

Molekulární ekologie není ekologie molekul

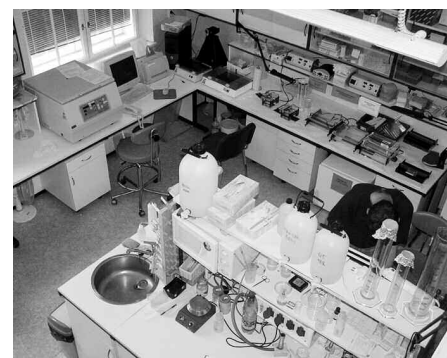
V poslední době se stále častěji setkáváme s pojmem molekulární ekologie. Tento termín je poněkud zavádějící. Neoznačuje totiž žádnou ekologii molekul, jak by se snad mohlo zdát. Ve skutečnosti jde o obor, který se pomocí molekulárních metod snaží řešit některé klasické ekologické otázky. Je to tedy poněkud uměle vytvořená disciplína vymezená technickým přístupem. Proč však něco takového vyčleňovat jako nový obor? Důvodů pro kladnou odpověď je hned několik.

Molekulární metody představují mocný nástroj, pomocí něhož dokážeme odpovědět na otázky, o jejichž řešení se nám dříve snad ani nesnilo. Molekulární ekologie se proto stala nesmírně populární, což dokládá dramatický nárůst počtu článků zasvěcených tomuto oboru, existence oblíbeného časopisu stejného jména (Molecular Ecology) i nedávné vydání první učebnice. Není ani divu, zabývat se molekulární ekologií je nesmírně objevné a zábavné, snad proto, že výzkum často připomíná řešení kriminálních zápletek. Dalším důvodem je, že i přes svůj poněkud heterogenní původ tvoří molekulární ekologie překvapivě kompaktní celek. K řešení velmi odlišných úloh se totiž často využívají obdobné molekulární i interpretační postupy. Podívejme se tedy podrobněji na to, čím se molekulární ekologie zabývá, jaké metody používá a jaké možnosti poskytuje.



*Kvalitní DNA se podařilo získat např. z mamutů (*Mammuthus primigenius*). Převzato z J. Šováka (1998)*

Většina molekulárně-ekologických prací dnes využívá informaci obsaženou v DNA. Po izolaci DNA se obvykle sekvenuje vybraná oblast nebo se analyzuje počet za sebou uspořádaných opakovaných úseků na určitém lokusu (nejčastěji jde o tzv. mikrosatelitový lokus, ve kterém se opakují velmi krátké motivy). Jako zdroj DNA poslouží téměř libovolné tkáně obsahující buňky s jádry. Díky tomu, že úsek DNA, který nás zajímá, dokážeme v laboratoři namnožit do velkého množství kopií i z původních několika málo molekul, stačí nám pro naše



*Myš domácí (*Mus musculus*) je oblíbeným modelovým druhem i v Laboratoři evoluční genetiky živočichů (viz text), nahoře. Foto P. Munclinger a B. Bímová ♦ Dole interiér laboratoře pro práci s DNA. Foto J. Schnitzer*

studie obvykle velmi malé množství tkáně. U živočichů s jadernými erytrocyty (např. u ptáků) postačí malá kapka krve. DNA lze však izolovat i ze stěrů ústní dutiny, z trusu, chlupů, obsahu žaludku, odpadlých pokožkových buněk, často i z muzejních exponátů. Tyto možnosti nabývají mimořádného významu při studiu vzácných a ohrožených druhů. DNA je možné získat do určité míry i z fosilních zbytků organismů. Úspěšnost takové izolace však závisí na podmínkách

uchování a je výhodou, pokud se vzorky vyskytovaly v prostředí s nižší teplotou. Kvalitní DNA se podařilo získat např. z mamutů (*Mammuthus primigenius*), u kterých se následně podařilo přecíst kompletní sekvenci mitochondriální DNA i řadu sekvencí DNA z jádra.

