

Biologický korespondenční seminář



Biozvěst

Ročník 8

Série 3

Milé řešitelky, milí řešitelé,

zadání třetí série letošního osmého ročníku je právě před Vámi. V teoretických úlohách se budeme zabývat psychoaktivními látkami, cytometrií ale i živočišnými jedy. Zajímavá bude jistě i praktická úloha zaměřující se na problematiku fotosyntézy a chomatografie. V úloze seriálově nahlédneme opět na migrace, tentokrát mezi populacemi a na udržování metapopulací.

A s nadcházejícím se jarem se blíží také **letošní Expedice Biozvěst**, která je plánována v termínu **28. 5. – 1. 6. 2021**. Letos bude naší základnou chalupa Padouchov. Těšit se tedy můžete na Ještědský hřeben a jeho okolí, chalupa samotná pak leží přímo na okraji Nového pralesa – místa, kde díky drobným dárčům dochází k proměně bývalé smrkové monokultury v přírodní les, který se snad časem stane pralesem. Expedici budete mít jako odměnu za aktivní řešení Biozvěsti zadarmo. Jak se na expedici přihlásit ale i další informace se vás dozvíte skrze email ale i na našich webových a facebookových stránkách.

Jak řešit

Veškeré pokyny k řešení semináře získáte na [internetové stránce Biozvěsti](#) (nebo zadejte „Biozvěst“ do Google). Na stránce také naleznete přihlášku, kterou vyplíte (pouze v případě, že je tato série vaše první řešení v rámci aktuálního ročníku; **přidat se můžete kdykoli v průběhu roku**). Úlohy vám budeme zasílat automaticky na e-mailovou adresu uvedenou v přihlášce. Pokud budete chtít ukončit odběr novinek o Biozvěsti, napište nám e-mail.

Dále se k nám můžete připojit prostřednictvím [Facebooku](#), [skupiny „Biozvěst“](#), kde lze probírat aktuality a diskutovat dle libosti.

Vaše řešení nám posílejte na adresu biozvest@gmail.com

Nejpraktičtější formou řešení bude prostý text v e-mailu, ale přijímáme veškeré formáty příloh. Každou úlohu pište do samostatného e-mailu a v předmětu uveďte **Ročník-Série-Úloha-Jméno_Příjmení**, např. **8-3-1-Bioslav_Biomilný** v případě první úlohy třetí série aktuálního ročníku. Moc nám pomůže, když uvedený zápis dodržíte (na jeho základě si došlá řešení filtrujeme).

Uzávěrka 3. série: pondělí 5. 4. 2021 ve 23:59.

Po oficiální uzávěrce necháváme pro opozdilce tzv. „**penalizační týden**“, kdy ještě můžete zasílat svá řešení, budou Vám bodově ohodnocena, ale musíte již počítat s bodovou penalizací. Strhávat se bude 1 bod za každý den v každé úloze, která v tomto období přijde. Maximální ztráta za úlohu je tedy - 7 bodů, pošlete-li úlohu v nejpозdějši možný termín a zároveň minimální počet bodů za řádně řešenou úlohu po penalizaci nebude nikdy nižší než 1 bod. **Penalizační týden končí 12. 4. 2021 ve 23:59, po této době již nelze přimnout žádná řešení.** Další den bude vydáno autorské řešení pro 3. sérii na našich stránkách.

Hodnocení Vašich řešení i výsledkovou listinu dostanete e-mailem a též se objeví na našich stránkách v první polovině května 2021.

Nelekejte se, když Vám přijdou úlohy na první pohled příliš těžké, ponořte se do informačních zdrojů a uvidíte, že na vše lze někde nalézt odpověď. Dobré tipy k řešení naleznete také na stránce Biozvěsti v sekci „Návody“. **Není nutné, abyste kompletně vyřešili všechny úlohy a asi se to ani nikomu nepodaří, stačí odeslat libovolně velký fragment.**

Vždy ale odpovídejte svými slovy; překopírování textu odjinud je velmi ošemetné. Když už se k němu uchýlíte, vždy uveďte zdroj.

Oceníme, pokud připišete jakékoliv nápady či připomínky (např. úloha byla příliš lehká/těžká, nesrozumitelná, nudná), úlohy se pokusíme tvořit k Vaší maximální spokojenosti.

Veškeré dotazy či připomínky směrujte na adresy biozvest@gmail.com či ell.psenickova@seznam.cz (na druhé adrese máte větší šanci na rychlé zodpovězení otázky), nebo na e-mailové adresy autorů konkrétních úloh. Kontakty naleznete na webu Biozvěsti.

Biodiverzitě a řešení Biozvěsti zdar!

za celý kolektiv autorů Biozvěsti

Eliška Pšeničková

Úloha 1: Drogy – od opojení k receptorům

Autor: Jan Kadlec

Počet bodů: 24

Milí řešitelé Biozvěsti,

úlohu jsem navrhl tak, aby Vás seznámila se základními druhy návykových látek. První část úlohy je „diagnostická práce.“ Prozkoumal jsem temná zákoutí internetu (zejména servery jako zpovednice.cz a e-mimino.cz) a shromáždil 8 zkušeností lidí s návykovými látkami. Výpovědi jsou autentické a jen minimálně editované - snad mi jejich autoři odpustí, že jsem je dostatečně neozdrojoval. Vaším úkolem bude poznat, jakou drogou se intoxikovali. Pokud si zprvu nebudete vědět rady, nezužefte, během řešení dalších částí úlohy najdete pár nápověd.

Snažil jsem se, abyste měli možnost seznámit se s farmakologickými souvislostmi a získali jste představu o lécích, které jsou zakázaným psychoaktivním látkám podobné, avšak v určitých indikacích se využívají v lékařské praxi.

Pátá část úlohy je zaměřena biochemicky a potěší ty, které bavilo učit se o Krebsově cyklu a glukoneogenezi. (Najde se někdo takový?)

Na konci úlohy se od návykových látek dostávám k fenoménu závislosti, který s jejich užíváním úzce souvisí. Na závislost se můžeme dívat z různých úhlů, zmíněný pohled představuje obecně přijímaný koncept současné psychiatrie.

Na závěr si dovoluji citát, kterým se loučil můj pacient opouštějící protialkoholní oddělení. „Střízlivost mi dává všechno, co sliboval alkohol.“

Přeji Vám, ať Vás řešení úlohy baví a rozšíříte si obzory.

1. Přiřaďte popis intoxikovaných osob ke správné psychoaktivní látce.

Látky:

1. heroin, 2. konopí, 3. muškátový oříšek, 4. lysohlávky, 5. alkohol, 6. benzodiazepiny, 7. kokain, 8. extáze (MDMA)

Výpovědi osob:

A „Představ si, že najednou vypiješ dvacet káfi uvařenejch z redbullu. Ohromně tě to nakopne, jedeš jak fretka a síly prakticky nedochází. Je to fajn, ale jako koníček trochu drahý, počítej minimálně s dvouma litrama...“

B	„Když se ti to povede, bude ti teplo a hezky, fakt moc hezky, nádherně, budeš zářit a všechno bude v klidu a nebude nic bolet a budeš šťastná...“
C	„...tak sem to dožral a asi po pěti minutách začali auta klouzat po silnici a čas se zdál relativní...zavíraly se mi oči ale pokaždé když sem je zavřel začaly starí známe halucinace typu letající obrazce v prostoru no prostě zajímavé představy které mi asi dvě hodiny nedovolili usnout“
D	„Jednou jsem se teda začal opravdu nuceně smát (koutky mi lezly nahoru sami od sebe), jindy mi bylo akorát úzko a divně a dostal jsem pak hrozný hlad.“
E	„Ja ho mam moc rada, protože uklidni...pro me idealni na nespavost ze stresu nebo takovou tu „lezim v posteli, mam strach, ze urcite neusnu a zejtra budu unavena“ - a brala jsem ho kdyz uz jsem nekojila, kdyz se dite v noci budilo casto a ja pak nemohla usnout - mohla jsem krasne v noci fungovat a pak zase hnedka spat.“
F	„Po chvíli jsme museli zastavit a přemýšlet jak budeme pokračovat dál, táhnout stodesetikilového člověka tři kilometry prostě nebylo možné. Pak jsem si všiml, že u jednoho domu stojí popelnice (ta velká se čtyřma kolečkama) a napadl mě naprosto šílený nápad, který jsme dokonce i zrealizovali. Popadli jsme tu popelnici, která byla asi z jedné třetiny naplněná odpadkami a toho kamaráda jsme do ní hodili...Poté jsme ho vezli v popelnici celou cestu až domů. Ze začátku popelnice zpívala, usnul a bylo ticho.“
G	„Měl jsem pŕlku (název látky), a pocity dobrý. Buší ti po tom srdce a funguješ poměrně rychleji než za střízliva, taky budeš mít skleněný oči, a takovej hrozný přítomnej výraz, bude ti někdy horko, a budeš mít chut se bavit s lidma, a tancovat.“
H	„No, vypil a snědl jsem to, potom jsem usnul, probudil se cca za 5 hodin, zarudlé oči, mydriáza, zvýšený tep, pocity lehkosti, volnosti, plno energie, problémy s rovnováhou... po asi čtyřicetihodinách jsem usnul“

Tabulka 1: Popisy intoxikovaných osob.

