení dvou hlavních rozměrů průřezu chlupu (minimální a maximální průměr). Každé měření bylo pro jednotlivý chlup opakováno 5x a z naměřených hodnot byla následně vypočítána směrodatná odchylka. Veškeré naměřené hodnoty byly zaznamenány do tabulky v programu Microsoft Excel, která je součástí elektronické přílohy práce (příloha B). Cílem bylo popsat velikostní rozdíly mezi jednotlivými druhy, ale hlavně také identifikovat případné morfologické znaky využitelné pro jejich vzájemné rozlišení.

### **6.2.1 Průřez koňského chlupu**

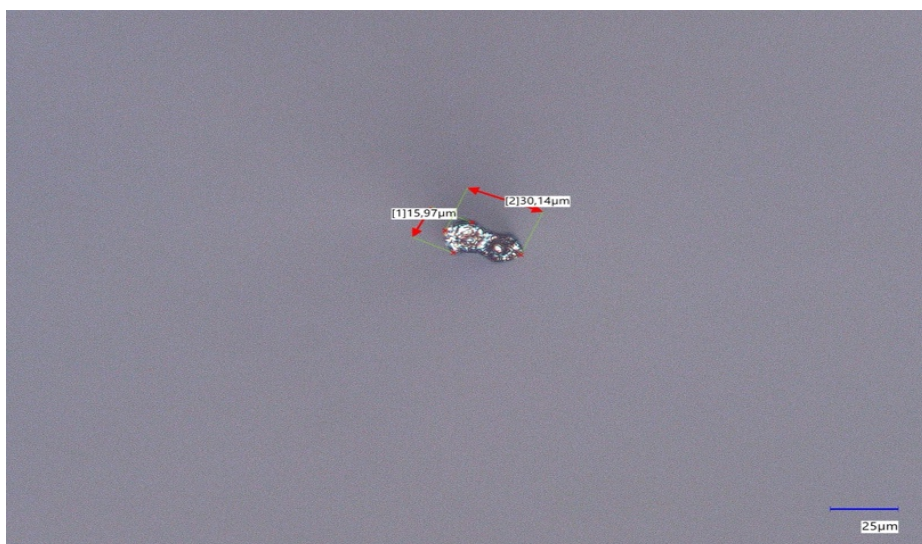
Na základě provedených měření bylo zjištěno, že chlupy koně dosahují relativně velkých průměrů, zpravidla v rozmezí přibližně 60–110  $\mu\text{m}$ . Největších hodnot bylo dosaženo u chlupů z přední a zadní nohy, zatímco chlupy z oblasti zad a břicha byly menšího průměru. Z morfologického hlediska se průřez koňského chlupu vyznačuje převážně oválným až mírně kulatým tvarem (viz obr 38).



Obr. 38: Průřez koňského chlupu ze zad [zdroj: vlastní]

### 6.2.2 Průřez králičího chlupu

U králíka byla zaznamenána výrazně vyšší variabilita naměřených hodnot. Průměr chlupu se pohyboval od přibližně 20  $\mu\text{m}$  až po zhruba 100  $\mu\text{m}$  v závislosti na konkrétním jedinci a lokalitě odběru. Zásadním zjištěním však nebyla samotná velikost, ale tvar průřezu. Na rozdíl od ostatních druhů měly chlupy králíka výrazně nepravidelný až deformovaný tvar průřezu. Struktura působí méně kompaktně, což je patrné na obr. 39.



Obr. 39: Průřez králičího chlupu z břicha [zdroj: vlastní]

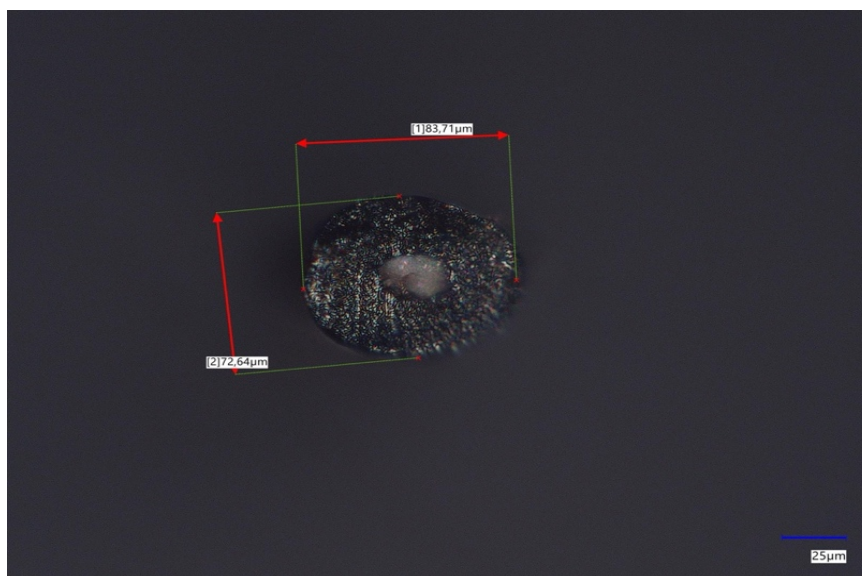
Tento rozdíl je ještě výraznější na druhém snímku, kde je patrná značná nepravidelnost tvaru průřezu, která se u ostatních zkoumaných druhů nevyskytovala (viz obr. 40).



Obr. 40: Průřez králíčího chlupu 2 ze zad [zdroj: vlastní]

### 6.2.3 Průřez psiho chlupu

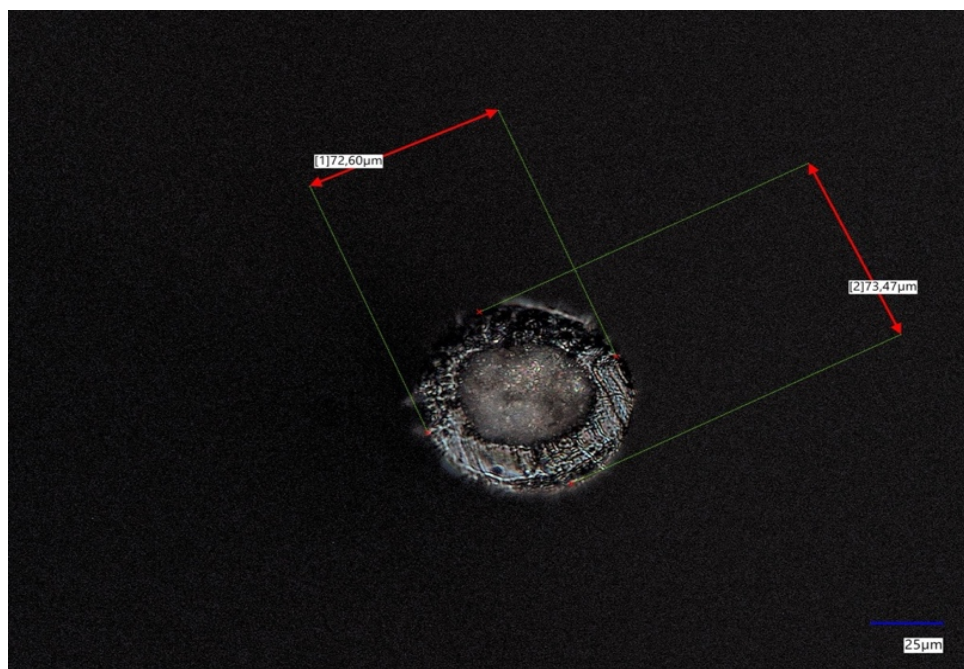
Pro psa byl zaznamenán široký rozsah hodnot průřezu chlupů, od 20  $\mu\text{m}$  do 115  $\mu\text{m}$ . Tato variabilita je pravděpodobně ovlivněna rozdílnou velikostí a typem srsti jednotlivých jedinců, která bude přímo závislá na plemeni. Tvar průřezu byl ve většině případů poměrně pravidelný, převážně kruhový až mírně oválný, jak ukazuje obr. 41.



Obr. 41: Průřez psiho chlupu z břicha [zdroj: vlastní]

#### 6.2.4 Průřez kočičího chlupu

U kočky se průměr chlupu pohyboval v rozmezí 25–90  $\mu\text{m}$ . Variabilita byla nižší než u psa, což může souviset s menší rozdílností velikosti jedinců ve srovnání se psy. Tvar průřezu byl převážně kruhový až mírně oválný, jak je vidět na obr. 42.



Obr. 42: Průřez kočičího chlupu ze zad [zdroj: vlastní]

#### 6.2.5 Porovnání průřezů

Samotný průměr chlupu vyjádřený v délkové míře se ukázal jako nedostatečně spolehlivý identifikační znak, jelikož docházelo k výraznému překryvu hodnot velikostí mezi druhy, a také k výrazné variabilitě v rámci jednotlivých druhů. Zásadním rozlišovacím znakem se ukázal tvar průřezu chlupů. Zatímco pro kočku, psa a koně byl průřez relativně pravidelný (oválný až kruhový), u králíka byl tvar průřezu nepravidelný, až deformovaný. Tento znak umožňuje spolehlivé odlišení králíčího chlupu od ostatních sledovaných druhů, a to i v případech, kdy se jednotlivé druhy překrývají z hlediska velikosti průměru. Nelze nicméně rozlišit kočku, psa a koně. Z výsledků tedy vyplývá, že samotná velikost průřezu není dostatečující pro určení druhu a pro identifikaci je tedy vhodné velikost průřezu zkombinovat s dalšími znaky (např. struktura kutikuly, typ meduly).

