

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: N4106 Zemědělská specializace
Studijní obor: Biologie a ochrana zájmových organismů
Katedra: Katedra biologických disciplín
Vedoucí katedry: doc. RNDr. Ing. Josef Rajchard, Ph.D.

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Má UV záření vliv na pohybovou aktivitu pulců žab?

Vedoucí diplomové práce: Mgr. Michal Berec, Ph.D.
Konzultant diplomové práce: Ing. Rostislav Zemek, CSc.

Autor diplomové práce: Bc. Vladimír Klapka

České Budějovice, 2015

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE
(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Vladimír KLAPKA**
Osobní číslo: **Z13475**
Studijní program: **N4106 Zemědělská specializace**
Studijní obor: **Biologie a ochrana zájmových organismů**
Název tématu: **Má UV záření vliv na pohybovou aktivitu pulců žab?**
Zadávací katedra: **Katedra biologických disciplín**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Literární rešerše o dosavadních publikovaných znalostech vztahu UV záření a biologie obojživelníků.
2. Sestavení vhodného zařízení k výzkumu vlivu UV záření na pohybovou aktivitu pulců žab.
3. Experimentální práce v kontrolovaných podmínkách.
4. Statistické vyhodnocení vlivu UV záření na pohybovou aktivitu pulců žab.

Rozsah grafických prací: 5
Rozsah pracovní zprávy: 25
Forma zpracování diplomové práce: tištěná
Seznam odborné literatury:

Crump, D., Berrill, M., Coulson, D., Lean, D., McGillivray, L., & Smith, A. (2000). Sensitivity of amphibian embryos, tadpoles, and larvae to enhanced UV-B radiation in natural pond conditions. *Canadian Journal of Zoology*, 77(12), 1956-1966.

Langhelle, A., Lindell, M. J., & Nyström, P. (1999). Effects of ultraviolet radiation on amphibian embryonic and larval development. *Journal of Herpetology*, 449-456.


Wells, K. D. (2010). *The ecology and behavior of amphibians*. University of Chicago Press.

Vedoucí diplomové práce: **Mgr. Michal Berec, Ph.D.**
Katedra biologických disciplin
Konzultant diplomové práce: **Ing. Rostislav Zemek, CSc.**
BC AV ENTŮ

Datum zadání diplomové práce: 14. února 2014
Termín odevzdání diplomové práce: 30. dubna 2015


prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc., dr. h. c.
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUĎEJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Studentská 13 ①
370 05 České Budějovice


doc. RNDr. Ing. Josef Rajchard, Ph.D.
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 30. března 2014

Prohlášení

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce.

Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce.

Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 24. 4. 2015

Podpis:
Vladimír Klapka

Poděkování

Rád bych poděkoval svému školiteli Mgr. Michalu Berecovi, Ph.D., za cenné rady k vypracování této práce. Dále bych chtěl poděkovat Ing. Rostislavu Zemkovi CSc., který mi umožnil provést měření ve své laboratoři na Entomologickém ústavu AV ČR, v. v. i. a poskytl mi hodnotné informace k metodice práce. Za provedení spektrálních analýz záření emitovaných kompaktními zářivkami děkuji prof. RNDr. Tomáši Polívkovi, Ph.D., a Mgr. Marcelu Fucimanovi, Ph.D.

Mé poděkování dále patří rodině, která mě podporovala nejen při psaní této práce, ale i v průběhu celého studia. Za poskytnutí věcného nadhledu a udržení zdravého rozumu patří obrovský dík přátelům, kteří ve mě věřili, i když já byl na pochybách.

Všem výše zmiňovaným snad už jen prosté mockrát děkuji, tato práce vznikla z velké části jen díky Vám.

Abstrakt

Zvyšující se úroveň dopadajícího UV-B záření v důsledku ztenčení ozónové vrstvy je považována za jednu z příčin globálního poklesu obojživelníků. UV-B záření způsobuje poškození DNA v jádrech kožních buněk a jejich následný zánik. U řady druhů obojživelníků byl prokázán negativní vliv UV-B záření na úspěšnost vykolení pulců a jejich další životaschopnost. Předpokládá se, že pulci jsou schopni se místům s vyšší expozicí UV-B záření aktivně vyhýbat díky své lokomoci. V tomto experimentu bylo pulcům umožněno zvolit si buď zónu s UV zářením (UV-B a UV-A), nebo bez UV záření. Pulci nebyli před měřením vystaveni působení UV záření. Poloha pulce byla při měření zaznamenávána CCD kamerou. Program EthoVision následně vyhodnocoval čas strávený pulci v jednotlivých zónách a celkovou uplavanou dráhu pulců v obou zónách. Měření byla provedena pro dvě skupiny pulců, mírně se lišících stupněm vývoje, abychom zjistili, zda může mít vývojové stádium vliv na preferenci UV záření.