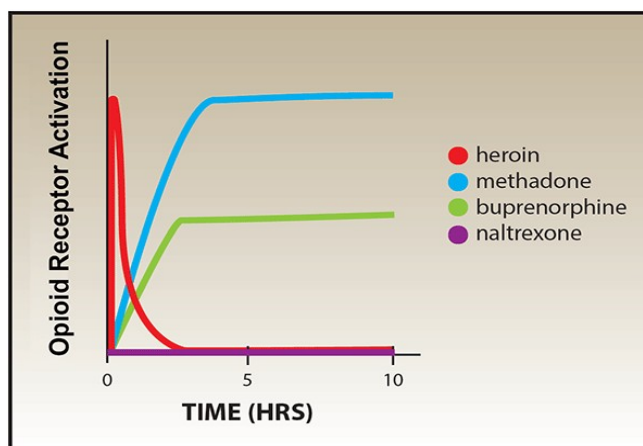
2. Jedna z uvedených látek patří mezi opiáty.
 - a. Jaká to je? Kde se v těle vyskytují opioidní receptory? Znáte nějaké endogenní opioidy, tzn. látky, které si organismus vytváří sám?
 - b. Na stejné receptory působí i některé léky proti bolesti. Uveďte alespoň jeden z nich.
 - c. Slang uživatelů opiátů obsahuje spojení „dát si zlatou“, např. v jedné básni:

„tam kde život končí s tebou se moje vzpomínky loučí s tebou na vteřinu pouhou ukončí tu bolest tvou // jednou tvou vizí je dát si zlatou ať to všechno zmizí tak ti ze života mizím mizím“

 (@janhladik99, osobní blog)

Vysvětlete, co spojení znamená. Náповěda: jaký účinek opiátů je nejnebezpečnější?

- d. Při vysazení opiátů se objevuje těžký odvykací stav. Jak byste ho poznali? Vyjmenujte aspoň tři příznaky. Když porovnáte projevy odvykacího stavu a intoxikace (tři projevy intoxikace jsou uvedeny ve výchozím textu), napadne vás, jaké obecné pravidlo by se dalo odvodit pro vztah akutní intoxikace – abstinenci příznaky?
- e. Ke zvládnutí odvykacího stavu z odnětí opiátů se používají syntetické opioidy jako metadon nebo buprenorfin, v ČR je to častěji buprenorfin. Jeho farmakologický profil je od heroinu odlišný. Na základě grafu (obr. 1) popište, v čem se liší.

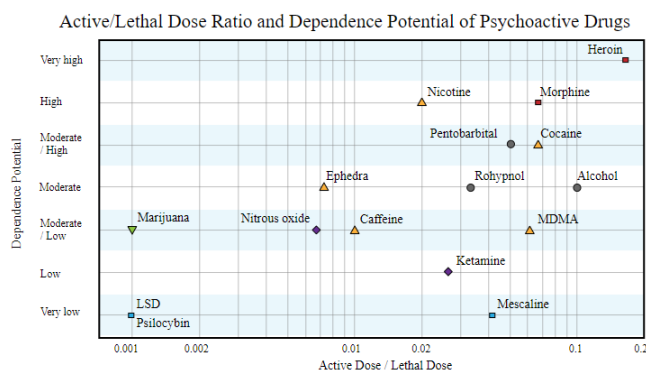


Obr. 1: Závislost aktivity opioidních receptorů na čase po podání různých látek. - https://www.drugabuse.gov/sites/default/files/opioid_receptor_activation_graph.gif

- f. Buprenorfin by se měl podat až v momentě, kdy se začínají objevovat abstinenci příznaky. Co by se stalo, kdyby se podal ještě během intoxikace metadonem? V odpovědi opět vycházejte z grafu. Jakým způsobem aktivuje opioidní receptory metadon a jakým buprenorfin?
- g. Jedním ze znaků závislosti je rozvoj tolerance. Ta spočívá v postupném navyšování dávek drogy, protože stejné dávky již nejsou schopny vyvolat žádoucí účinek. Jak se změní tolerance po vysazení opiátů? Co hrozí pacientovi, který není příliš motivovaný k abstinenci, opouští nemocnici po úspěšném vysazení heroinu, a o změně tolerance nebude vědět?
3. Na rozdíl od opiátů, které způsobují miózu (zúžení zornic), některé z výše uvedených látek zornice rozšiřují.
 - a. Uveďte odborný termín pro rozšíření zornic (pozn. najdete ho v jednom popisu intoxikace).
 - b. Jaké z uvedených látek to jsou (tři látky)?
 - c. Dvě z nich patří mezi stimulancia, jedna se v mechanismu účinku liší – která? Rozdíl popište na mechanismu, kterým vyvolává rozšíření zornic. Náповěda: šíře zornic je regulována autonomním nervovým systémem, který má dvě složky - sympatikus a parasympatikus.
 - d. Která dvě stimulancia jsou v ČR legálně a běžně konzumována?
4. Dvě z výše uvedených látek působí přes GABA receptory, jejichž aktivace má tlumivé účinky na centrální nervový

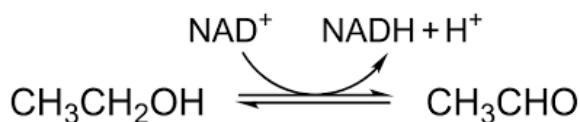
systém. Jedna z nich označuje skupinu léků se sedativními a anxiolytickými účinky.

- Jaké to jsou?
 - Proč není dobrý nápad tyto dvě látky kombinovat?
5. Která ze substancí z úlohy 1 působí přes serotoninové receptory?
- Jak se nazývá skupina psychoaktivních látek, pro niž jsou typické zrakové pseudohalucinace, ztráta hranic ega, mystické zážitky?
 - Látky z této skupiny se liší např. od heroinu nebo kokainu a jejich uživatelé zpravidla nevyhledávají pomoc adiktologických služeb. Proč? Odpověď najdete v grafu na obrázku 2.



Obr. 2: Závislost návykovosti látky na poměru její aktivní a smrtelné dávky.

6. Reakce zobrazuje přeměnu, která probíhá v játrech u intoxikovaných osob textu F.



- Pojmenujte substrát a produkt reakce.
 - Jak běžně a hovorově nazýváme nepříjemný stav, kdy je v těle nadbytek toxického produktu této reakce?
 - CH_3CHO není konečným produktem, je dále metabolizován dehydrogenázou. Na jakou látku?
 - Jak nadbytek substrátu změní poměr NAD/NADH ? Zkuste odvodit, jaký účinek to bude mít na glukoneogenezi, když víte, že pro regulační reakci glukoneogeneze je nutné, aby došlo k redukci NAD na NADH . (Pozn. pro zvědavé: regulační reakci je v tomto případě oxidace malátu na oxalacetát.)
 - Diabetici by měli být opatrní, pokud jde o konzumaci alkoholu. Důvodů je hned několik. Uveďte alespoň jeden. Nápoděnou může být otázka d).
7. Mezinárodní klasifikace nemocí definuje látkovou závislost šesti kritérii a aby byla stanovena diagnóza závislosti, musí se vyskytnout aspoň 3 z nich během posledního roku.
Jsou to (upraveno):

- silná touha nebo pocit puzení užívat látku (craving)
- potíže v kontrole užívání látky, a to pokud jde o začátek a ukončení nebo množství látky
- somatický odvykací stav

- průkaz tolerance (např. vyžadování vyšších dávek látky)
- postupné zanedbávání jiných potěšení nebo zájmů ve prospěch užívané psychoaktivní látky
- pokračování v užívání přes jasný důkaz zjevně škodlivých následků (jaterní poškození, deprese aj.)

Tabulka 2: Kritéria látkové závislosti.

Závislost ale nevzniká pouze na návykových látkách.

- Lze použít tato kritéria i u nelátkových závislostí? Zkuste svůj názor zdůvodnit jedním či dvěma argumenty.
- Mezi nelátkové závislosti patří např. závislost na hracích automatech, hraní PC her, sledování pornografie, nakupování (shopaholismus). Jaké aspekty musí mít chování, aby se na něm vytvořila závislost? Pokuste se stručně zdůvodnit, proč jsou např. velmi návykové hrací automaty, naopak sázení na výsledek fotbalového zápasu už méně.