### 6.3 Medula chlupů

V této kapitole byla hodnocena struktura meduly chlupu na základě mikroskopických snímků pořízených digitálním mikroskopem při zvětšení 800x. Některé chlupy bylo potřeba zesvětlit peroxidem, jak je popsáno v metodice práce, konkrétně v kapitole o přípravě vzorků. Pro dosažení lepšího zobrazení vnitřní struktury chlupu bylo využito podložní

sklíčko v kombinaci s použitím glycerolu a krycího sklíčka. Tento postup umožnil zobrazení vnitřní struktury a její následné vizuální hodnocení. U každého druhu zvířete byly analyzovány vzorky odebrané ze čtyř různých částí těla stejně jako u struktury kutikuly (břicho, záda, přední a zadní noha). V této kapitole jsou uvedeny pouze vybrané vzorky (od každého druhu jeden jedinec). Kompletní soubor obrázků pro každého jedince je součástí atlasu, který je přiložen v elektronické příloze k této práci.

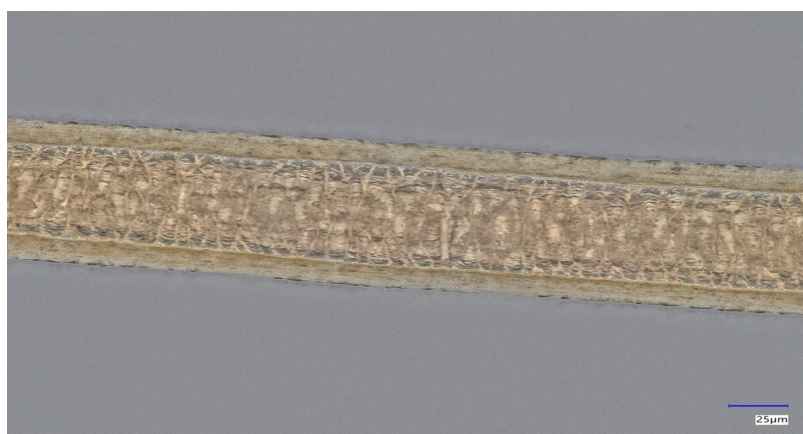
### 6.3.1 Medula koňských chlupů

U vzorků z chlupů koně byla struktura meduly hodnocena na základě pořízených snímků z různých částí těla. U chlupu odebraného z oblasti břicha byla medula zřetelně patrná, tvořena tmavším, relativně souvislým pruhem uloženým ve střední části chlupu (viz obr. 43).



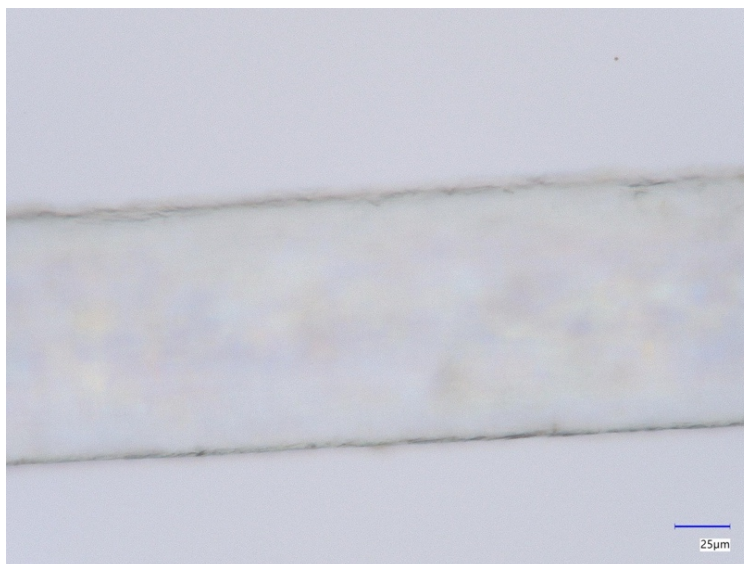
**Obr. 43: Struktura meduly koňského chlupu (vzorek č. 2, břicho) [zdroj: vlastní]**

Vzorek odebraný ze zad měl medulu rovněž dobře patrnou, přičemž její struktura působila výrazněji a místy i kompaktněji než u chlupu odebraného z břicha. Medula tvoří útvar probíhající podél osy chlupu (viz obr. 44).



**Obr. 44: Struktura meduly koňského chlupu (vzorek č. 2, záda) [zdroj: vlastní]**

Naopak u chlupů odebraných z přední a zadní nohy nebyla medula ve sledovaných snímcích vůbec přítomná, jak je vidět na obr. 45 a obr. 46. Tato anomálie se objevila u všech pozorovaných chlupů pocházejících z přední a zadní nohy bez ohledu na konkrétního jedince.



**Obr. 45: Struktura meduly koňského chlupu (vzorek č. 2, přední noha) [zdroj: vlastní]**



**Obr. 46: Struktura meduly koňského chlupu (vzorek č. 2, zadní noha) [zdroj: vlastní]**

### 6.3.2 Medula králíčích chlupů

Pro vzorky králíčích chlupů byla struktura meduly hodnocena na základě snímků z různých částí těla. U chlupu odebraného z oblasti břicha byla medula dobře patrná, přičemž měla charakter kontinuální struktury tvořené pravidelným uspořádáním segmentů (viz obr. 47).



**Obr. 47: Struktura meduly králíčiho chlupu (vzorek č. 7, břicho) [zdroj: vlastní]**

Podobný charakter byl pozorován i u chlupu ze zad, kde medula byla rovněž kontinuální, místy s výraznější segmentací jednotlivých částí (viz obr. 48).



**Obr. 48: Struktura meduly králíčiho chlupu (vzorek č. 7, záda) [zdroj: vlastní]**

Chlup odebraný z přední nohy vykazoval stejnou formu struktury jako chlupy odebrané z břicha a zad. Medula byla přítomná, avšak méně výrazná a jemnější, přičemž její charakter byl stále kontinuální (viz obr. 49).



**Obr. 49: Struktura meduly králíčího chlupu (vzorek č. 7, přední noha) [zdroj: vlastní]**

Naopak u chlupu ze zadní nohy byla medula přerušovaná, tvořená oddělenými částmi bez souvislého průběhu (viz obr. 50).



**Obr. 50: Struktura meduly králíčího chlupu (vzorek č. 7, zadní noha) [zdroj: vlastní]**

### **6.3.3 Medula psích chlupů**

Pro vzorky chlupů psa byla medula hodnocena na základě snímků pořízených z různých částí těla. U chlupu odebraného z oblasti břicha byla medula výrazně vyvinutá a zaujímala podstatnou část celkového průměru chlupu. Její charakter odpovídal kontinuálnímu typu (viz obr. 51).



**Obr. 51: Struktura meduly psího chlupu (vzorek č. 14, břicho) [zdroj: vlastní]**

Podobný charakter byl pozorován i u chlupu ze zad, kde byla medula rovněž výrazná a souvislá po celé sledované délce chlupu (viz obr. 52).



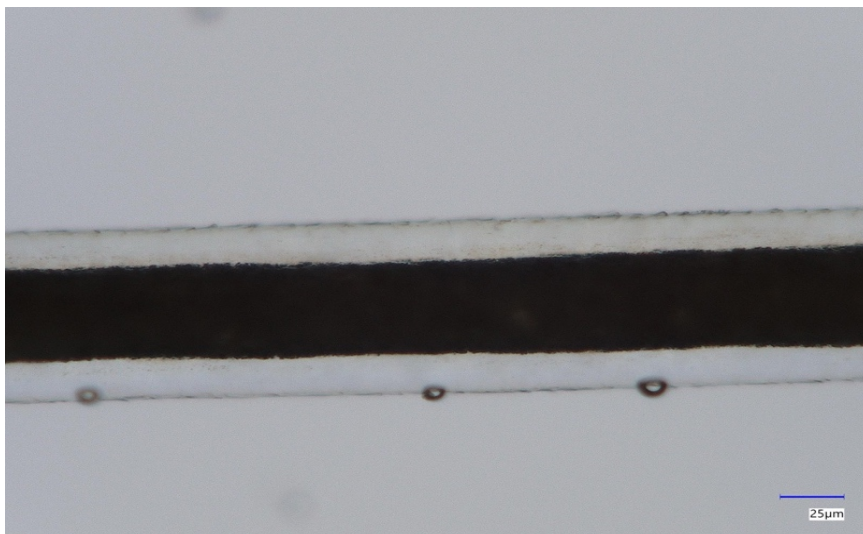
**Obr. 52: Struktura meduly psího chlupu (vzorek č. 14, záda) [zdroj: vlastní]**

U chlupu odebraného z přední nohy byla medula přítomná, avšak méně výrazná, což mohlo být způsobeno snímkem, který je pořízen u konce chlupu. Přesto ji bylo možné rozeznat a určit, že se jedná o kontinuální typ (viz obr. 53).



**Obr. 53: Struktura meduly psího chlupu (vzorek č. 14, přední noha) [zdroj: vlastní]**

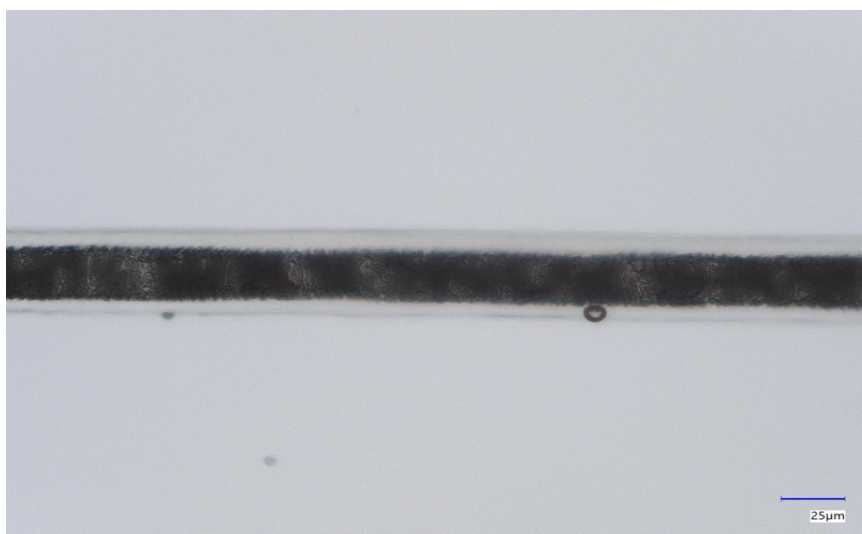
Chlup odebraný ze zadní nohy měl medulu rovněž přítomnou, velmi výraznou a zabírala stejně jako u chlupu z břicha výraznou část chlupu. Stejně jako u předchozích vzorků se jedná o kontinuální typ meduly (viz obr. 54).