Pulci obou věkových skupin trávili prokazatelně více času v zóně bez UV záření. Pulci v pokročilejší vývojové fázi strávili v průměru 7krát více času v zóně bez UV záření než v zóně s UV zářením. Pulci v druhé experimentální skupině, tedy v mladším stádiu vývoje, trávili v zóně bez UV záření 2,5krát více času. Celková uplavaná dráha vospělejších pulců byla téměř 2,5krát delší v zóně bez UV záření. Naopak celková uplavaná dráha mladších pulců se mezi zónami nijak významně nelišila. Doba strávená v zónách s/bez UV záření se nelišila mezi skupinami pulců. Také celková uplavaná dráha se nelišila mezi skupinami v zóně s UV zářením. Přesto se lišila uplavaná dráha pulců v zóně bez UV záření mezi skupinami pulců.

Klíčová slova: UV záření; pulci; chování; pohybová aktivita; *Rana temporaria*

Abstract

The increasing level of the UV-B irradiation due to depleting of the ozone layer is considered to be one of the causes of global amphibian declines. The UV-B radiation causes damage to the DNA in the nuclei of the skin cells and their eventual death. In many amphibian species there was found a negative influence of the UV-B radiation on the hatching success of tadpoles and their subsequent viability. It has been assumed that tadpoles are able to actively avoid places with the higher exposure of the UV-B radiation thanks to their locomotion. In this experiment tadpoles could have chosen between a zone with the UV radiation (UV-B and UV-A) and without the UV radiation. The tadpoles have not been exposed to the UV radiation before the measurement started. The location of the tadpoles during the measurement was recorded by CCD camera. A computer program EthoVision then evaluated the time that these tadpoles spent in each of the zones and the total path length these tadpoles has swum in the zones. The measurements were performed for two groups of tadpoles differing in age to determine whether the level of development may affect the tadpoles' preference to the UV radiation.

The tadpoles in both groups spent more time in the zone without the UV radiation. The tadpoles in the more advanced development phase have spent 7 times more time in average in the zone without the UV radiation than in the zone with it. The tadpoles from the second group have spent in average 2.5 times more time in the zone without the UV radiation than in the zone with the UV radiation. The total swimming path length of advanced tadpoles was almost 2.5 times longer in the zone without the UV radiation than in the zone with the UV radiation. Conversely, the total path length of younger tadpoles did not significantly differ between the zones. The total time spent in the zones with / without the UV radiation did not differ between the groups of tadpoles. Also the total path length did not differ between the groups in the zone with the UV-B radiation. However, the total path length of tadpoles had differed between groups in the zone without the UV radiation.

Key words: UV radiation; tadpoles; behaviour; locomotor activity; *Rana temporaria*

Obsah

1 Úvod.....	8
2 Literární přehled.....	9
2.1 Ultrafialové záření	9
2.2 Syntéza vitamínu D ₃ UV zářením	11
2.2.1 Kalcitriol	12
2.2.2 Vápník a fosfor	13
2.3 Vliv zvýšené úrovně UV-B záření na obojživelníky.....	14
2.4 Obranné mechanismy obojživelníku proti UV-B záření	16
2.4.1 Pigmentace.....	16
2.4.2 Rosolovitý obal vajíček	18
2.4.3 Enzymový opravný systém	19
2.5 Vliv UV-B záření na změnu antipredační odpovědi	20
3 Metodika	23
3.1 Materiál	23
3.2 Uspořádání pokusu	23
3.3 Statistické zpracování.....	25
4 Výsledky	26
5 Diskuze.....	31
5.1 Rozdíl teplot	34
6 Závěr	37
7 Seznam použitých zdrojů	38
8 Přílohy	47

1 Úvod

Zvyšující se úroveň dopadajícího UV záření, zejména jeho UV-B složky, může mít negativní vliv na vývoj a fitness některých druhů obojživelníků. Citlivost k UV záření je druhově specifická. Ohroženy jsou zejména druhy, které jsou více exponovány UV záření, například tedy druhy horských vodních biotopů a obývající lokality s tenčí ozónovou vrstvou. Kromě negativních účinků, ale UV záření vhodné intenzity vyvolává v kůži obojživelníků syntézu vitamínu D₃, který je nezbytný pro homeostázi vápníku a fosforu.