Úloha 2: Strasti zoufalého cytometristy

Autor: Natálie a Matouš Palkovi

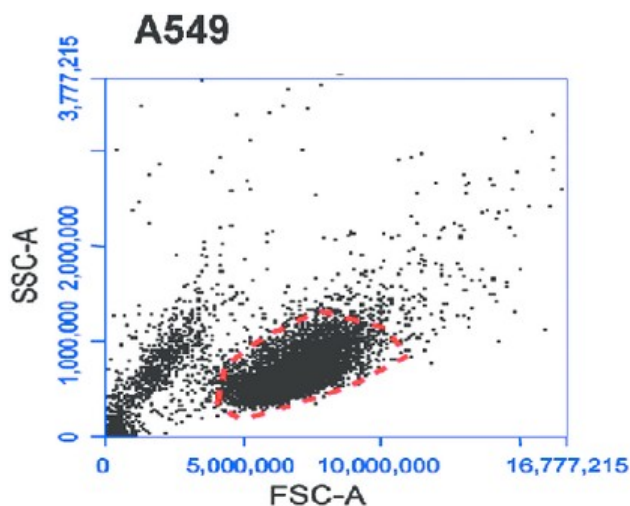
Počet bodů: 37

Průtoková cytometrie je průlomová technologie v biologii, která zásadním způsobem otevřela možnosti imunologie, virologie, molekulární biologie, protistologie, bakteriologie, nádorové biologie nebo třeba monitorování infekčních nemocí. Průtokové cytometry jsou vybaveny lasery, které slouží jako zdroj světla, filtry, které regulují, která vlnová délka má na vzorek dopadat, detektory zachycující rozptýlené světlo nebo fluorescence. Cytometrie umožňuje analyzovat vzorek buňku po buňce a měřit velké množství parametrů (velikost buňky, tvar, intenzitu fluorescence...), v praxi to znamená, že můžeme rozšmelcovat kupříkladu myši střevo na jednotlivé buňky nebo vzít krev, správně naředit, označit vybrané proteiny pomocí protilátek a pustit do cytometru. Získáme tak velké množství informací o milionech buněk během několika minut měření. S tím se však také pojí to, umět si experiment správně zorganizovat a porozumět té obrovské změti informací, která z cytometru vychází. A na tuto dobrodružnou cestu se v dnešní úloze vydáme i my.



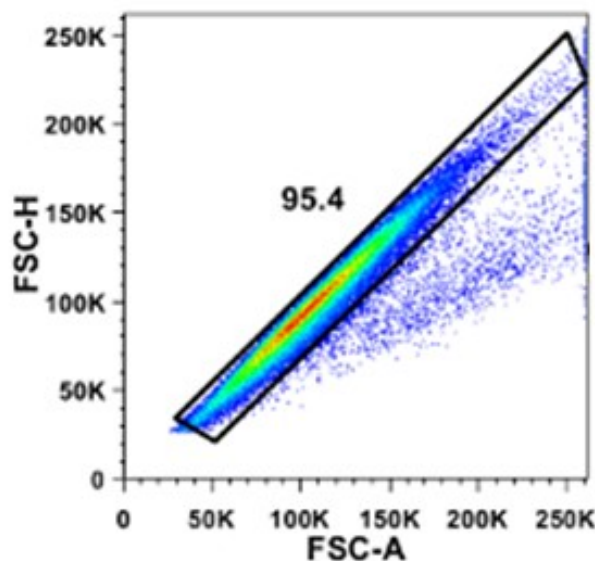
Obr. 3: Průtokový cytometr FACS Symphony (v těch šuplíčcích jsou filtry pro lasery), cena přes 30 milionů. – <https://www.bdbiosciences.com/assets/images/biosciences/thumbnails/FACSSymphony-A5-opened.jpg>

- Díky průtokové cytometrii můžeme získat mnoho informací o jednotlivých buňkách.
 - Jedním z těchto měřených parametrů je forward scatter (FSC) a side scatter (SSC). Co nám tyto údaje říkají?
 - V průtokové cytometrii nás také často zajímá intenzita fluorescence vzorku. Dokážeš vysvětlit pojem fluorescence? Znáš nějaké fluorescenční molekuly?
- V grafu (Obr. 4) se nacházejí neupravená data z průtokového cytometru FACSymphony. Jedná se o vzorek lidské buněčné linie A549 (buňky adenokarcinomu). Na ose x je FSC, na ose y SSC. Každá tečka zobrazuje parametry jedné buňky. Buňky, které mají podobné vlastnosti, jsou u sebe nebo splývají a tvoří tzv. populaci.
 - Cytometrista Karel přemítá nad tím, co se mu mimo očekávané hlavní populace (červená přerušovaná elipsa) objevilo za druhou populaci vlevo (modrá šipka). Co by to mohlo být? Náповěda: jak asi taková buněčná suspenze vypadá co do kondice buněk?
 - Která z těchto dvou populací („červená“ a „modrá“) obsahuje větší buňky? Zaměř se na to, co nám říká FSC a SSC.

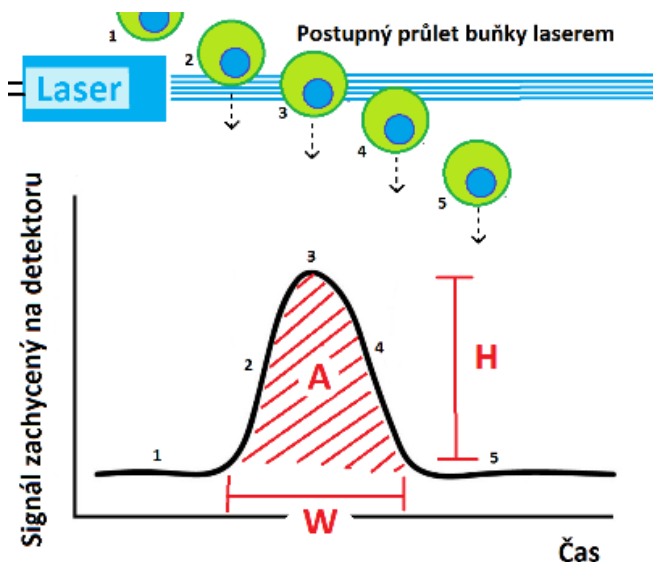


Obr. 4: Lidská buněčná linie A549 analyzovaná průtokovým cytometrem.

- V předchozí části jsme si zagateovali (v cytometrické hantýrce to znamená „označili populaci“, gate = ohraničení, od toho sloveso gateovat) populaci buněk, kterou nyní budeme dále analyzovat. Než k tomu ale přistoupíme, musíme udělat ještě jeden důležitý krok. Změnili jsme parametry zobrazení a teď na ose x je FSC-A, na ose y FSC-H (Obr. 5).
 - FSC je detektor, který zaznamenává rozptýlené světlo. V průběhu průletu buňky laserem se signál dopadající na detektor postupně mění, jako je ukázáno na ilustraci (Obr. 6). Díky tomu po průletu buňky laserem můžeme dostat tři parametry: FSC-A, FSC-H, FSC-W. Dokážeš zjistit, co ta písmena A, H a W znamenají? Náповědu můžeš najít ve zmíněné ilustraci.
 - V grafu z průtokového cytometru (Obr. 5) jsou zaznamenány takzvané singlety, jejich gateování je důležitý krok před samotnou analýzou. Co jsou singlety a proč toto gateování děláme? Zkus vysvětlit.



Obr. 5: Buňky analyzované průtokovým cytometrem, označené jsou tzv. singlety.

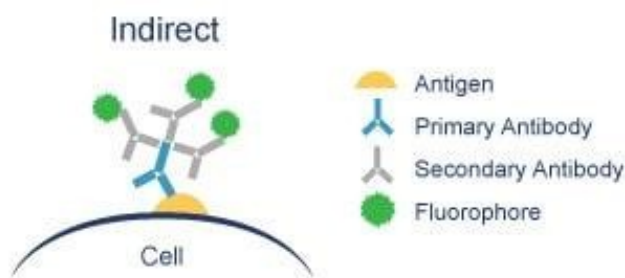


Obr. 6: Ilustrace průchodu buňky laserem.

- Průtoková cytometrie nepracuje pouze s velikostí a tvarem buněk. Cytometr v sobě může mít zabudované speciální lasery a filtry, které dokážou excitovat určitou vlnovou délkou. Stejně jako ve fluorescenční mikroskopii excitujeme fluorofor určitou vlnou délkou a získáme emisi delší vlnové délky. Možná jste se setkali s imunofluorescenčním barvením. Buňky se nejdříve zafixují na sklíčku (třeba formaldehydem), poté se permeabilizují – v membráně se pomocí detergentů vytvoří díry, aby se dovnitř buňky mohly dostat protilátky. Následuje blokáce roztokem sušeného odtučněného mléka nebo roztokem BSA či fetálního bovinního séra, aby se zabránilo nespecifickému navázání protilátek. Poté přicházejí primární protilátky, které váží konkrétní protein (třeba aktin), po nich sekundární protilátky s navázaným fluoroforem, které rozpoznávají primární protilátku (myši sekundární protilátka rozpoznává myši primární protilátku rozpoznávající aktin). Nakonec se po-

mocí DAPI nabarví jádra buněk a sklíčka se opatrně namontují na podložní skla.

- a. Když barvíme více než dva různé proteiny (třeba takových pět naráz), vyvstává problém, jak to vlastně udělat s detekcí. Dvojice primární-sekundární protilátka jsou jenom dvě (anti-myší sekundární protilátka rozpoznávající myší primární protilátku a anti-králičí sekundární protilátka rozpoznávající králičí primární protilátku), více druhů zvířecích protilátek sehnat nemůžeme a nemůžeme ani snížit počet barvených proteinů. Jak si poradíme (a protokol pro průtokovou cytometrii se tím často liší od fluorescenční mikroskopie)? Co si musíme opatřit? Napovědět Ti může ilustrace nepřímé fluorescence.