**Obr. 54: Struktura meduly psího chlupu (vzorek č. 14, zadní noha) [zdroj: vlastní]**

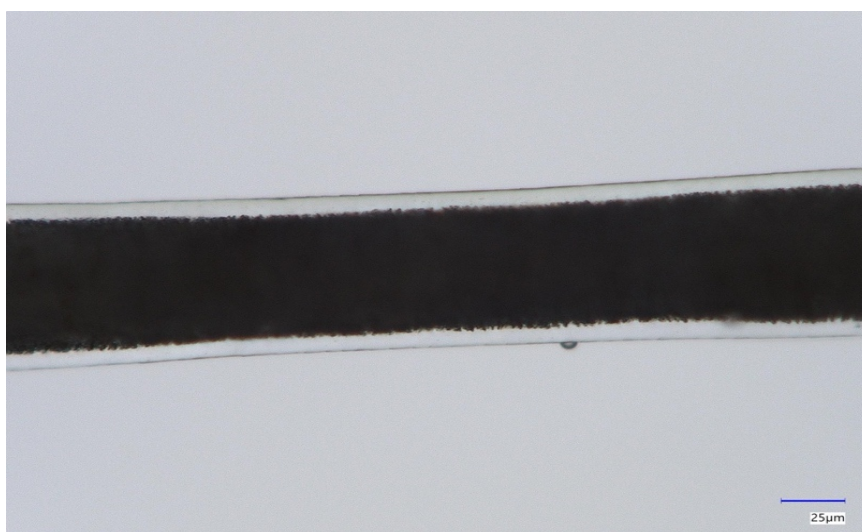
#### **6.3.4 Medula kočičích chlupů**

U vzorků chlupů kočky byla struktura meduly hodnocena na základě snímků z různých částí těla. Na chlupu odebraném z břicha byla medula výrazně vyvinutá a zaujímala velkou část vnitřního prostoru chlupu. Struktura odpovídala kontinuálnímu typu (viz obr. 55).



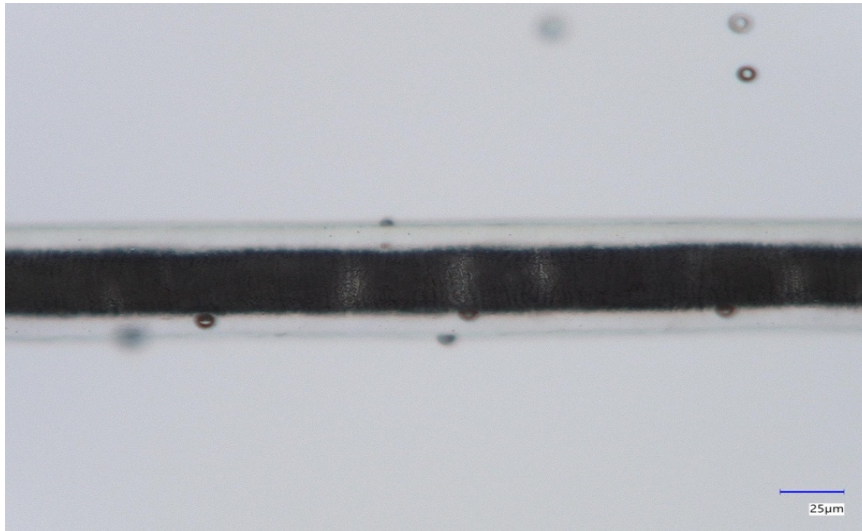
**Obr. 55: Struktura meduly kočičího chlupu (vzorek č. 19, břicho) [zdroj: vlastní]**

Chlup ze zad měl medulu rovněž velmi výraznou, souvislou a dobře patrnou po celé délce chlupu. I v tomto případě se jedná o kontinuální typ (viz obr. 56).



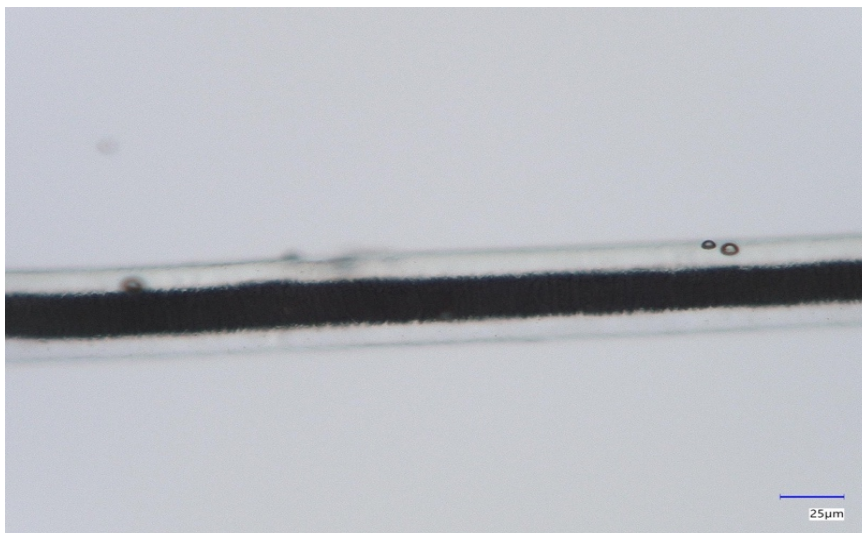
**Obr. 56: Struktura meduly kočičího chlupu (vzorek č. 19, záda) [zdroj: vlastní]**

Chlup odebraný z přední nohy měl medulu přítomnou a místy bylo možné vidět jemnou segmentaci, celkově se však stále jedná o kontinuální typ (viz obr 57).



**Obr. 57: Struktura meduly kočičího chlupu (vzorek č. 19, přední noha) [zdroj: vlastní]**

U chlupu ze zadní nohy byla medula rovněž přítomná, souvislá a výrazná, bez přerušení (viz obr. 58).



**Obr. 58: Struktura meduly kočičího chlupu (vzorek č. 19, zadní noha) [zdroj: vlastní]**

### **6.3.5 Porovnání meduly jednotlivých druhů**

Při porovnání meduly mezi jednotlivými druhy (kůň, králík, pes, kočka) byly pozorovány rozdíly jak ve způsobu uspořádání, tak v její výraznosti v rámci chlupu.

U koně byla medula méně výrazná a ve většině případů nebyla souvislá po celé délce chlupu. Často působila spíše fragmentovaně anebo mohla být místy hůře patrná, v případě chlupů z přední a zadní nohy úplně chyběla.

Králík měl medulu velmi výraznou a charakteristickou svou strukturou, která byla tvořena pravidelně uspořádanými segmenty. Tento typ meduly byl výrazně odlišný od ostatních sledovaných druhů a dobře identifikovatelný.

Pes měl medulu ve všech sledovaných lokalitách převážně kontinuální. Její výraznost se lišila v závislosti na místě odběru, pravděpodobně v souvislosti s velikostí chlupu a rozdíly mezi plemeny, avšak celkově si zachovávala kontinuální tvar bez výrazného členění.

U kočky byla medula rovněž kontinuální, avšak ve srovnání se psem byla výraznější a lišila se částí kterou zabírala v poměru k celé šířce chlupu. V některých případech bylo možné pozorovat náznaky jemné fragmentace, ty však nenarušili celkový kontinuální dojem.

Z hlediska mezidruhového srovnání lze říct, že nejvýraznější a strukturálně nejodlišnější medula byla pozorována u králíka. Naopak u psa a kočky rozhodoval poměr vizuální šířky meduly oproti celkové šířce chlupu.

## 6.4 Barva chlupů

V této kapitole jsou uvedeny reprezentativní vzorky pro hodnocení barvy chlupů. U jednotlivých chlupů byl zohledněn druh zvířete, ale i místo odběru. Hodnocení bylo zaměřeno na odstín chlupu a jeho rovnoměrnost v průběhu celé délky.

U tmavého chlupu (pes, vzorek ze zad) byla pozorována výrazná, téměř černá barva, která byla rovnoměrně rozložena po celém chlupu bez zřetelných změn odstínu (viz obr. 59).



**Obr. 59: Tmavý chlup (pes, záda) [zdroj: vlastní]**

Světlý chlup (pes, přední noha) měl nízký obsah pigmentu, což se projevilo bílým zbarvením. V průběhu délky chlupu nebyly patrné výraznější změny odstínu (viz obr. 60).