Cílem této práce bylo v laboratorních podmínkách otestovat preferenci pulců skokana hnědého (*Rana temporaria*) ke zdroji záření s UV, či bez UV složky a vyhodnotit jejich pohybovou aktivitu při těchto zářeních. Pro zjištění, zda preference k UV záření a pohybová aktivita pulců jsou ovlivněny fází jejich vývoje, byly tyto parametry vyhodnocovány u dvou skupin pulců v rozdílných fázích vývoje.

2 Literární přehled

2.1 Ultrafialové záření

Ultrafialové záření (ultraviolet, UV radiation) je elektromagnetické záření s vlnovými délkami 100–400 nm. UV záření je součástí optického záření, jehož nejvýznamnějším přirozeným zdrojem je Slunce, přičemž UV záření je v celkovém optickém záření zastoupeno pouhými 5 %. Další složky optického záření tvoří z 50 % viditelné světlo a ze 45 % infračervené záření (Skalická-Freitinger et al. 2010).

Podle biologického účinku se UV záření člení do tří skupin (SZÚ 2015):

- Dlouhovlnné UV-A záření (315–400 nm), které obvykle nezpůsobuje ani akutní zčervenání kůže, ani pálení.
- Středněvlnné UV-B záření (280–315 nm), které zpravidla způsobuje akutní a chronické poškození kůže.
- Krátkovlnné UV-C záření (280–100 nm) mající germicidní účinky.

Fyzikální vlastnosti a biologické účinky těchto tří skupin UV záření udává tabulka 1 v kapitole Přílohy.

Ozónová vrstva v atmosféře filtruje sluneční záření vlnových délek kratších než 290 nm (Skalická-Freitinger et al. 2010), a proto UV záření dopadající na zemský povrch tvoří z 90–99 % UV-A záření a z 1–10 % UV-B záření. UV-C záření je zcela absorbováno ozónovou vrstvou a na zemský povrch nedopadá (SZÚ 2015). Se snižující se tloušťkou ozónové vrstvy roste množství UV-B záření, které dopadá na zemský povrch. Odhaduje se, že pokles tloušťky ozónové vrstvy o 1 % navýší množství dopadajícího UV-B záření o 2 % (van Greffen a van der A 2012).

Veličina UV index (UVI), využívaná v meteorologii, vyjadřuje efekt dopadajícího UV záření na lidskou kůži. Jedna jednotka UV indexu má hodnotu $25 \text{ mW}\cdot\text{m}^{-2}$ (van Greffen a van der A 2012). Rozsah jednotek UV indexu zobrazuje tabulka 2. V ekologických studiích se aktuální intenzita dopadajícího UV záření vyjadřuje v jednotkách $\text{W}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Pokud je cílem vyjádřit celkové množství dopadajícího

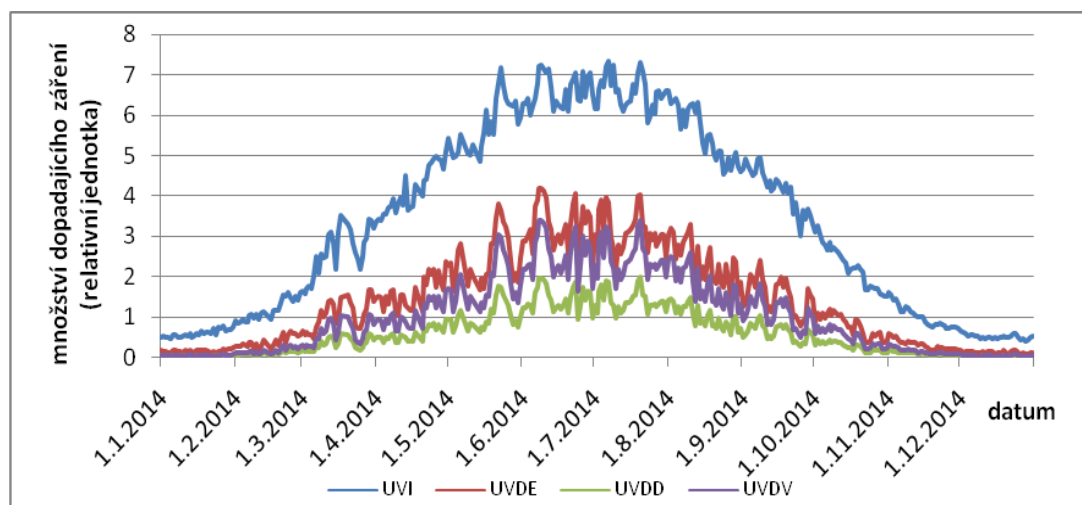
záření za určitý čas, obvykle den, používá se jednotka $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ (Paul a Gwynn-Jones 2003).