Klasickým problémem, který molekulární ekologie řeší, je příbuznost na nejrůznějších úrovních, od určení paternity až po příbuznost celých populací. Studium příbuzenských vztahů je samozřejmě možné dále rozšířit i na druhy a další vyšší systematické skupiny. Tím se zabývá příbuzný obor — molekulární fylogenetika. Za nejjednodušší případ příbuznosti lze považovat identitu. Odlišení jedinců by se mohlo zdát jako triviální úloha, nicméně rozlišit, zda pobytové stopy (např. trus, chlupy nebo peří) po sobě v přírodě zanechalo více jedinců nebo jen jeden a navíc jednotlivé stopy jednoznačně přiřadit individuům, může být značně problematické a bez použití molekulárních metod zpravidla nemožné. S využitím již zmíněných mikrosatelitových lokusů však lze podobné úlohy úspěšně řešit. Podařilo se tak např. vysledovat velikost okrsků a pohyb medvědů v izolované ohrožené populaci v Pyrenejích. Zajímavé je, že se zde analýzou DNA z trusu a chlupů podařilo prokázat výskyt nového jedince, který předtím nebyl zaznamenán pomocí stop ani fotografií. U nás byly takto sledovány např. vydry na Třeboňsku. Často lze také



Hyl rudý (Carpodacus erythrinus) je druhem, u něhož byla zjištěna asi 60% shoda mezi sociálním a biologickým otcem. Foto J. Schnitzer

z podobných stopových vzorků určit pomocí molekulárních metod pohlaví a dokonce i odhadnout stupeň příbuznosti konkrétních jedinců.

Možnost genetického ověření rodičovství — paternity rádně otrásla naši představou o životě zvířat. Např. u ptáků se před nástupem molekulárních metod myslelo, že jsou si většinou věrní. Dnes víme, že druhy, u kterých alespoň v malé míře samice nepodvádí své partnery s jinými samci, jsou u ptáků spíše výjimkou. Za jedněmi z největších ptačích přeborníků v nevěře

nemusíme jezdit nijak daleko. V populacích strnada rákosního (*Emberiza schoeniclus*), který žije i u našich rybníků, může být i více než polovina mláďat mimopárových, tedy vzniklých nevěrou samice svému partnerovi. Někdy, zvláště v případech důkladně vyšetřené izolované populace, lze dokonce i dohledat pro jednotlivá mimopárová mláďata jejich skutečné otce. Díky tomu pak můžeme např. testovat, zda se nevěrní samice nepřipravují o věrnost své partnerky, kterou si kvůli zájmu o jiné samice nestačí pohlídat.

Při studiu populační struktury navazuje molekulární ekologie na poznatky klasické populační genetiky. Pomocí takzvané F statistiky se zjišťuje, nakolik jsou populace izolované od ostatních a do jaké míry v nich probíhá příbuzenské křížení. Pomocí odhadu počtu jedinců, které si populace vymění během jedné generace, dokážeme i určit, jak silná je migrace mezi populacemi. Pokud použijeme jadernou i mitochondriální DNA a dojdeme k odlišným výsledkům, může to nasvědčovat různé míře filopatrie (věrnosti místu narození) samic. Je to tím, že mitochondriální DNA se dědí téměř vždy jen po matce. Pokud se tedy samice budou vracet k rozmnožování do blízkosti místa, kde se samy narodily, a samci nikoli, budou se podobné varianty mitochondriální DNA vyskytovat vždy blízko sebe, ale v jaderné DNA díky pohybu samic nic takového pozorovat nebudeme. Pěkným příkladem může být netopýr velkouchý (*Myotis bechsteini*), u kterého samice tvoří letní kolonie ve stromových dutinách nebo budkách. Samice v jedné kolonii mají velmi podobnou mitochondriální DNA, ale vykazují značné odlišnosti v jaderné DNA.

Někdy se však může stát, že populace nedokážeme na první pohled jasně odlišit a nevíme, kde přesně vést mezi nimi hranici, nebo dokonce není jisté, do kolika populací máme sledované jedince rozdělit. Právě v této oblasti došlo v poslední době ke značnému pokroku díky všeobecnému nástupu nových statistických přístupů v biologii (Bayesiánská statistika). Na základě informace z několika mikrosatelitových lokusů dokážeme odhadnout nevhodnější počet populací a jedince zařadit do té, kam s největší pravděpodobností patří. Podobné přístupy nacházejí užitečné aplikace v ochranné problematice, protože např. umožňují přesně posoudit vliv různých bariér v prostředí (dálnice, železnice, ropovody apod.) na antropogenní fragmentaci populací a omezení migrace.