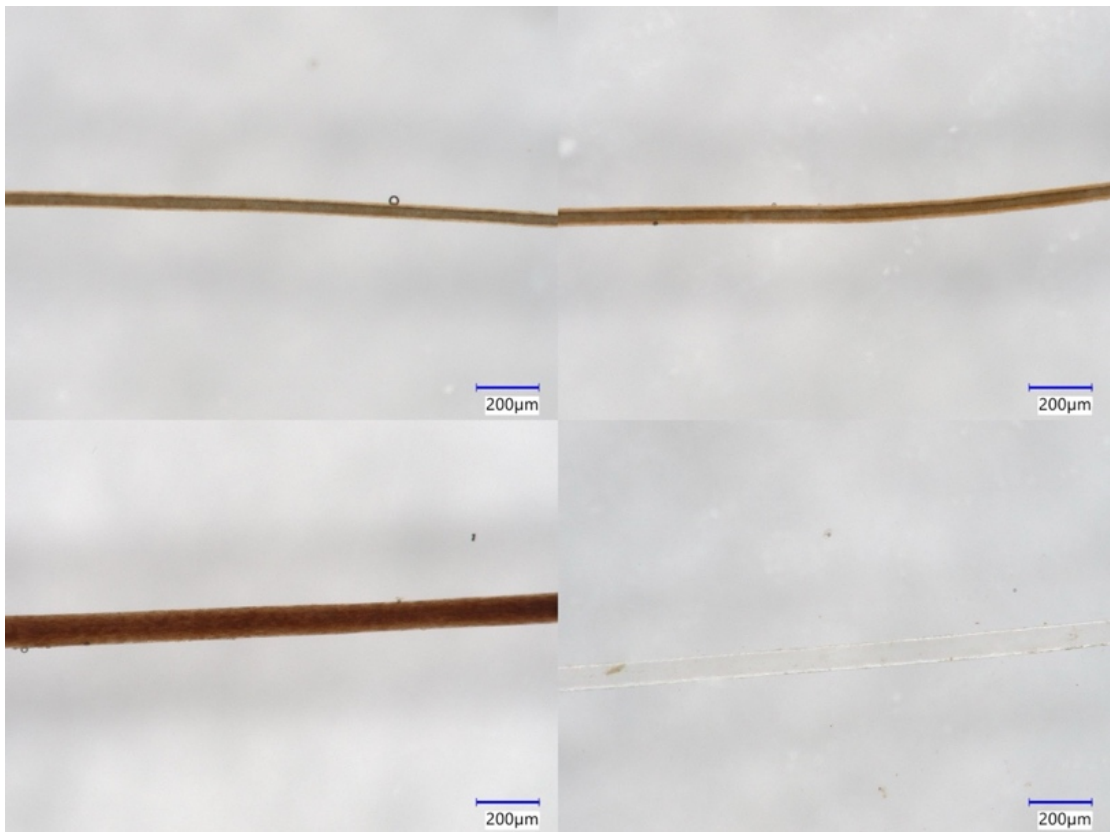
**Obr. 60: Světlý chlup (pes, přední noha) [zdroj: vlastní]**

Pro hnědý chlup (kůň, přední noha) byla pozorována středně intenzivní hnědá barva s mírnými změnami odstínu podél délky chlupu (viz obr. 61).



**Obr. 61: Hnědý chlup (kůň, přední noha) [zdroj: vlastní]**

Pro ověření zachování stejných podmínek snímání byl využit nástroj pro porovnání více snímků v rámci použitého softwaru. Na základě tohoto porovnání bylo ověřeno, že nedošlo ke změně intenzity osvětlení, což bylo ověřeno na základě shodného odstínu pozadí jednotlivých snímků. Současně toto porovnání umožnilo přímé vizuální porovnání zbarvení jednotlivých chlupů (obr. 62).



**Obr. 62: Porovnání barev (chlup psa – vlevo nahoře, chlup koně – vlevo dole, chlup kočky – vpravo nahoře, chlup – koně vpravo dole) [zdroj: vlastní]**

Na základě provedeného porovnání lze říct, že zbarvení chlupů se liší zejména odstínem a jeho rovnoměrností v průběhu chlupu. Tmavé chlupy vykazovaly jednotlivé zbarvení bez výraznějších změn. U hnědých chlupů byly pozorovány mírné změny odstínu. Jednotné nastavení osvětlení umožnilo objektivní porovnání jednotlivých vzorků bez zkreslení způsobeného změnou zobrazovacích podmínek.

## **6.5 Návrh postupu pro rychlou analýzu chlupů pomocí digitální mikroskopie**

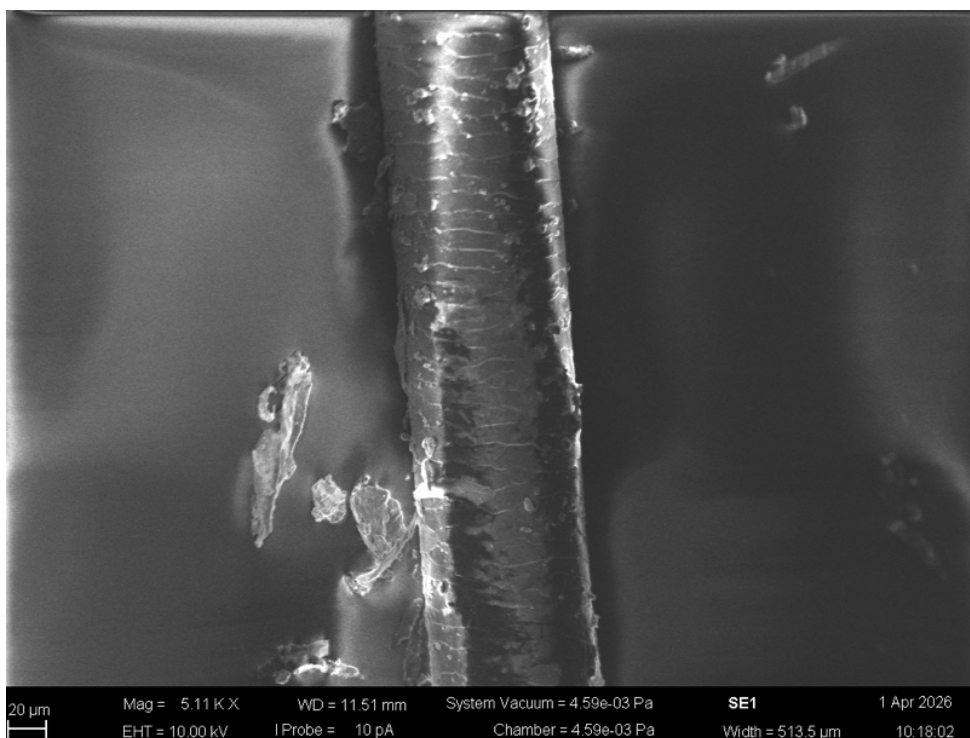
Na základě získaných poznatků během experimentálního měření byl vytvořen návrh postupu pro rychlou a jednotnou analýzu chlupů pomocí digitální mikroskopie. Postup zahrnuje přípravu vzorků pro pozorování kutikuly, meduly, průřezu i barvy chlupu. Jednotlivé kroky byly sestaveny tak, aby umožnily rychlé a opakovatelné vyhodnocení základních morfologických znaků. Kompletní checklist postupu je uveden v elektronické příloze C.

## 7 Výsledky analýzy referenčních vzorků pomocí rastrovací elektronové mikroskopie

Pomocí rastrové elektronové mikroskopie byly analyzovány referenční vzorky chlupů jednotlivých druhů, konkrétně koně, králíka, psa a kočky. Pro každý druh byl zvolen jeden chlup odebraný ze zad od vybraného jedince.

### 7.1 Pozorování kutikuly koňského chlupu pomocí SEM

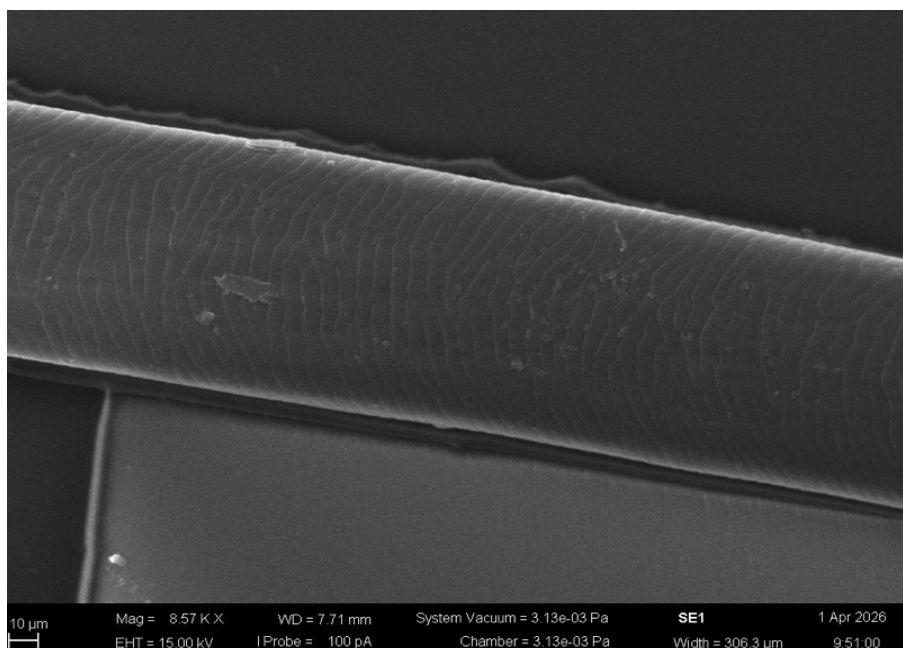
Na snímku koňského chlupu byla pozorována struktura odpovídající mozaikovému typu. Jednotlivé šupiny byly pravidelně uspořádané, s mírným překrýváním (viz obr. 63).