Obr. 7: Nepřímá metoda imunofluorescenčního (imuno = protilátka, fluorescenční = značení) barvení. – <https://a.static-abcam.com/CmsMedia/Media/direct-vs-indirect-immunofluorescence.jpg>



Obr. 8: Cytometrista David v akci.

5. Průtoková cytometrie nepracuje pouze s velikostí a tvarem buněk. Cytometr v sobě může mít zabudované speciální lasery a filtry, které dokážou excitovat určitou vlnovou délkou. Cytometrista David (modrá šipka) potřebuje pro svůj experiment s buňkami myšího střeva navrhnout barevný panel protilátek. To znamená, že do spektra (od 300 do 750 nm) potřebuje natěsnat 6 fluoroforů s různými excitačními a emisními spektry. Excitační spektrum nám říká, při které vlnové délce je fluorofor nejvíce excitován, emisní spektrum zase ukazuje, kterou vlnovou délku bude daný fluorofor nejsilněji emitovat. Jednotlivá spektra se nesmí výrazně překrývat, protože jen tak bude schopen od sebe odlišit signály jednotlivých protilátek. Cytometry

však většinou obsahují jen několik málo laserů o fixních vlnových délkách. Proto je potřeba pečlivě přiřazovat k fluoroforům takové lasery, které se co nejvíce blíží jejich excitačním vlnovým délkám, a dokážou tak vyždímat z fluoroforu co nejvíce signálu. A tohle přesně teď musí udělat David. Aby si práci ulehčil, používá software Fluorofinder, který ukazuje emisní i excitační spektrum daného fluoroforu.

Odkaz: https://app.fluorofinder.com/ffsv/spectra_viewers/2c4bc670380d0139e8b92d392fdb619



Obr. 9: Ukázka softwaru Fluorofinder (pro fluorofor Alexa 635).

Návod: klikneme na Add Fluophore a zvolíme si fluorofory (např. Alexa 635). Získáme excitační (šrafovanou) a emisní (plnou) křivku. Vrcholy těch křivek znamenají maximum fluorescence. Když myší najedeme na některou z křivek, na pravé straně se zobrazí hodnota vlnové délky v daném bodě a procento maxima fluorescence. Lasery se dají vybírat v bílé liště nad slovy Lasers. Zobrazí se jako svislá čára.

David má k dispozici těchto šest protilátek. Protože se nikdo v laborce pořádně nestaral o pořádek v protilátkách, neví, jaký protein daná protilátka značí, byl schopen pouze dohledat odkazy na protilátky:

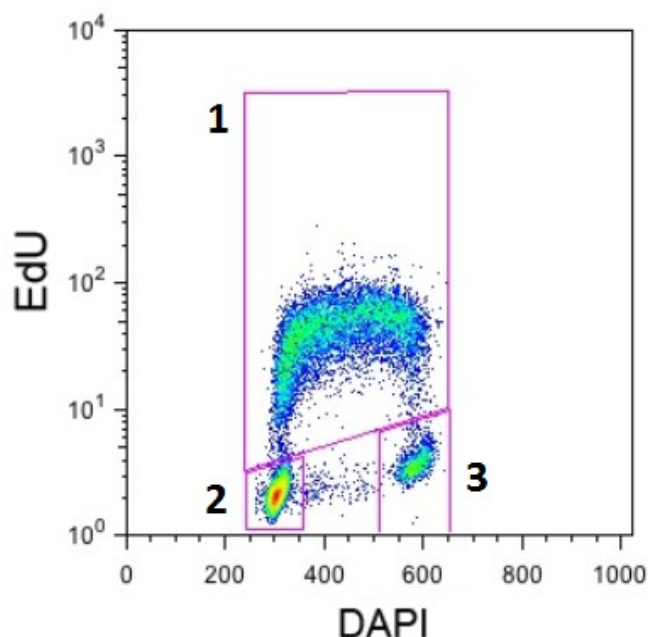
Protilátka č. 1	https://www.antibodies-online.com/antibody/6852552/anti-Dystrophin+Related+Protein+2+DRP2+pThr514+antibody+Alexa+Fluor+750/
Protilátka č. 2	https://www.thermofisher.com/antibody/product/FOXP3-Antibody-clone-FJK-16s-Monoclonal/58-5773-82
Protilátka č. 3	https://www.thermofisher.com/antibody/product/IFN-gamma-Antibody-clone-XMG1-2-Monoclonal/RM90022
Protilátka č. 4	https://www.thermofisher.com/antibody/product/CD25-Antibody-clone-PC61-5-Monoclonal/56-0251-82
Protilátka č. 5	https://www.thermofisher.com/antibody/product/FAS-Antibody-clone-DX2-Monoclonal/MHCD9528?imageId=2540
Protilátka č. 6	https://www.thermofisher.com/antibody/product/SARS-CoV-2-Spike-Protein-RBD-Antibody-clone-P05DHu-Recombinant-Monoclonal/53-6490-82?imageId=731900

Tabulka 3: Protilátky cytometristy Davida.

protilátka	protein	funkce v buňce	intra / extracelulární barvení	excitace (nm)	emise (nm)
1					
2					
3					
4					
5					
6					

Tabulka 4: Davidův panel protilátek (dnes má špatný den a je jich jenom šest).

- Pomoz mu a doplň tabulku (Tabulka 4). Najdi, co dané protilátky značí, zjisti funkci těchto proteinů v buňce. Na stránkách také zjisti, jakým fluoroforem jsou značeny a doplň, jestli tyto protilátky značí proteiny uvnitř nebo vně buňky (intra/extracelulární barvení). Pomocí Fluorofinderu pak urči jejich excitační a emisní maxima.
 - Nyní již víš, při kterých vlnových délkách se dané fluorofory nejvíce excitují. Pro každý fluorofor nyní vyber nejvhodnější laser.
6. A teď se po zvládnutí nezbytného základního gateování a sestavování panelu konečně dostáváme k nějakým zajímavějším datům. Nahlédneme do tajů buněčného cyklu. Život buňky se skládá ze čtyř fází: G1, S, G2 a M, každá tato fáze je pro buňku nějakým způsobem důležitá a přechody mezi těmito fázemi jsou přísně kontrolovány. G1, S a G2 jsou fáze, kdy buňka připravuje vše potřebné tomu, aby se posléze během M fáze mohla za relativně krátký čas rozdělit na dvě dceřiné buňky. V populaci buněk je zpravidla každá buňka v jiné fázi buněčného cyklu. K tomu abychom mohli rozlišit, kde se zrovna ta či ona buňka nachází, se nejčastěji používá detekce množství DNA. Pomocí cytometru to lze udělat velmi jednoduše.
- Jak se v průběhu buněčného cyklu mění množství DNA v jádře a proč?
 - Kolik chromatid má lidská buňka těsně před mitózou? Na obrázku 10 vidíte populaci buněk v různých fázích buněčného cyklu. Buňky jsou zobrazeny podle míry fluorescence dvou barviček. Na ose x je míra intenzity fluorescence barvičky DAPI, což je látka značící veškerou DNA. Na ose y je vynesená intenzita ethynyl deoxyuridinu (EdU). Tato látka byla přidána k buňkám do média na krátkou dobu ještě před tím, než se buňky zafixovaly.
 - Jakou molekulu důležitou pro fungování života Ti EdU připomíná?
 - Ve které fázi buněčného cyklu a do jaké struktury se v buňce ukládá?



Obr. 10: Profil buněčného cyklu podle barvení EdU a DAPI.

- Samotné EdU ale fluorescenční není. Musí se proto nějak vizualizovat. K tomu by se dala použít fluorescenčně značená protilátka. Namísto toho se ale zpravidla používá čistě chemická fúze fluoroforu k EdU na principu takzvané click chemistry (click-iT) reakce.
- V čem je tento způsob značení výhodnější než požití klasické protilátky? Dokážeš najít nějaké podrobnosti o principu této chemické reakce?
 - Teď už ale zpátky k našemu grafu. V rámci heterogenní populace buněk jsou v ní zřetelně rozlišené tři subpopulace. Dokážeš (třeba i s pomocí odborné literatury) určit, v jaké buněčné fázi se nacházejí buňky jednotlivých subpopulací (1-3)?
 - Proč jsou ty subpopulace jen tři, když buněčný cyklus má čtyři fáze?
 - Dokážeš vymyslet nějaký (klidně jen teoretický) způsob, jak pomocí cytometru rozeznat i čtvrtou fázi buněčného cyklu?