Zavedení úvah o fylogenezi (zjednodušené řečeno příbuznosti) alel, jejich geografickém výskytu a vzájemné souvislosti těchto dvou jevů vedlo ke vzniku nové disciplíny — fylogeografie. Pomocí fylogeografie dokážeme nejen zjistit, jak jsou populace strukturovány, ale také odhadnout, co se s nimi dělo v minulosti a jak se současný stav historicky vyvinul. Klasickým výstupem fylogeografických studií je určení polohy glaciálních refugií, tedy míst, kde druhy přežívaly v ledových dobách. Překvapivě se zjišťuje, že tato refugia nebyla jen v jižní Evropě, ale že některé druhy měly refugia i středoevropská. Příkladem může být dobře známý lesní hlodavec norčík rudý (*Clethrionomys glareolus*).

Díky přirozeným změnám areálů nebo díky zásahu člověka může dojít ke křížení jedinců z velmi odlišných populací, někdy dokonce považovaných za populace různých

druhů. Takováto křížení jsou oblíbeným objektem výzkumu, neboť nám mohou prozradit, jak dochází ke vzniku reprodukčních bariér mezi nově vznikajícími druhy. Ideální je, pokud je křížení mezi taxony omezeno jen na malé území, ve kterém dochází k paralelním změnám v mnoha znacích. Toto území pak nazýváme hybridní zónou. Jednou z nejznámějších je hybridní zóna myši domácích (*Mus musculus musculus/M. m. domesticus*), která zasahuje i na naše území. V této hybridní zóně se podařilo zjistit neobvyklé chování markerů na pohlavních chromozomech, což může svědčit o zvláštní roli genů vázaných na tyto chromozomy při vzniku nových druhů.

Snad nejprogressivnější oblast molekulární ekologie současnosti je sledování úlohy konkrétních funkčních genů u volně žijících organismů. U amerických pytloušů *Chaetodipus intermedius* se podařilo vypočítat gen, který je odpovědný za variabilní krycí zbarvení. Zbarvení pytloušů pěkně odpovídá prostředí, ve kterém žijí v Arizoně. Na světlé poušti jsou světle zbarvení zhruba jako pískomilové, na sopečných kopcích však žijí pytlouši s tmavým kožíškem, jehož barva je k nerozeznání od tmavých lávových kamenů. Změna zbarvení je způsobena současnou změnou čtyř aminokyselin v proteinu MC1R. Když se však začali zkoumat pytlouši v sousedním Novém Mexiku, kteří jsou obdobně variabilně zbarvení, zjistilo se, že za jejich zbarvení je odpovědný úplně jiný gen. Zbarvení pytloušů se tedy adaptivně rychle mění různými cestami. Zajímavé je, že díky sekvencování fosilní DNA víme, že gen *Mcl1r* byl dědičně proměnlivý i u mamutů, což je v souladu s nálezy tmavě i světle zbarvených jedinců. Nesmírně populární se v současnosti stalo také studium hlavního komplexu tkáňové kompatibility (MHC, tedy geny pro imunitu), proteinů spojených s produkcí anebo proteinů sloužících pachové komunikaci u volně žijících živočichů.

Těžko odhadnout, kam bude molekulární ekologie dále směřovat v budoucnosti. Je velmi pravděpodobné, že během několika následujících let se značně prosadí techniky umožňující sledovat mnoho genů najednou. Již v současnosti se objevují první práce, které využily DNA mikročipy (DNA microarrays) pro studium volně žijících organismů (Živa 2005, 3:98-99). Mikročipy umožňují sledovat, jak se mění exprese (úroveň „zapnutí“ a „vypnutí“) několika tisíc genů během jediného experimentu. Tato technika již byla použita např. u síha *Coregonus clupeaformis*, který se vyskytuje ve dvou velikostních formách, normálně velké a trpasličí. Pomocí mikročipů se podařilo zjistit, které konkrétní geny jsou aktivnější u síhů trpaslíků a které geny se naopak aktivují u normálně velkých ryb. Bohužel jsou mikročipy velmi drahá záležitost, což zatím značně brání jejich širokému použití.

Pokud se chcete zabývat molekulární ekologií, není třeba odjet do některé ze zahraničních laboratoří. Tento obor se zdárně rozvíjí i u nás. Jedním z pracovišť, která se u nás zabývají molekulární ekologií, je Laboratoř evoluční genetiky živočichů, což je společné pracoviště katedry zoologie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze, Ústavu biologie obratlovců AV ČR (pracoviště v Brně a Studenci) a Ústavu živočišné fyziologie AV ČR (Liběchov a Brno).

Pavel Munclinger, Jan Zima