Obr. 63: Struktura kutikuly koňského chlupu – SEM [zdroj: vlastní]

### 7.2 Pozorování kutikuly králičího chlupu pomocí SEM

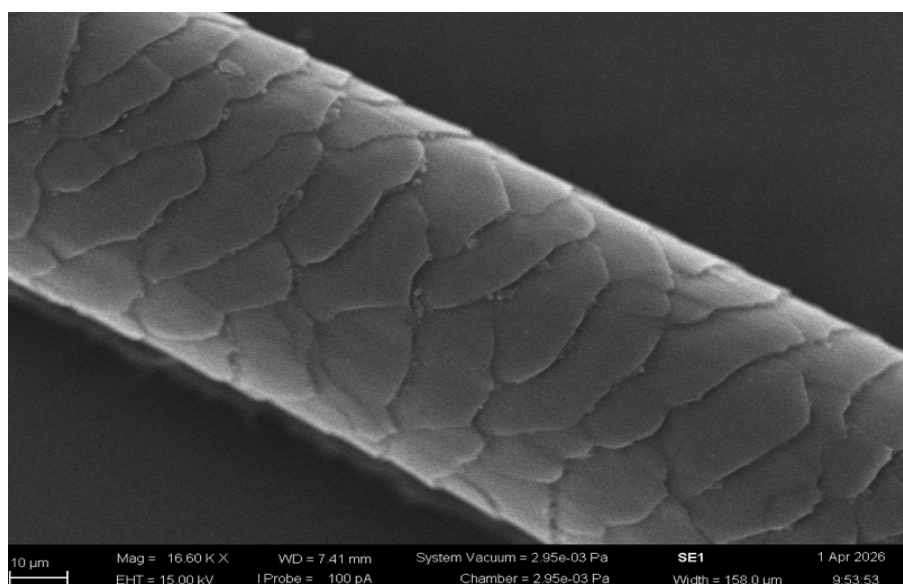
U králičího chlupu byla pozorována struktura odpovídající pruhovanému typu kutikuly (viz obr. 64). Šupiny byly zřetelně oddělené, pravidelně uspořádané.



Obr. 64: Struktura kutikuly králičího chlupu – SEM [zdroj: vlastní]

### 7.3 Pozorování kutikuly psího chlupu pomocí SEM

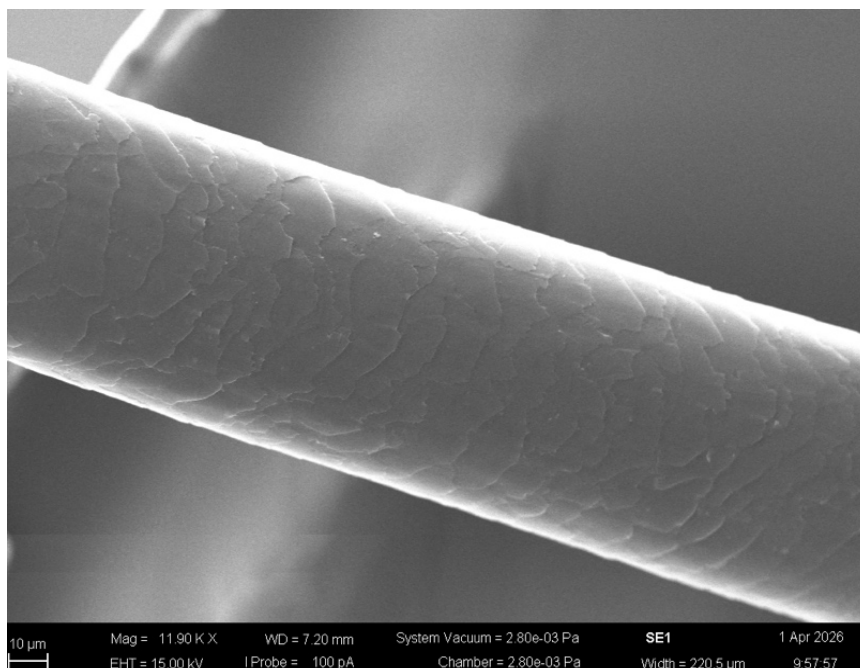
Psí chlup vykazoval styl kutikuly odpovídající mozaikovému typu (viz obr. 65). Jednotlivé šupiny vykazovaly variabilitu ve tvaru i velikosti a jejich uspořádání nebylo zcela pravidelné.



Obr. 65: Struktura kutikuly psího chlupu – SEM [zdroj: vlastní]

## 7.4 Pozorování kutikuly kočičího chlupu pomocí SEM

Na snímku kočičího chlupu byla pozorována jemná struktura kutikuly odpovídající nepravidelně vlnitému tvaru (obr. 66). Jednotlivé šupiny nebyly tak pravidelně uspořádané jako u mozaikového typu a jejich průběh je více nepravidelný.



Obr. 66: Struktura kutikuly kočičího chlupu – SEM [zdroj: vlastní]

## 7.5 Výsledky analýzy referenčních vzorků pomocí SEM

Analýza referenčních vzorků pomocí SEM umožnila detailní zobrazení povrchové struktury chlupů. Ve srovnání s digitální mikroskopií byly získané snímky výrazně detailnější a umožňovaly přesnější identifikaci jednotlivých šupin kutikuly a jejich uspořádání. Přestože rastrovací elektronová mikroskopie poskytuje výrazně vyšší rozlišení i detail povrchových struktur, bylo zjištěno, že pro účely této práce nebyla takto vysoká míra detailu nezbytná. Struktura kutikuly byla již dostatečně zřetelná při použití digitálního mikroskopu, který umožnil spolehlivou interpretaci jednotlivých typu kutikuly.

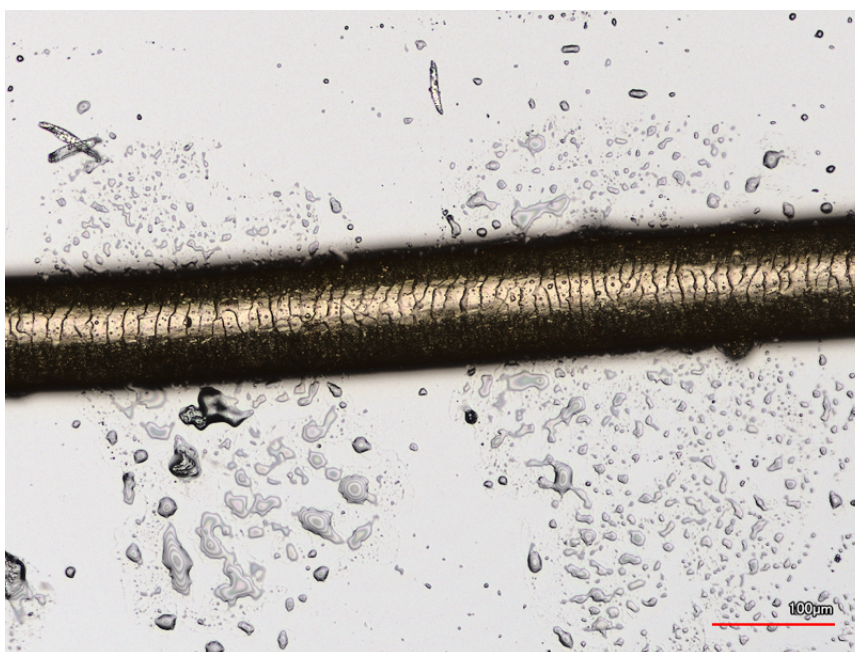
Výsledky získané pomocí SEM odpovídaly pozorováním provedeným pomocí digitálního mikroskopu. U všech sledovaných druhů byly potvrzeny stejné typy kutikuly, konkrétně pruhovaný typ pro králíka, mozaikový typ pro koně a psa a nepravidelně vlnitý pro kočku. Pozorování pomocí SEM tedy sloužilo jen jako ověřovací metoda, která potvrdila správnost interpretace pozorovaných výsledků pomocí digitálního mikroskopu.

## 8 Výsledky analýzy referenčních vzorků pomocí laserového skenovacího mikroskopu

Pomocí laserového mikroskopu byly analyzovány 4 referenční vzorky chlupů, konkrétně se jednalo o jeden chlup od každého druhu (kůň, králík, pes a kočka). Ve srovnání s digitální mikroskopií bylo dosaženo mírně lepšího kontrastu struktury, avšak celková úroveň detailu byla nižší než u rastrové elektronové mikroskopie.

### 8.1 Pozorování kutikuly koňského chlupu pomocí laserového mikroskopu

Na snímku koňského chlupu byla pozorována kutikula odpovídající mozaikovému tvaru (viz obr. 67). Jednotlivé šupiny byly zřetelné po celé délce chlupu. Struktura působila kompaktně, přičemž okraje šupin nebyly ostré. V některých částech bylo možné pozorovat mírné rozdíly v kontrastu, které souvisely s nerovností povrchu chlupu.