Úloha 3: Živočišné zbraně hromadného ničení

Autor: Marek Kasner

Počet bodů: 18

Živočichové se v průběhu svého života setkávají podle svého postavení v potravním řetězci s mnoha rozličnými překážkami, které jim brání spokojeně žít a prosperovat. Evoluce ale

zařídila plejádu adaptací, které jim žití přeci jen dělají trochu snazší. Představte si třeba, že jste vrcholový predátor a potřebujete sehnat živočišnou potravu, abyste naplnili své metabolické potřeby. Vaše kořist samozřejmě v evolučním závodě ve zbrojení také nezaostává, takže je z vašeho pohledu potřeba vytvářet stále nové způsoby, jak ji efektivně ulovit, nebo skončíte o hladu. Jedním z takových je produkce jedů, pečlivě namíchaných chemických koktejlů různého složení a účinků, které pomohou kořist ulovit. V biologii neexistuje patentování, takže jedovaté látky samozřejmě využívá mnoho organismů i na obranu. S jedy se setkáme u mnoha skupin organismů – od nálevníků, které po nepřátelích střílí trichocyty obsahující toxiny, přes rostliny až po obratlovce. Zde se úžeji zaměříme konkrétně na jedy bezobratlých a obratlovců a prozkoumáme, jak nabitou jedovou skříňku, kterou by mohl závidět lecjaký chemik, mají k dispozici, jak tyto jedy využívají a jaké mají jejich jedy účinky. Vše si také zasadíme do evolučního a ekologického kontextu, abyste si nemysleli, že jedy jsou „jen“ chemie. Pro účely úlohy budeme využívat slovo jed ve smyslu látky, která je účelně využívána k útoku nebo obraně živočicha (ne vše, co je v určitém množství jedovaté, musí být nutně jedem).

1. Rozmanitost ve složení živočišných jedů je sice možná menší než u rostlin, účinky ale rozpoznáváme podobné podle napadené tkáně, na kterou jed (či jeho jednotlivé složky) působí. Často se stává, že pro zvýšení účinnosti může být jed směsí několika různě působících látek.
 - a. Do kterých tří nejběžnějších kategorií živočišné jedy podle toho, jaké tkáně nejvíce poškozuji, nejčastěji rozdělujeme? Popište u každé kategorie stručně alespoň jeden mechanismus účinku či příklad poškození, které intoxikaci vznikne.
 - b. Ke každé kategorii přiřaďte dva zástupce (do druhu), jednoho bezobratlého a jednoho obratlovce, který takovou kategorii jedů využívá (může se tedy jednat i o jednu z více složek). Jeden druh živočicha ale v případě jeho využití vícesložkového jedu přiřaďte pouze k jedné kategorii.
2. Po tom, co jste se seznámili s tím, jak jedy fungují a s některými jedovatými zástupci, možná jste si přitom, nebo už někdy předtím, položili otázku, který živočich je nejedovatější, nebo který je jedovatější než ten druhý. Tato otázka je poměrně složitá na zodpovězení, a ačkoliv se lidé snaží účinky kvantifikovat, může být problém ve skutečnosti složitější. Pojďme se nad tím zamyslet.
 - a. Co je to LD50 a co nám udává její konkrétní hodnota? Proč často nemusí být pro člověka tato hodnota vypovídající pro jeho výsledný zdravotní stav, pokud dojde k intoxikaci zvířetem v reálné situaci (alespoň jeden důvod)?
 - b. Porovnávat účinnost jednotlivých chemických látek je jedna věc. Jen málokdy je ale možné uvažovat černobíle a v biologii to platí dvojnásob. Z pohledu českého obyvatelstva rozhodněte, který druh je teoreticky nebezpečnější: zmije obecná (*Vipera berus*), nebo včela medonosná (*Apis mellifera*)? Svě tvrzení zdůvodněte minimálně jedním argumentem, různým pohledům se meze nekladou.
3. Pokud živočich nevyužívá svůj jed jen k pasivní obraně, ale slouží mu především jako účinný prostředek k lovu kořisti, vyvinuly se u takových druhů specializované struktury,

ry, které slouží ke vpravení smrtících látek do těla. Při tvorbě adaptací na konkrétní způsob života jsou často využívány již existující části těla, které měli často původně jiný účel. Takovou specializovanou strukturu můžete vidět i na obrázku 11 níže. Na méně nebezpečné příbuzné tohoto zástupce můžete narazit například i v oblasti Středomoří, ale třeba v tropických oblastech už si setkání raději dobře rozmyslete.

- a. Kterému rodu živočichů tato struktura patří? Zařaďte ho dále taxonomicky do třídy.
- b. Z jaké původní struktury se vyvinula? Co je původní účel této struktury?
- c. Jed těchto živočichů může podle potřeby měnit složení (čímž navíc zamezují schopnost kořisti se přizpůsobit a jed se naučit tolerovat), ale obecně se jedná o extrémně účinný toxin, který je nebezpečný pro člověka. Při jaké činnosti by mohl být (a je) člověk typicky ohrožen tímto živočichem?



Obr. 11: Struktura z otázky 3. – <https://media.dan.org/>

4. Ačkoliv si většina jedovatých živočichů syntetizuje jed sama, existují i takoví, kteří to sami o sobě neumí. Jed ale ve výsledku na obranu nebo útok využívat umí.
 - a. Popište stručně alespoň dvě strategie, jakými mohou živočichové disponovat jedem, i když ho sami ve vlastním těle neumí vytvářet. Ke každému způsobu napište jednoho zástupce, který takovou strategii využívá.
 - b. Proč může být výhodné přímo nesyntetizovat jed ve vlastním těle, ale získávat ho jiným způsobem? Zkuste zauvažovat a napsat alespoň jeden takový důvod.
5. Pokuste se s nabitými znalostmi teď vcítit do role vyšetřovatele dvou imaginárních případů týkajících se jedovatých živočichů. Prozkoumáte tím hned dva zajímavé fenomény.
 - a. Pravděpodobně dost nepozorný chovatel zvířat, navíc s nedostatečnými znalostmi biologie, měl v místnosti několik terárií s různými druhy žab. Jednoho dne ke svému zděšení našel ve stejné místnosti také svou kočku, kterou od předchozího dne neviděl, jak leží bezvládně mrtvá na podlaze. Bylo mu hned jasné, že kočka musela některou z žab sežrat, ale protože terárii měl v různých místnostech moc, neměl žáby tak dobře spočítané. V teráriích byly rozděleny tyto žáby: 1) pralesničky strašné (*Phyllobates terribilis*), které si od-

chovával už od vajíček; 2) v akváriu vedle měl zrovna i jejich pulce; 3) před týdnem si nechal poslat speciální dodávku pralesniček zlatopruhých (*Phyllobates aurora*) přímo z pralesa z Kolumbie, které byly ve vedlejším teráriu a v této místnosti bylo 4) ještě terárium s ropuchami obrovskými (*Rhinella marina*). Zdůvodněte, ze kterých terárií/kterého terária či akvária si hladová kočka mohla teoreticky dát svou poslední svačinku, pokud budeme brát v potaz, že snědla jen jednu žabu? Mohla by jít z některých terárií/akvária i bez následků? Pokud ano, napište, ze kterých a tvrzení zdůvodněte.

- b. Druhý případ se odehrál v zoo, kde se neznámým způsobem dostaly ven ze svých terárií dva druhy hadů: chřestýš diamantový (*Crotalus adamanteus*) a kobra indická (*Naja naja*). Pro neštěstí místních savců byla ošetřovatelem nalezena druhý den mrtvá vačice virginiská (*Didelphis virginiana*) a ve vedlejším vnitřním výběhu mrtvá promyka mungo (*Herpestes edwardsii*), které se z nějakých důvodů nepodařilo, nebo nechtělo, hadům sežrat a pouze je uštkli. Hadi se pravděpodobně stále zdržují v blízkosti. Který zástupce hadů může za smrt vačice a který promyky, a tudíž ho máme hledat v příslušných prostorách? Vysvětlete, proč by to s vysokou pravděpodobností spíše nemohlo být obráceně.

Úloha 4 (experimentální): Sedm barev (rostlinné) duhy

Autor: Kateřina Čermáková

Počet bodů: 25

Neboť toulkám v přírodě syhřavé zimní počasí příliš nepřálo, jal se Bioslav studovat biologické fenomény s hrnkem teplého kakaa ve svém vyhřátém pokoji. Tentokrát sáhl po učebnici biochemie a začal se do kapitoly o fotosyntéze. Nejvíce jej zaujalo povídání o fotosyntetických pigmentech. V ponuré šedo-bílé zimě se Bioslavovi zastesklo po všech těch pestrobarevných odstínech a rozhodl se, že se jim chce sám podívat na zoubek.

Fotosyntéza je biochemický proces, který hraje v dnešní biosféře naprosto klíčovou roli. Pomineme-li některé minoritní, ne však nezajímavé, druhy chemoautotrofů, je v podstatě jediným **zdrojem organického uhlíku v biosféře**. Fotosyntézu lze rozdělit na **2 fáze – světelnou** (na světle přímo závislou) a „**temnostní**“, jejíž samotné reakce sice přímo na světle závislé nejsou (proto „temnostní“), nutně však potřebuje produkty vzniklé ve světelné fázi. **Ve světelné fázi dochází k absorbování světla fotosyntetickým pigmentem a jeho energie je využita na tvorbu protonového gradientu (ten je následně využit k syntéze ATP) a redukčního potenciálu uloženého ve formě redukovaného kofaktoru - NADPH**. Obojí je následně využito v temnostní fázi pro redukci uhlíku v CO₂ a jeho zabudování do organických sloučenin. V této úloze se nejprve v několika teoretických otázkách seznámíme s fotosyntetickými pigmenty a jejich funkcí. V druhé (praktické) části úlohy se s Bioslavem pustíme do samotného experimentu.