UV INDEX	ROZSAH
Nízký	< 2
Střední	3–5
Vysoký	6–7
Velmi vysoký	8–10
Extrémní	11+

Tab. 2: Rozsah hodnot UV Indexu (ČHMÚ 2015).

Nejvyšších hodnot dosahuje UV index na rovníku, v tropickém pásmu v rozmezí 20° j. š. a 20° s. š. a v oblastech pod ozónovou dírou. Množství dopadajícího UV záření je ovlivněno azimutem Slunce, který se mění cirkadiánně i cirkaanuálně, proto dochází k výrazným fluktuacím hodnot UV indexu (McKenzie et al. 2007, van Greffen a van der A 2012). Dalším faktorem ovlivňujícími množství dopadajícího záření je pokryvnost mraků. Síla redukce pronikajícího UV záření je závislá na vlnové délce záření a na typu mraku. V krátkodobém časovém horizontu je pokryvnost mraků považována za hlavní příčinu kolísání dopadajícího UV záření (Paul a Gwynn-Jones 2003). V globálním měřítku se úroveň dopadajícího UV záření zvyšuje s nadmořskou výškou. Z celkového zvýšení dopadajícího záření více narůstá průnik záření v oblasti UV-A, leč biologicky účinné UV-B se zvyšuje o 10 % na 1000 m (McKenzie et al. 2001).

Graf. 1 zobrazuje průběh naměřených hodnot UV indexu meteorologickou stanicí v Hradci Králové v roce 2014.



Graf 1: Průběh hodnot UV záření v roce 2014 naměřených meteorologickou stanicí v Hradci Králové (TEMIS 2015). UVI – UV index, UVDE – UV záření o vlnové délce způsobující erytém, UVDD – UV záření o vlnové délce způsobující poškození DNA, UVDV – UV záření o vlnové délce vyvolávající syntézu vitamínu D.

Podle vzestupného trendu tloušťky ozónové vrstvy by měla tato tloušťka okolo roku 2050 nabýt původních hodnot, jaké měla v 60. a 70. letech 19. století, tedy před využíváním freonových plynů (Metelka 2015). Předpokládá se, že i po roce 2050 by dále mohlo docházet k zesilování tloušťky ozónové vrstvy, s čímž by bylo spojeno i množství snížení dopadajícího UV-B, které by mohlo vést k nedostatečné syntéze vitamínu D v pokožce.