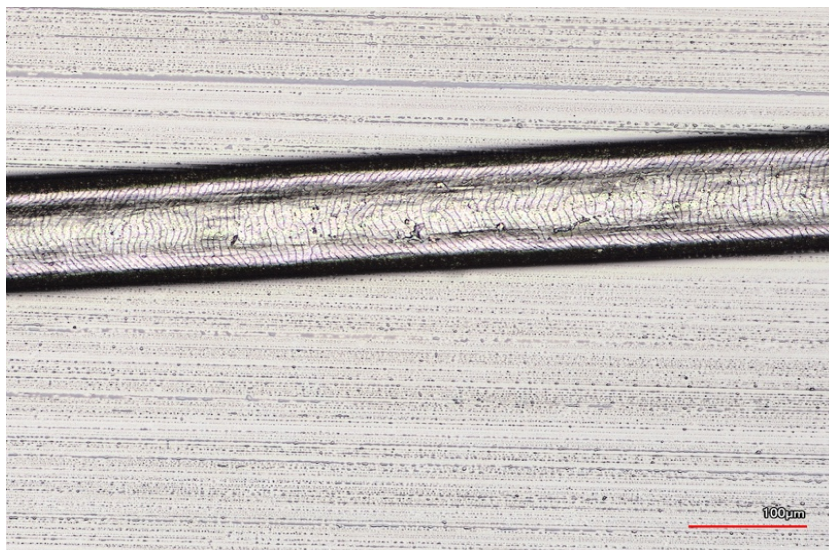


Obr. 67: Struktura kutikuly koňského chlupu – laserový mikroskop [zdroj: vlastní]

### 8.2 Pozorování kutikuly králičího chlupu pomocí laserového mikroskopu

U králičího chlupu byla velmi výrazná a dobře pozorovatelná struktura odpovídající pruhovanému typu kutikuly (obr. 68) Jednotlivé šupiny byly pravidelně uspořádány v podélném

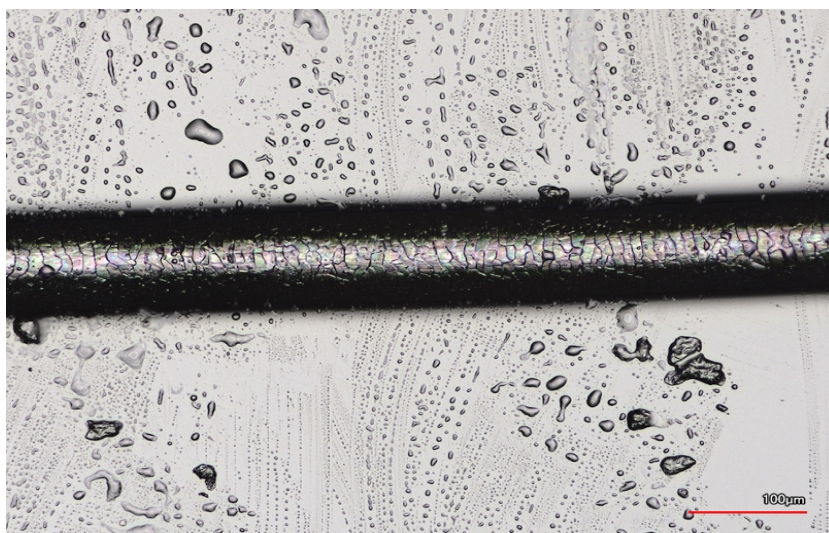
směru chlupu. Ve srovnání s ostatními druhy byla struktura výraznější, což umožnilo snadnou identifikaci typu kutikuly.



Obr. 68: Struktura kutikuly králičího chlupu – laserový mikroskop [zdroj: vlastní]

### 8.3 Pozorování kutikuly psího chlupu pomocí laserového mikroskopu

Psí chlup měl strukturu mozaikového typu (viz obr. 69). Jednotlivé šupiny vykazovaly variabilitu ve tvaru i velikosti, přičemž jejich uspořádání stále odpovídalo mozaikovému typu. V některých částech byla struktura méně výrazná, což mohlo souviset s velikostí chlupu nebo jeho povrchovými vlastnostmi.



Obr. 69: Struktura kutikuly psího chlupu – laserový mikroskop [zdroj: vlastní]

## 8.4 Pozorování kutikuly kočičího chlupu pomocí laserového mikroskopu

U kočičího chlupu byla pozorována struktura kutikuly odpovídající nepravidelně vlnitému typu (viz obr. 70). Jednotlivé šupiny nebyly pravidelně uspořádané a jejich průběh byl náhodný.



Obr. 70: Struktura kutikuly kočičího chlupu – laserový mikroskop [zdroj: vlastní]

## 8.5 Výsledky analýzy referenčních vzorků pomocí laserového mikroskopu

Analýza pomocí laserového mikroskopu potvrdila výsledky získané při pozorování digitálním mikroskopem i rastrovým elektronovým mikroskopem. U všech sledovaných druhů byly identifikovány stejné typy kutikuly, což potvrzuje zjištěné výsledky.

Ve srovnání s rastrovým elektronovým mikroskopem poskytuje laserový mikroskop nižší úroveň detailu, zejména pro rozlišení detailů okrajů jednotlivých šupin. Naopak výhodou laserového mikroskopu je, že není nutné pokovovat vzorky jako u rastrového elektronového mikroskopu.

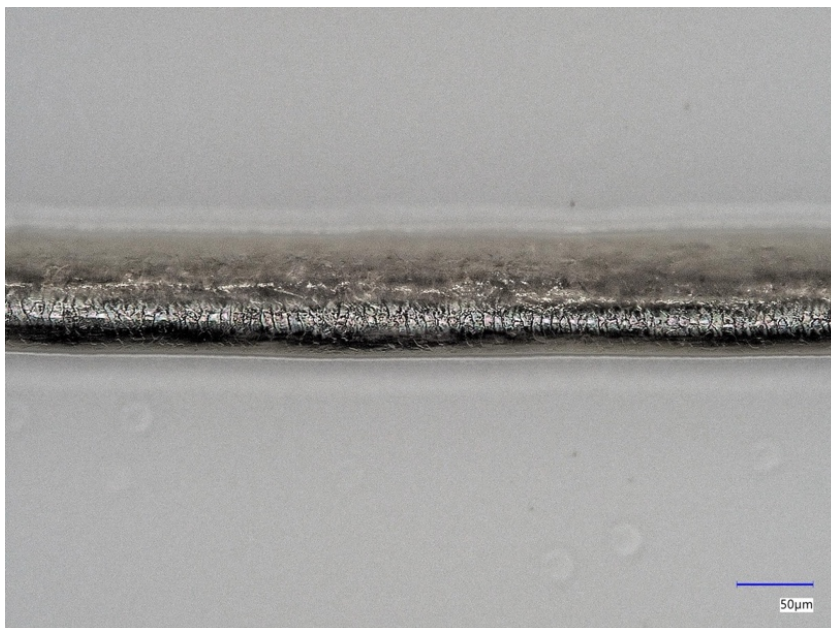
V porovnání s digitálním mikroskopem byly získané snímky mírně kvalitnější a v některých případech umožňovaly lepší zvýraznění povrchové struktury díky využití laseru. Digitální mikroskopie však i přesto zůstává plně dostačující metodou pro základní identifikaci typů kutikuly. Laserový mikroskop tak lze stejně jako rastrový elektronový mikroskop využít pro doplňkové porovnání vzorků a ověření získaných výsledků.

## 9 Výsledky analýzy referenčních vzorků lidských vlasů

Pro porovnání byly analyzovány dva lidské vlasy, konkrétně jeden hnědý a jeden světlý. Pozorování bylo provedeno pomocí digitálního mikroskopu, který byl hlavním v této práci a byla ním provedena i měření zvířecích chlupů popsaná v kap. 6. Vzorky lidských vlasů byly připraveny za stejných podmínek jako chlupy zvířat. U obou vzorků byla pozorována struktura kutikuly a meduly.

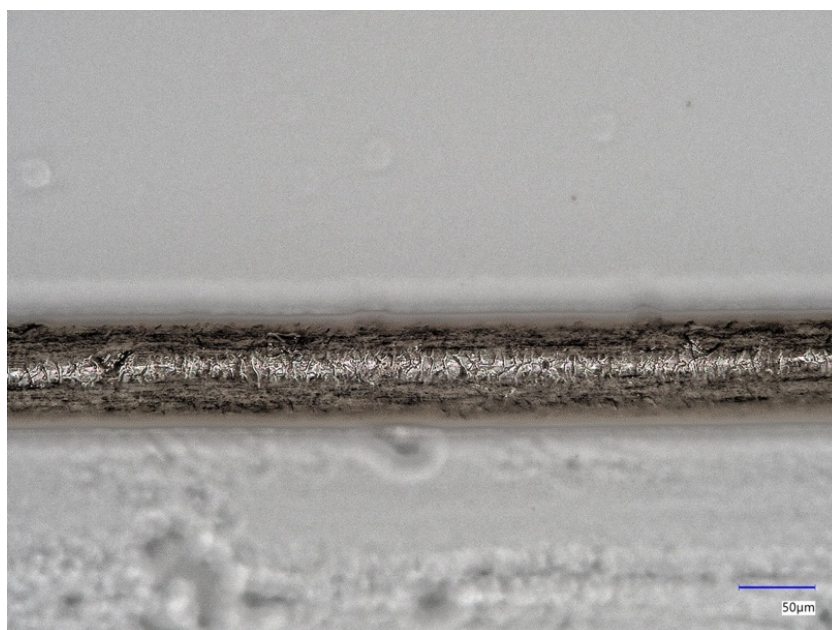
### 9.1 Pozorování kutikuly lidského vlasu

Na prvním snímku (obr. 71) byla pozorována jemná relativně pravidelná struktura kutikuly. Jednalo se o světlý vlas, jak je patrné z obrázku, a jednotlivé šupiny na sebe navazovaly. Struktura působila kompaktně, přičemž povrch vlasu se oproti zvířecím chlupům jevil relativně hladký.