1. Klíčovou skupinou fotosyntetických barviv jsou **chlorofyly**. Tato skupina zahrnuje více konkrétních pigmentů, chemicky jsou si však velice podobné a liší se hlavně jiný-

mi postranními skupinami, které jen mírně mění vlastnosti molekuly.

- Molekulu s velice podobnou chemickou strukturou, ale jiným navázaným kovem ve svém centru, najdeme i v našem těle. O jakou molekulu se jedná? Jak nazýváme chemickou strukturu, která tvoří základ této látky i chlorofylu?
 - Kde v rostlinné buňce probíhá syntéza chlorofylu? Srovnaj biosyntézu chlorofylu se syntézou molekuly z předchozí otázky.
 - Molekuly chlorofylu neplavou jen tak volně v chloroplastu (resp. v buňce sinice), nýbrž jsou vázány na různé proteinové komplexy. Uveď 3 konkrétní proteinové komplexy, jejichž součástí je u rostlin chlorofyl.
 - Jak již bylo naznačeno, chlorofyly mají schopnost absorbovat foton. Ne všechny fotony však budou absorbovat stejně ochotně. Obdobně jako jiné látky mají i chlorofyly své charakteristické tzv. absorpční spektrum (pokud bys chtěl vědět od absorpčních a emisních spektrů více, můžeš se podívat např. na ložiskovou úlohu 7-3-5, kde je tato problematika lépe vysvětlena). Nakresli, jak vypadá absorpční profil chlorofylu a. V jakých vlnových délkách světla chlorofyly absorbují nejvíce?
2. Absorpcí fotonu dochází k **excitaci elektronu chlorofylu**
- Chlorofyl excitovaný elektron předává feofytinu (a následně kaskádě dalších **přenašečů**) a během jeho transportu dochází k tvorbě ATP a redukovaných koenzymů. Takový chlorofyl se však dostává do nepříjemného stavu, kdy mu právě onen elektron schází a snaží se jej co nejdříve doplnit. Sinice (a od nich odvozené chloroplasty rostlin) celou záležitost řeší velmi snadně.
 - Která molekula „daruje“ chlorofylu chybějící elektron?
 - Jaká je souvislost mezi tímto jevem a tvorbou ATP během světelné fáze? Vysvětli.
3. Šance, že správný foton dopadne na chlorofyl a bude absorbován však není nikterak závažná. Sinice proto zvyšují šanci na absorbování fotonu přítomností **pigment-proteinových komplexů**, které dohromady tvoří útvary známé jako **fykobilisomy**. Nejčastějšími komplexy jsou **modrý fykocyanin** (s barvivem fykocyanobilinem) a **fykoerythrin** (s fykoerythrobilinem). Ty fungují jako **světlosběrné antény**, předávají energii ze zachycených fotonů přímo chlorofylu a zvyšují tak efektivitu fotosyntézy.
- Do obrázku z otázky 1d dokresli absorpční spektra fykoerythrinu a fykocyaninu. Proč se hodí mít pigmenty absorbující právě v těchto vlnových délkách?
 - Poměr fykoerythrinu a fykocyaninu se odvíjí od více faktorů. Může se měnit také v závislosti na hloubce vody, v níž sinice žijí. Jak se poměr těchto konkrétních dvou pigmentů bude pravděpodobně měnit s rostoucí hloubkou, v níž sinice žijí? Proč tomu tak je?
4. **Vyšší rostliny fykobilisomy nemají**, přesto i ony potřebují maximalizovat efektivitu absorpce světla. K tomu jim opět slouží **protein-pigmentové komplexy** (mj. zmíněné v odpovědi na jednu z předchozích otázek), které opět získanou energii předávají chlorofylu. Přenos energie mezi světlosběrnými pigmenty je velice efektivní (uvádí se efektivita přenosu až působivých 99 %). Jakým způsobem dochází mezi pigmenty k přenosu energie? Co

je důležitou podmínkou tohoto druhu přenosu? Jakou roli v tomto hrají proteiny tvořící s pigmenty komplex?

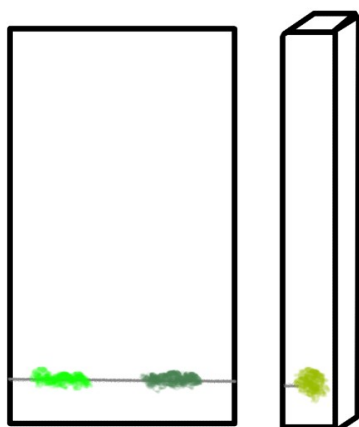
5. Bavili jsme se o fykobilinech sinic a karotenoidech vyšších rostlin (*Embryophyta*), což ale nejsou jediné fotosyntetické organismy. Které pomocné fotosyntetické pigmenty (která skupina) jsou typické pro tyto taxonomické skupiny:

„Zelené řasy“ (*Chlorophyta*), **Ruduchy** (*Rhodophyta*), **Glaukofyty** (*Glaucophyta*)

Nyní již následuje praktická část. Bioslav se vrhnul na izolaci barviv z rostlinného materiálu, který našel venku na zahradce, na okenním parapetu i ve své ledničce. Rozhodl se pro přípravu 3 vzorků, přičemž postup byl vždy stejný. Bioslav vzorek roztřel v misce, přilil k němu několik mililitrů 93% ethanolu a výslednou směs přefiltroval přes kapesníček, aby se zbavil makroskopických zbytků.

6. Izoláty z předchozího úkolu byly samozřejmě směsí. Představu o složení směsi barviv získal Bioslav až díky chromatografii. **Chromatografie** je velice užitečná metoda, díky níž můžeme efektivně **separovat jednotlivé složky z roztoku**. Existuje mnoho variant této metody, jež k separaci využívají rozličných vlastností složek směsi. Základem je vždy **mobilní fáze (eluent, rozpouštědlo)**, která prochází skrze **stacionární (pevnou) fázi (např. filtrační papír)**. Jednotlivé složky ze směsi pak stacionární fází prostupují odlišnou rychlostí. Ačkoliv se může jednat i o relativně sofistikovanou metodu, v základní zjednodušené sestavě se dá provést i s materiály dostupnými doma. Bioslav si pohrál se dvěma DIY variantami – jako stacionární fází použil obyčejnou čtvrtku vytrženou ze skicáku a bílou školní křidu (u té dosáhl o něco lepších výsledků). Jako eluent použil v obou případech 93% ethanol.

- Na křídě i čtvrtku označil (1,5 cm od kraje) obyčejnou tužkou startovní čáru, na kterou pak kapátkem nanášel v několika vrstvách barevné extrakty (nanášel vrstvu extraktu, nechal jej zaschnout a opět pokračoval v přidávání další vrstvy). Připravené vzorky odpovídaly obrázku 12.

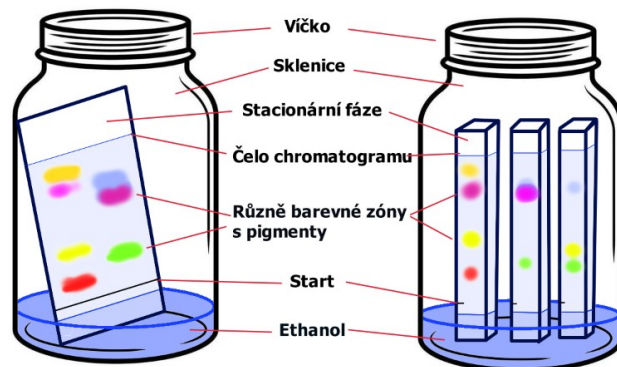


Obr. 12: Stacionární fáze s nanesenými extrakty.

- Na dno velké sklenice Bioslav nalil tolik ethanolu, aby po vložení vzorků jeho hladina dosahovala těsně pod startovní čáru.
- Připravené čtvrtky a křídě vložil do sklenic s alkoholem a nechal chromatografii vyvíjet (viz obr. 13),

dokud eluent nevyvzlínal kousek pod okraj stacionární fáze. Nenechal jej vzlínat až na samý konec.

- Čtvrtky a křídě vyňal ze sklenic, poznačil si tužkou čelo chromatogramu (výška, kam až dosáhl eluent) a nechal je důkladně vyschnout.
- Změřil pozici barevných zón a pro každou si zaznamenal retenční faktor.



Obr. 13: Bioslavův experiment – vyvíjení chromatogramu.

