

ANALÝZA PŘENOSU PYLU OPYLOVAČI POMOCÍ PRŮTOKOVÉ CYTOMETRIE

STANISLAV VOSOLSOBĚ¹, KATEŘINA KMECOVÁ⁵, JAN MARTINEK¹
MICHAEL MIKÁT³, EVA HORČIČKOVÁ², JAN PONERT^{1,6} & ZDĚNĚK JANOVSKÝ²

1) Katedra experimentální biologie rostlin PŘF UK, 2) Katedra botaniky PŘF UK, 3) Katedra zoologie PŘF UK
5) Znojmo, 6) Botanická zahrada hlavního města Prahy

vosolsob@natur.cuni.cz

Úvod

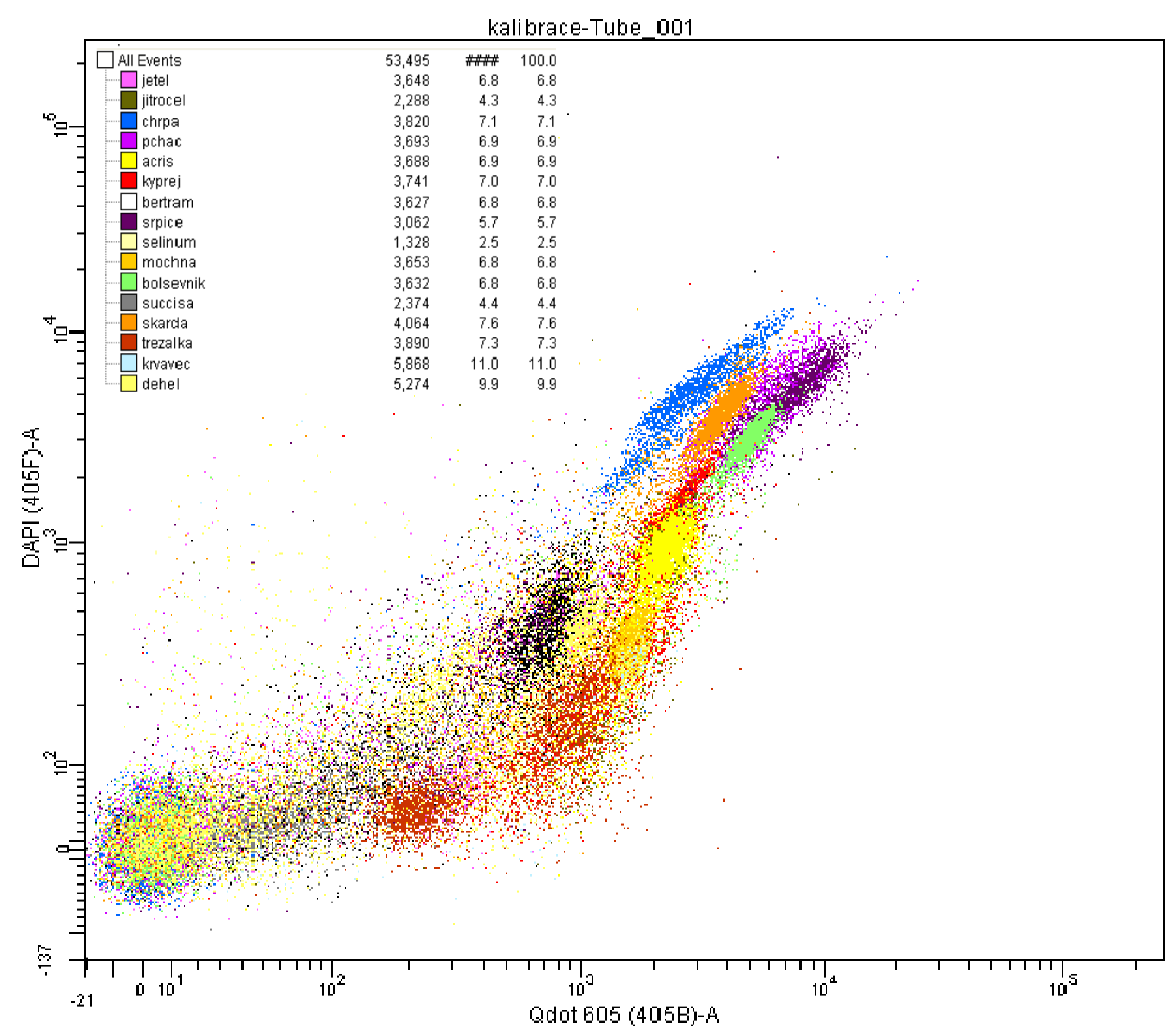
Kvantifikace pylu přenášeného hmyzem je nezbytná pro ekologický popis systému rostlin a jejich opylovačů na lokalitě. Klasická mikroskopická metoda determinace a počítání pylu neumožňuje získat dostatečně velká množství dat, tudíž jsme se pokusili vyvinout novou metodu založenou na průtokové cytometrii.