**Obr. 71: Struktura kutikuly světlého lidského vlasu [zdroj: vlastní]**

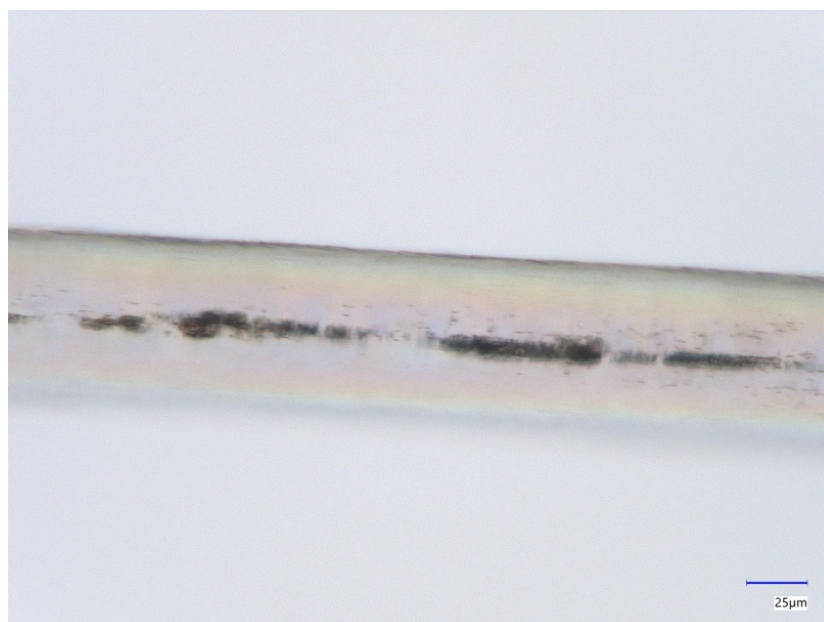
U hnědého vlasu (viz obr. 72) byla pozorována podobná struktura kutikuly jako u světlého vlasu. Šupiny kutikuly byly pravidelně uspořádané a navazovaly na sebe.



Obr. 72: Struktura kutikuly hnědého lidského vlasu [zdroj: vlastní]

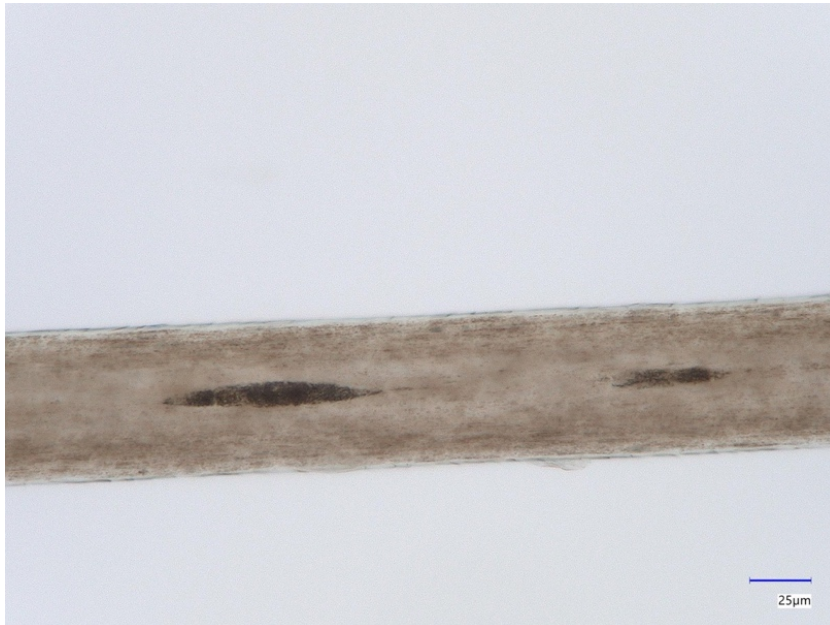
## 9.2 Pozorování meduly lidského vlasu

Při porovnávání meduly světlého vlasu nebyla medula výrazná (viz obr. 73). V některých částech vlasu bylo možné pozorovat slabý a přerušovaný výskyt. Tento znak odpovídá vlastnostem lidských vlasů, kdy medula není tak vyvinutá jako u zvířecích chlupů.



Obr. 73: Medula světlého lidského vlasu [zdroj: vlastní]

U hnědého vlasu byla medula pozorována ve formě malých přerušovaných úseků (viz obr. 74). Medula nebyla souvislá po celé délce vlasu a její výskyt byl nepravidelný. Struktura meduly byla lehce výraznější než u světlého vlasu, stále však nelze říct, že by se jednalo o souvislou medulu, která je typická pro zvířecí chlupy.



Obr. 74: Medula hnědého lidského vlasu [zdroj: vlastní]

### 9.3 Porovnání lidského vlasu s chlupy zvířat

Porovnávání lidských vlasů se zvířecími chlupy ukázalo rozdíly jak ve struktuře kutikuly, tak v přítomnosti a vyvinutosti meduly. Kutikula lidských vlasů byla jemnější, pravidelnější a celkově méně výrazná než u zvířecí chlupů. Kutikula u zvířat dále vykazovala charakteristické znaky umožňující druhové rozlišení zvířat. Ještě výraznější rozdíl byl patrný v pozorování meduly. U lidských vlasů byla medula málo vyvinutá a přerušovaná, zatímco u zvířecích chlupů byla medula výrazná a souvislá. Tyto rozdíly hrají roli při rozlišení, zda se jedná o lidský vlas nebo zvířecí srst.

## Závěr

Hlavním cílem diplomové práce bylo provést podrobnou analýzu chlupů vybraných druhů zvířat a na základě získaných dat sestavit přehledný digitální atlas. Práce je zaměřena na čtyři druhy konkrétně koně, králíka, psa a kočku. Aby byla zajištěna reprezentativnost dat, bylo od každého druhu zahrnuto pět jedinců, přičemž vzorky byly odebírány ze čtyř různých částí těla (břicho, záda, přední a zadní noha). Tento přístup umožnil sledovat nejen morfologické rozdíly mezi druhy, ale také variabilitu chlupů v rámci jedince. Výsledkem je rozsáhlý soubor vzorků, který posloužil jako základ pro následné mikroskopické hodnocení.

Praktická část práce byla rozdělena na přípravu vzorků pro několik typů pozorování, konkrétně kutikuly, meduly, barevných znaků a průřezu. Pro hlavní analýzu byl použit digitální mikroskop Keyence VHX-X1. Ten umožnil nejen rychlou fotodokumentaci při různých zvětšeních, ale i přesné měření minimálních a maximálních průřezů. Naměřené hodnoty byly následně zpracovány do tabulky v programu Microsoft Excel.

Výsledky analýzy poskytly odpovědi na všechny stanovené výzkumné otázky. Jako nejspolehlivější rozlišovací znak se ukázala medula přesněji její vnitřní struktura a šířka. Významným doplňujícím znakem byla také kutikula, jejíž povrchová struktura vykazovala mezi druhy rozdíly. Naopak průměr chlupu se jako samostatný identifikační znak neosvědčil, neboť se naměřené hodnoty u většiny druhů vzájemně překrývaly. Jedinou výjimku představoval králík, jehož specifický a nepravidelný tvar průřezu umožnil snadné a jednoznačné odlišení od ostatních skupin.

Jedním z nejdůležitějších výstupů práce je vytvořený digitální atlas. Ten sjednocuje výsledky pozorování do prakticky využitelné podoby a obsahuje dokumentaci všech analyzovaných subjektů. U každého zvířete jsou k dispozici čtyři typy mikroskopických snímků doplněné o stručný popis a konkrétní naměřené hodnoty. Atlas tak nefunguje pouze jako obrazová příloha, ale jako samostatný nástroj, který může být použit k orientační identifikaci chlupů ve výuce či praxi.

Vedle samotného atlasu vznikla v počítači laboratorního mikroskopu také databáze snímků. Tato digitální databáze umožňuje budoucí archivaci, softwarové srovnávání nebo další rozšiřování o nové vzorky a živočišné druhy. Práce tak vytváří pevný základ pro navazující výzkumy či budování rozsáhlejší srovnávací databáze.

Pro ověření výsledků byly vybrané referenční vzorky podrobeny také snímání pomocí Rastrovací elektronové mikroskopie a laserové skenovací mikroskopie. I když tyto metody nabízejí detailnější pohled na povrchové struktury, potvrdilo se, že jsou na použití náročnější. Digitální mikroskopie se ukázala jako zcela dostačující a především praktičtější metoda pro běžnou morfologickou analýzu, což jen potvrzuje její vhodnost pro tvorbu podobných typů atlasů.

Na základě praktických zkušeností byl vypracován návrh postupu pro rychlou analýzu chlupů. Tento metodický přínos zahrnuje kroky od přípravy vzorku až po efektivní sledování klíčových znaků, což usnadní opakovatelnost měření v budoucnu.

Závěrem lze říct, že všechny stanovené cíle diplomové práce byly splněny. Práce přinesla ucelený soubor dat a praktických nástrojů, které najdou využití ve výuce nebo forenzním zkoumání chlupů. Prokázalo se, že digitální mikroskopie je efektivním nástrojem pro studium morfologie chlupů a vytvořený atlas představuje funkční základ pro další odbornou činnost v této oblasti.