- Vysvětlí, co je to retenční faktor. Proč Bioslav zaznamenával retenční faktory pro dané pigmenty; nestačí udávat jen absolutní vzdálenost zóny od startu?
 - Na jakých faktorech retenční faktor pro danou látku může obecně záviset? Uveď alespoň 4 příklady. Nemusíš se omezovat pouze na základní chromatografii dle Bioslava, ale inspiraci můžeš čerpat i v sofistikovanějších chromatografických separacích.
7. Nyní je řada i na tobě, proved' vlastní experimenty, vše zaznamenej do protokolu a nezapomeň v protokolu zodpovědět níže uvedené otázky.
- Vyber si 3 libovolné vzorky rostlinných materiálů, o nichž se domníváš, že jsou fotosynteticky aktivní. Z každého vzorku vytvoř extrakt barviv. Můžeš se nechat inspirovat Bioslavem, nebo si svůj postup můžeš nějak vylepšit (např. použití jiného rozpouštědla než ethanolu, jiný postup extrakce, další aditiva). Každý vzorek se pokus alespoň jednou chromatograficky rozdělit.
 - Vyfoť či nakresli svůj chromatogram. Jaké zóny na něm lze rozlišit? Pokus se určit, o jaké pigmenty (či skupiny pigmentů) by se mohlo jednat a napiš, jak jsi ke svým závěrům došel.
 - Jaké funkce dané pigmenty mají v kontextu fotosyntézy? Byla v některých vzorcích přítomna barviva, která s fotosyntézou nesouvisí? Pokud ano, uveď, k čemu jinému je rostlině užitečné takové pigmenty mít.
 - Pokus se vypočítat retenční faktory jednotlivých zón (je možné, že zóny budou spíše rozmazané, širší, nejasné nebo se mohou i částečně překrývat, ale pokus se o to).
 - Byly mezi zkoumanými vzorky nějaké rozdíly?

BONUS: Bioslav vzal své “neviditelné pero” s UV diodou a právě tímto světýlkem posvítal na extrakt barviv v ethanolu (úplně stejně fungují i různé jiné zdroje UV/fialového světla). Co Bioslav pozoroval? Jak se tento jev nazývá a který pigment (skupina pigmentů) je za něj zodpovědný?

Úloha 5 (seriálová): Za novým domovem

Autor: Tereza Štochlová

Počet bodů: 22

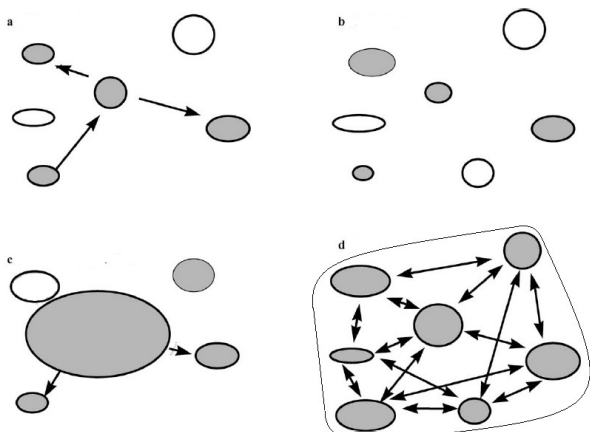
V předchozích dvou dílech letošních seriálových úloh jste se zaměřili na migraci tak, jak je klasicky definována – tedy jako opakovaný, periodický tah z jednoho místa na druhé a pak zase zpět. Migraci lze ovšem chápat také v širším slova smyslu, jako šíření jedinců na nová území. Nutno podotknout, že v tomto případě panuje značná nejednotnost v terminologii a takovýto přesun jedinců se dá označit také jako disperze nebo rozptyl, případně migralita. V každém případě se však samotní jedinci podnikající toto stěhování označují jako migranti, v tom už se názvosloví shoduje.

Emigrace a imigrace jedinců z a do populací jsou vedle natality a mortality hlavními procesy, které ovlivňují populační dynamiku. V případě, že se daný druh vyskytuje ve fragmentovaném, heterogenním prostředí, může mít migrace mezi těmito lokalitami ještě významnější vliv. Poté na tyto lokální populace koukáme jako na celek a označujeme je souhrnně jako **metapopulaci**.

Termín metapopulace, který použil poprvé v roce 1969 Richard Levins, tedy popisuje soubor menších (sub)populací, které jsou propojeny migrujícími jedinci. Podstatné je, že sem zahrnujeme i ta stanoviště, která jsou pro daný druh vhodná, ale na kterých se v současné době nevyskytuje. Populace všech druhů totiž v čase fluktuují (počet jedinců se zvyšuje a zase snižuje), a tak je běžné, že některé lokální populace vyhynou, zvláště pokud jsou malé. Po nějakém čase se zde druh ale může usídlit znovu. Pro metapopulační strukturu je tedy typické, že se osídlení jednotlivých stanovišť (neboli plošek) postupně mění – na některém místě druh vymizí, pak se na toto místo ale rozšíří jedinci odjinud a populace zde zase vznikne, mezitím vyhyne na jiném místě a tak dále.

Abychom mohli uspořádání populací označit za metapopulaci, je tedy důležité, aby od sebe byly jednotlivé subpopulace odděleny nevhodným prostředím, kde daný druh nežije, ale zároveň jsou jedinci schopni přes něj migrovat z jedné subpopulace do druhé. Každá lokální populace zároveň také může vymřít, a to včetně té největší. Aby metapopulace však byla udržitelná, nesmí se toto stát všem subpopulacím najednou, ale různě v čase alespoň částečně nezávisle na sobě.

1. Podívejte se na následující obrázky (obr. 14). Které z nich zobrazují metapopulaci a které nikoliv? Vysvětlete, proč.



Obr. 14: Různé populační struktury. Osídlené plošky jsou vyznačeny šedě, neosídlené bíle. Šipky naznačují migraci. Upraveno dle Ariey et al. (2003)

Při modelování metapopulační dynamiky počítáme se třemi základními parametry: mírou kolonizace (M), mírou extinkce (E) a proporcí osídlených plošek (p). Přitom chceme sledovat, jak se proporce osídlených plošek mění v čase (t). Míra kolonizace určitou dobu roste s počtem osídlených plošek, protože více subpopulací znamená více migrantů. Postupem času však začnou docházet vhodná stanoviště, která by se dala osídlit, a tak míra kolonizace zase začne klesat. Pro výpočet míry kolonizace zavádíme tedy ještě konstantu, kolonizační parametr (m). Míra extinkce naopak roste přímo úměrně s počtem osídlených plošek, protože čím více subpopulací existuje, tím více jich může vymřít. Pro výpočet míry extinkce zavádíme obdobně extinkční parametr (e). Vše si můžeme matematicky shrnout v následujících rovnicích:

$$\frac{dP}{dt} = M - E$$

- Tato rovnice tedy říká, že míra změny osídlených plošek v čase závisí na míře kolonizace a míře extinkce.

$$M = mp(1 - p)$$

$$E = ep$$

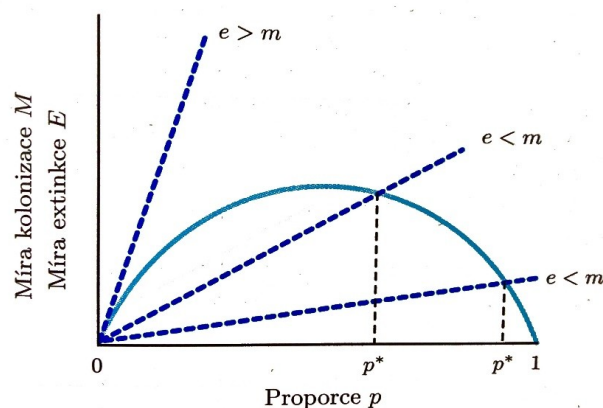
- Tyto dvě rovnice ukazují, jak vypočítáme míru kolonizace a míru extinkce. Jak jsme si řekli výše, míra kolonizace závisí kromě počtu osídlených plošek také na ploškách neosídlených ($1 - p$), protože pokud je neosídlených stanovišť málo, není co kolonizovat.

$$\frac{dP}{dt} = mp(1 - p) - ep$$

- Po dosazení do původní rovnice dostáváme původní Levinsův model pro dynamiku metapopulací.

Pokud je metapopulace v rovnováze, míra kolonizace a míra extinkce se sobě rovnají. Kolonizační a extinkční parametr jsou konstanty, a to, zda je extinkční parametr větší nebo menší než kolonizační, ovlivňuje osud celé metapopulace.

- Podívejte se na graf (obr. 15). Co se stane, pokud je extinkční parametr větší než kolonizační parametr?



Obr. 15: Graf popisující závislost míry kolonizace (plná čára) a míry extinkce (přerušovaná čára). Ekvilibrální proporce osídlených plošek pro daný poměr e a m , kdy je metapopulace stabilní, je označena p^* . Podle Tkadlec (2008).

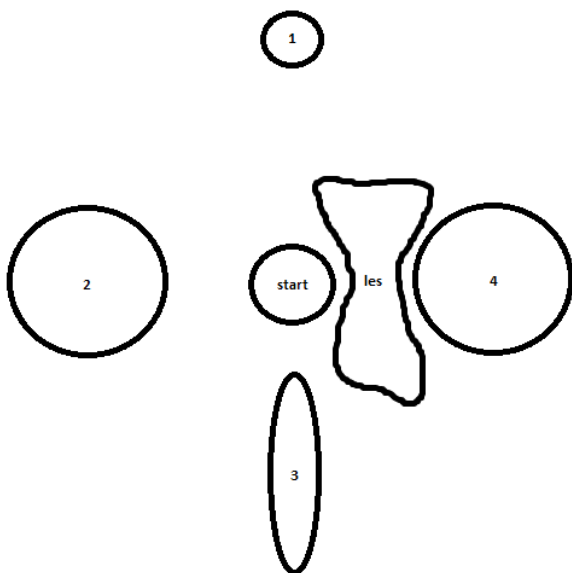
3. Při jaké velikosti proporce osídlených plošek p je míra kolonizace M nejvyšší?