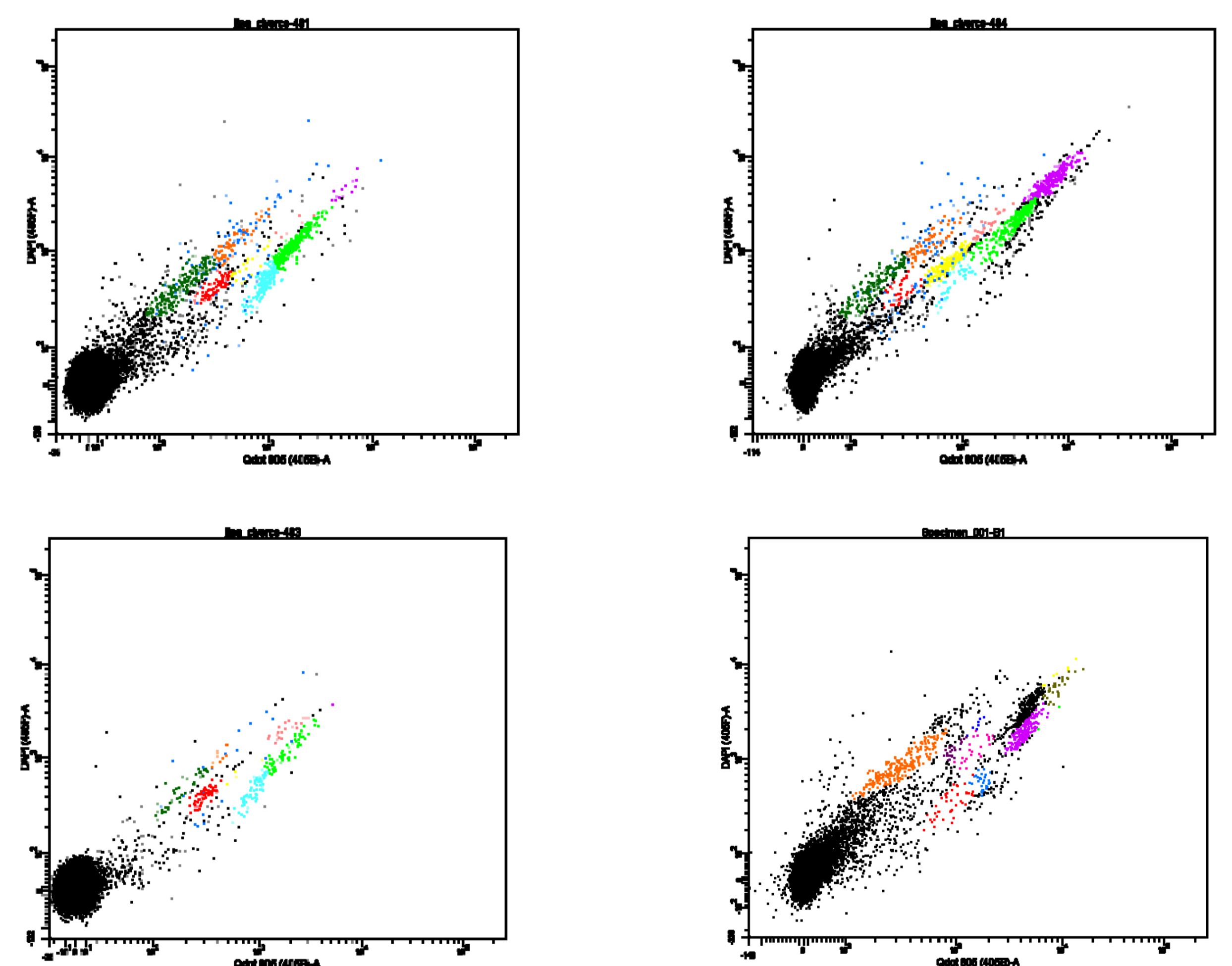
Cíle

- Využití průtokové cytometrie pro determinaci a kvantifikaci pylových zrn přenášených opylovači
- Stanovení změn množství pylu čertkusu přenášeného opylovači v průběhu dne

Výsledky



Cytometrická analýza referenčních vzorků všech druhů pylu z lokality



Ukázky pylových profilů získaných z opylovačů odchycených na čertkusu – je patrná značná variabilita mezi jedinci bez užší vazby k jejich druhové příslušnosti