## Seznam použité literatury

- [1] **SIEGEL, Jay A.; SAUKKO, Pekka a HOUCK, Max M. (ed.).** *Encyclopedia of forensic sciences. 2nd ed.* Amsterdam: Elsevier/ Academic Press, c2013. ISBN 9780123821652.
- [2] **HOUCK, Max M. a SIEGEL, Jay A.** *Fundamentals of forensic science.* 3rd ed. Amsterdam: Elsevier/Academic Press, c2015. ISBN 978-0-12-800037-3.
- [3] **STRAUS, Jiří a PETŘÍKOVÁ, Tamara.** *Forenzní zkoumání zvířecích chlupů a kůže.* Online. Policajná teória a prax. 2021, roč. 29, č. 2, s. 61-77. ISSN 1335-1370. Dostupné z: [https://www.akademiapz.sk/sites/default/files/PTP/2-2021/005%20%20STRAUS%2C%20PETRIKOVVA%20%20Forezni%20zkoumani%20z virecich%20chlupu-%20upraven%C3%BD\\_EDITED.pdf](https://www.akademiapz.sk/sites/default/files/PTP/2-2021/005%20%20STRAUS%2C%20PETRIKOVVA%20%20Forezni%20zkoumani%20z virecich%20chlupu-%20upraven%C3%BD_EDITED.pdf). [cit. 2025-10-23].
- [4] **PIKHTIROVA, A. V.; IVCHENKO, V. D. a SHKROMADA, O. I.** *Characteristics of the microscopic hair structure of domestic mammals from Equidae family.* Online. Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences. 2019, roč. 2, č. 2, s. 31-36. ISSN 2617-6149. Dostupné z: <https://doi.org/10.32718/ujvas2-2.07>. [cit. 2025-10-23].
- [5] **REECE, O. a ERIC ROWE W.** *Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat: 3., rozšířené vydání.* Grada, 2025. ISBN 978-80-271-8184-1. Dostupné také z: <https://www.bookport.cz/AccountSamI/SignIn/?idp=https://shibboleth.utb.cz/idp/shibboleth&returnUrl=/kniha/fyziologie-a-funkcni-anatomie-domacich-zvirat-15447/>
- [6] *Stríhat či nestříhat?* Online. DOGFITNESS.cz. 2016. Dostupné z: <https://dogfitness.cz/strihat-ci-nestrihat/>. [cit. 2026-02-20].
- [7] **HOUCK, Max M.** *Forensic chemistry. Advanced forensic science series.* Amsterdam: Elsevier, 2015. ISBN 978-0-12-800606-1.
- [8] **TEERINK, B.J.** *Hair of West European Mammals.* Cambridge: Oxford University Pres, 2004. ISBN 9780521545778.
- [9] **DEEDRICK, Douglas W a KOCH, Sandra.** *Microscopy of Hair Part 1: A Practical Guide and Manual for Human Hairs.* ResearchGate. Volume 6. 2004.
- [10] **TUMIŁOWICZ, Paweł; GOLISZEWSKA, Agata; ARCT, Jacek; PYTKOWSKA, Katarzyna a SZCZEPANIK, Marcin P.** *Preliminary study of guard hair morphology in four dog breeds.* Online. Veterinary Dermatology. 2018, vol. 2018, no. 29, s. 1-6. Dostupné z: ResearchGate, <https://doi.org/10.1111/vde.12656>. [cit. 2026-02-20].
- [11] **HAUSMAN, Leon Augustus.** *Structural Characteristics of the Hair of Mammals.* The American Naturalist. 1920, vol. 1920, no. 54, s. 496-523. ISSN 00030147.
- [12] **MICROLABNW.** *Hair Under the Microscope - Gallery of Photomicrographs.* MicrolabNW, ©2007. Dostupné z: <https://microlabgallery.com/Hair>. [cit. 2026-04-05].
- [13] **FRAPPIER, Brian L. a EURELL, Jo. Ann.** *Dellmanns Textbook of Veterinary Histology.* Sixth edition. Wiley-Blackwell, 2006. ISBN 9780781741484.
- [14] *Vše, co potřebujete vědět o cyklu řas.* Online. 2025, 24.11.2025. Dostupné z: <https://www.devini.cz/nase-novinky/vse--co-potrebuje-vedet-o-cyklu-ras/>. [cit. 2026-02-20].
- [15] **RAJASELIN, A. Annika; PRIYA, Vishnu; ARTHANARI, Abirami; GAYATHRI, R.; SANKARAN, Kavitha et al.** *A comparative study of different animal hairs: A microscopic*

- analysis*. Online. ResearchGate. 2022, vol. 2022, no. 13, s. 117-120. Licence: CC BY-NC-SA 4.0. Dostupné z: ResearchGate, [https://doi.org/10.4103/japtr.japtr\\_256\\_22](https://doi.org/10.4103/japtr.japtr_256_22). [cit. 2026-02-20].
- [16] **JAMIESON, Allan a MOENSSENS, Andre.** *Wiley Encyclopedia of Forensic Science*. Wiley-Blackwell, 2009. ISBN 978-0-470-01826-2.
- [17] **ROBERTSON, James R.** *Forensic Examination of Hair*. Online. London: CRC Press, 1999. ISBN 9780429232893. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1201/9780203483527>. [cit. 2026-02-20].
- [18] **TRIDICO, S.R.; HOUCK, M.M.; KIRKBRIDE, K. Paul; SMITH, M.E. a YATES, B.C.** *Morphological identification of animal hairs: Myths and misconceptions, possibilities and pitfalls*. Online. *Forensi Sci Int*. 2014, vol. 2014, no. 24685685. ISSN 1872-6284. Dostupné z: PubMed, <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2014.02.023>. [cit. 2026-02-20].
- [19] **SAFERSTEIN, Richard.** *Criminalistics: an introduction to forensic science*. Ed. 11th, Global ed. Harlow: Pearson Education, c2015. ISBN 9781292062020.
- [20] **WHEELER, Barbara.** *Practical forensic microscopy: a laboratory manual*. Chichester, England: John Wiley, c2008. ISBN 9780470031766.
- [21] **MURPHY, Douglas B. a DAVIDSON, Michael W.** *Fundamentals of light microscopy and electronic imaging*. 2nd ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, c2013. ISBN 9780471692140.
- [22] **GOLDSTEIN, Joseph; NEWBURY, Dale E.; JOY, David C.; MICHAEL, Joseph R.; RITCHIE, Nicholas W.M. et al.** *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis*. Fourth edition. New York: Springer, 2017. ISBN 978-1-4939-6674-5.
- [23] **KEYENCE CORPORATION.** *Digital Microscope Guide Vol. 1: Product Concept and Imaging Technologies*. Keyence Corporation, 2019. Dostupné z: [https://www.keyence.eu/landing/lp\\_micro\\_guide\\_download.jsp](https://www.keyence.eu/landing/lp_micro_guide_download.jsp). [cit. 2026-04-05].
- [24] **KEYENCE CORPORATION.** *Digital Microscope Guide Vol. 2: Observation Capabilities of Digital Imaging*. Keyence Corporation, 2019. Dostupné z: [https://www.keyence.eu/landing/lp\\_micro\\_guide\\_download.jsp](https://www.keyence.eu/landing/lp_micro_guide_download.jsp). [cit. 2026-04-05].
- [25] **KEYENCE CORPORATION.** *Digital Microscope Guide Vol. 3: Full-Focus Imaging & Depth Composition*. Keyence Corporation, 2019. Dostupné z: [https://www.keyence.eu/landing/lp\\_micro\\_guide\\_download.jsp](https://www.keyence.eu/landing/lp_micro_guide_download.jsp). [cit. 2026-04-05].
- [26] **KEYENCE CORPORATION.** *Digital Microscope Guide Vol. 4: Lighting*. Keyence Corporation, 2019. Dostupné z: [https://www.keyence.eu/landing/lp\\_micro\\_guide\\_download.jsp](https://www.keyence.eu/landing/lp_micro_guide_download.jsp). [cit. 2026-04-05].
- [27] **AHMED, Yasser A.; ALI, Safwat a GHALLAB, Ahmed.** *HAIR HISTOLOGY AS A TOOL FOR FORENSIC IDENTIFICATION OF SOME DOMESTIC ANIMAL SPECIES*. Online. *EXCLI Journal*. 2018, vol. 2018, s. 663-670. ISSN 1611-2156. Dostupné z: <https://doi.org/10.17179/excli2018-1478>. [cit. 2026-03-01].
- [28] **SAFIYA, S. Nehal; VEERARAGHAVAN, Vishnu Priya; ARTHANARI, Abirami; GAYATHRI, R.; SELVARAJ, J. et al.** *Comparison of human and animal hair – A microscopical analysis*. Online. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*. 2022, vol. 2022, s. 112-116. Dostupné z: [https://doi.org/10.4103/japtr.japtr\\_258\\_22](https://doi.org/10.4103/japtr.japtr_258_22). [cit. 2026-03-01].
- [29] **PATLE, Sangeeta; RAM, Tilak; SINGH, K.P. a BAGCHI, Divya.** *IDENTIFICATION OF WILD AND DOMESTIC ANIMAL THROUGH MORPHOLOGICAL INDEX OF GUARD HAIR*. Online. *UTTAR PRADESH JOURNAL OF ZOOLOGY*. 2021, roč. 2021, s. 13-20.

ISSN 0256-971X. Dostupné

z: <https://mbimph.com/index.php/UPJOZ/article/view/2143/1887>. [cit. 2026-03-01].

- [30] **WILKINSON, Laura a GWINNETT, Claire.** *An international survey into the analysis and interpretation of microscopic hair evidence by forensic hair examiners.* Online. Sciencedirect. 2020, vol. 2020, no. 110158. Dostupné  
z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2020.110158>. [cit. 2026-03-01].
- [31] **FARAG, Mayada Ragab; GHONIEM, Mervat Hassan; ABOU-HADEED, Ali Heider a DRAMA, Kuldeep.** *Forensic Identification of some Wild Animal Hair using Light and Scanning Electron Microscopy.* Online. Advances in Animal and Veterinary Sciences. 2015, no. 243122, s. 559-568. ISSN 2307-8316. Dostupné  
z: <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.14737/journal.aavs/2015/3.10.559.568>. [cit. 2026-03-01].
- [32] **MARIAGER, Alessia; GAROFALO, Luisa; FANELLI, Rita; LORENZINI, Rita a FICO, Rosario.** *A combined morphological and molecular approach for hair identification to comply with the European ban on dog and cat fur trade.* Online. Peerj. 2019. Dostupné  
z: <https://doi.org/10.7717/peerj.7955>. [cit. 2026-03-01].
- [33] **ALSAFY, Mohamad A.M.; EL-GENDY, Samir A.A.; DERBALAH, Amira; RASHWAN, Ahmed M. a HADDAD, Seham S.** *Scanning electron microscopy and morphometric analysis of the hair in dromedaries with SEM-EDX in relation to age.* Online. Springer Nature Link. 2024. Dostupné  
z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s40850-024-00204-0>. [cit. 2026-03-01].