Je ovšem třeba mít na paměti, že tento základní model je značně zjednodušený a nepočítá s vlivy, které v přírodě reálně pozorujeme, jako například to, že populace nejsou rovnocenné, každá je jinak velká, jsou od sebe různě vzdálené apod. Proto existují i jiné, složitější modely, do kterých jsou tyto a další charakteristiky zakomponovány.

4. Jak bude velikost plošky a její vzdálenost od ostatních ovlivňovat míru kolonizace a extinkce? Kdy bude kolonizace či extinkce menší a kdy naopak poroste v závislosti na obou uvedených parametrech?

Podívejte se na následující obrázek 16. Představte si, že máme luční druh hmyzu, který se vyskytuje na stanovišti označeném jako „start“. Stanoviště 1, 2, 3 a 4 označují další vhodné lokality. Mezi stanovišti „start“ a 4 se vyskytuje les, mezi ostatními stanovišti ne.

5. Na které z následujících stanovišť bude největší míra migrace? Seřadte a vysvětlete, proč.



Obr. 16: Hypotetické rozložení vhodných stanovišť pro luční druh hmyzu.

Na následujícím výzkumu si ukážeme, jak může být metapopulační dynamika složitá. Moilanen et al. (1998) sledovali vývoj metapopulace pišťuchy *Ochotona princeps* (obr. 17). Sledovaná metapopulace mohla být rozdělena na tři skupiny, přičemž každá z nich vykazovala jinou proporcí osídlených plošek a populační dynamiku. Ta byla nasimulována pomocí modelů, a to jednak pro každou skupinu zvlášť, jednak pro celou metapopulaci dohromady. Výsledky souhrnně ukazuje obrázek 18.



Obr. 17: Pišťucha (*Ochotona princeps*). Převzato z google.com.

6. Popište grafy z obrázku 18 (na další stránce).
- Která skupina lokalit byla nejhustěji osídlena?
 - Jaký trend vykazovala jižní skupina lokalit od roku 1972 do roku 1991?
 - Jak by se změnila dynamika metapopulace, pokud by jednotlivé skupiny nebyly propojeny migrací?
7. Jak zní odborný anglický termín pro situaci, ve které migranti z jedné subpopulace zachránějí druhou subpopulaci před vymřením?
8. Souvisejícím termínem je ještě tzv. source-sink dynamika. Vysvětlete, tak tento typ dynamiky funguje. Která varianta (a, b, c, d) z obrázku 14 tuto situaci zobrazuje?

Kromě pišťuch se v přírodě s metapopulační strukturou setkáváme u mnoha druhů organismů, typicky u různého hmyzu, často u motýlů, dále například u různých obyvatelů tůní, jako jsou perloočky nebo skokani, a mnohých dalších.

9. Najděte tři výzkumy, které se zabývaly metapopulační strukturou různých druhů. V odpovědi vždy uveďte jméno druhu a citaci článku. (Př. citace: druh – jméno autora, rok)

Naopak u velkých, dlouhověkých druhů často metapopulační strukturu nepozorujeme, nebo ji přinejmenším nejsme schopni prokázat.

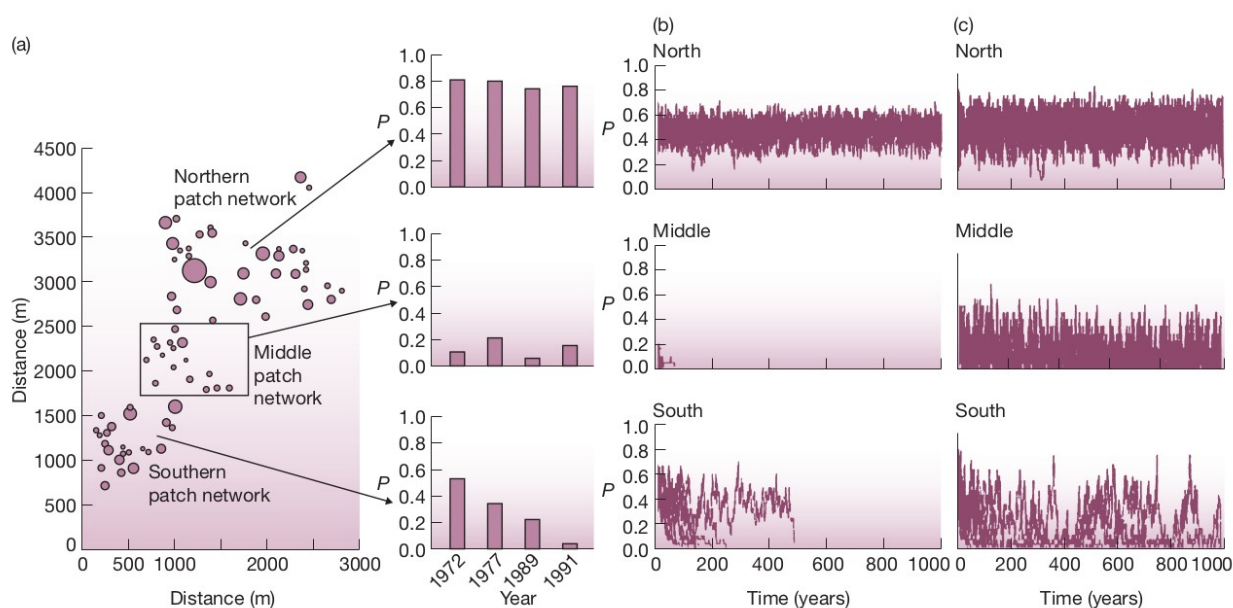
10. Proč? Zamyslete se nad základními charakteristikami metapopulace.

U rostlin je v mnohých případech situace ještě komplikovanější. Na určité lokalitě totiž může populace daného druhu rostliny vyhnout a za několik let se zde opět objevit, přesto nemůžeme s jistotou říct, že se jedná o migranty z jiné plošky, a tedy se jedná o metapopulaci.

11. Jak je to možné?

Jak tedy rozpoznat metapopulaci v reálu? Metod je samozřejmě hned několik a v praxi se různě kombinují. Jednou z nich je metoda zpětných odchytů (také capture-mark-recapture), při níž se odchytávají jedinci, kteří se označí a vypustí zpět. Poté následuje další fáze odchytů, kdy se zaznamenává, kolik z chycených jedinců již bylo označeno. Tato metoda se používá pro určování velikosti populace, ale lze ji využít i pro potvrzení migrace mezi lokalitami a určení její míry. Další možností je sledování pomocí telemetrie – tedy známé vysílačky a „batůžky“, převážně u větších zvířat. Nejspolehlivější jsou pak nejspíš genetické metody, které nám spolehlivě řeknou, zda a jak moc mezi danými populacemi probíhá tok genů.

Všechny tyto informace o ekologii a genetice daného druhu jsou pak využívány v ochraně přírody, a to několika způsoby.



Obr. 18: Metapopulační dynamika americké pištuchy (*Ochotona princeps*) v Bodie, Kalifornii. (a) Relativní poloha (vzdálenost od jihovýchodního bodu studované oblasti), přibližná velikost (jak ukazuje velikost bodů) obyvatelných lokalit a osídlení (jako podíl P) v severní, střední a jižní skupině plošek v letech 1972, 1977, 1989 a 1991. (b) Dynamika tří skupin, kdy každá skupina je simulována samostatně. Zde je zobrazeno 10 opakování, leží přes sebe. Každé začalo daty aktuálními pro rok 1972. (c) Simulace shodná s (b), ale provedena s metapopulací jako jedním objektem. (Moilanen et al. 1998)
Převzato z Townsend et al. (2003)

Jednak díky studiu metapopulací víme, že pro druhy s touto strukturou jsou důležitá i ta stanoviště, která jsou v současnosti neosídlená. Je tedy důležité chránit i je.

12. Jak se v ochraně přírody nazývá metoda propojení jednotlivých lokalit, tak, aby mezi nimi mohlo probíhat šíření jedinců?

Také na základě genetických výzkumů zjistíme, zda mezi jednotlivými populacemi probíhá (či v nedávné minulosti probíhala) výměna genů, a pokud ne, umělému propojování těchto populací raději zabráníme.

13. Proč? Co by se mohlo stát, pokud by se spolu smíchaly dvě nepříbuzné populace druhu?

S tím souvisí ještě poslední věc, kterou v této úloze zmíníme. Představte si dvě populace druhu propojené migrací. Z nějakého důvodu však najednou mezi těmito populacemi jedinci migrovat přestanou – vznikla zde nějaká bariéra a jedna z populací je tak kompletně izolovaná od zbytku.

14. Co se s touto populací může stát? Uveďte dvě varianty.