Studovaná lokalita

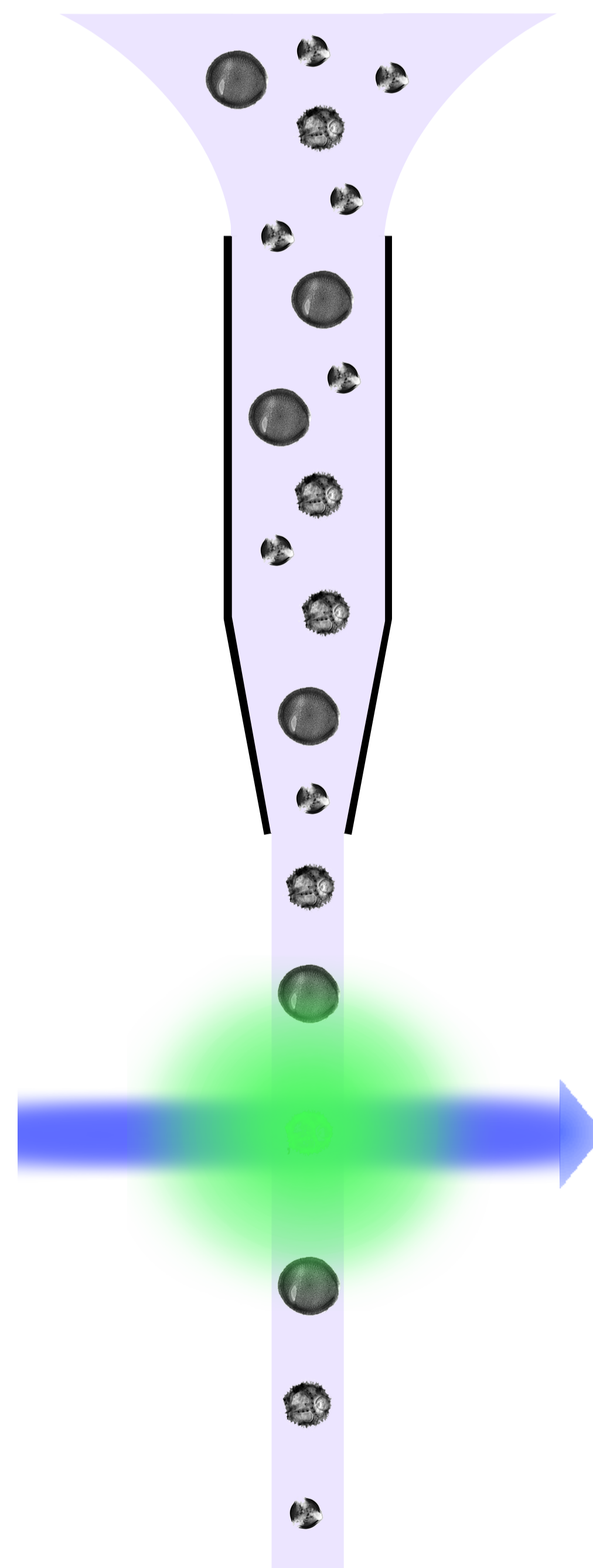
Vlhká oligotrofní dvojsečná louka u obce Vernýřov (JZ Kutnohorsko, 514 m n.m.).

Dominuje čertkus luční (*Succisa pratensis*), řebříček bertram (*Achillea ptarmica*), děhel lesní (*Angelica sylvestris*) a pryskyřník prudký (*Ranunculus acris*). Nejhojnějšími opylovači jsou pestřenky *Eristalis tenax*, *Eristalis interruptus* a *Helophilus trivittatus*.

Metodika

Pyl byl sbírán z opylovačů pomocí bloček fuchsinové želatin. Bločkem byla vždy otřena polovina opylovače. Před vlastním měřením byly bločky rozpuštěny v 1 ml vody při 60°C. Pyl byl centrifugován a resuspendován ve 200 µl vody.

150 µl suspence bylo analyzováno průtokovým cytometrem BD LSR II. Snímány byly emise fuchsinu (červený kanál) a autofluorescence (modrý kanál), obojí při excitaci ultrafialovým laserem.



Závěry

- Průtoková cytometrie má potenciál efektivně analyzovat pyl přenášený hmyzem
- Poskytuje kvantitativní i kvalitativní data
- Zatím nefunguje pro kvantifikaci pylových zrn druhu *Succisa pratensis*, pravděpodobně z důvodu jejich rozpadu v přístroji způsobené jejich značnou velikostí

Poděkování

Vendule Šinkorové a cytometrické laboratoři biologické sekce PŘF UK, Zdeňku Cimburkovi z cytometrické laboratoře ÚMG AV ČR, GAUK č. 82710, GAČR č. P505/10/0786 a Unii pro transport a signalisaci rostlin