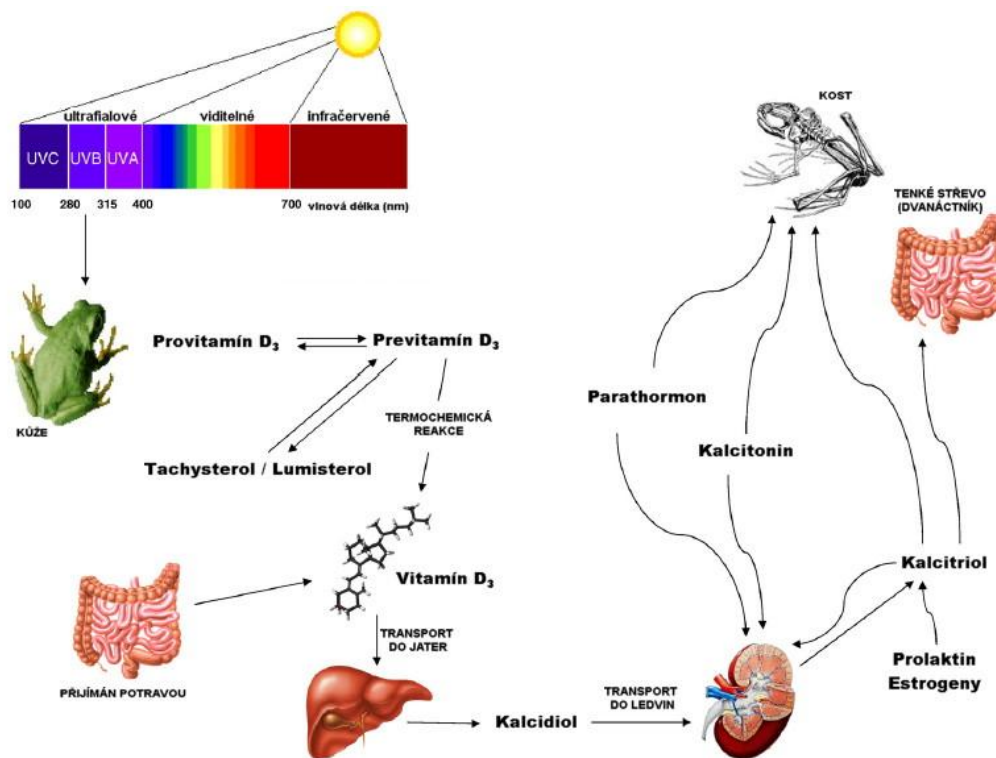
2.2 Syntéza vitamínu D₃ UV zářením

Úloha UV-B a UV-A záření v syntéze vitamínu D₃ v kůži a s ním spojený metabolismus vápníku je u savců, zejména člověka, dobře prozkoumána (např. Chen et al. 2007). Méně je však prozkoumán vliv těchto záření na metabolismus vápníku plazů a obojživelníků (Antwis a Browne 2009). UV-A a UV-B záření působí ve vysokých dávkách na zdraví obojživelníků nepříznivě, přesto UV-B záření vhodné úrovně může být pro obojživelníky stejně důležité jako pro člověka. UV-B záření vyvolává v kůži fotochemické štěpení provitaminu D₃ (*7-dehydrocholesterol*) za vzniku previtaminu D₃, který může být spontánní termochemickou reakcí izomerován na vitamín D₃ (cholecalciferol). Spontánní termochemická reakce probíhá velmi pomalu a trvá několik hodin (Holick 2003).

Přeměnu provitaminu D₃ ve vitamín D₃ indukovanou UV-B zářením v kůži skokana hnědého (*Rana temporaria*) a leguána zeleného (*Iguana iguana*) zkoumali Holick et al. (1995). Při vyšší teplotě u obou druhů došlo k přeměně provitaminu D₃ ve vitamín D₃ rychleji.

Z previtaminu D₃ v kůži ale nevzniká pouze vitamín D₃, nýbrž také tachysterol a lumisterol. Vzájemný poměr těchto látek je ovlivněn vlnovou délkou působícího záření. Syntéza vitamínu D₃ v lidské kůži začíná při působení záření o vlnové délce 260 nm. Nejintenzivněji však syntéza probíhá v rozpětí vlnových délek 285–305 nm, s vrcholem při 298 nm. Záření s vlnovou délkou větší než 315 nm již syntézu vitamínu D₃ nevyvolává (CIE 2006).

V kůži syntetizovaný vitamín D₃ je krevním oběhem transportován do jater, ve kterých probíhá jeho hydroxylace na kalcidiol (*25-hydroxycholecalciferol*), který je transportován do ledvin a následně hydroxylován na calcitriol (*1,25-dihydroxycholecalciferol*) (Lindgren et al. 2004). Vznik vitamínu D₃ indukovaný UV zářením a jeho další metabolismus zobrazuje obrázek 1.



Obr. 1: Schéma biosyntézy a následných metabolických drah vitamínu D₃. Přímé čáry zobrazují syntézu kalcitriolu, křivky zobrazují orgány, na které kalcitriol spolu s ostatními hormony působí (Antwis & Browne 2009, upraveno).

2.2.1 Kalcitriol

Kalcitriol je biologicky aktivní hormonální formou vitamínu D₃. Svými funkcemi se podílí na udržení homeostáze vápníku a fosforu v těle. Zajišťuje absorpci vápníku a fosfátu ve střevě, reabsorpci vápníku v ledvinách a mobilizaci vápníku v kostech a následné uvolňování vápníku a fosfátu do krevní plazmy (DeLuca 2004).

Spolu s kalcitriolem se na udržení stálé hladiny vápníku v těle podílejí hormony parathormon a kalcitonin. Parathormon stejně jako kalcitriol zvyšuje množství vápníku v krevní plazmě. Naopak kalcitonin je jejich antagonistou, snižuje tedy množství vápníku v krevní plazmě a podporuje jeho ukládání do kostí. Zjistí-li senzory příštítných tělísek štítné žlázy nízkou hladinu vápníku v krevním séru, započnou stimulat uvolňování parathormonu. Parathormon dále putuje k osteoblastům a zejména do buněk ledvin, kde stimuluje hydroxylaci kalcidiolu na kalcitriol, a tím zvýší jeho hladinu. Kalcitriol zvýší absorpci vápníku ze střeva a není-li zajištěn dostatečný příjem vápníku v potravě, začne spolu s parathormonem odbourávat vápník z rezerv, zejména z kostí. Při dostatečném množství vápníku v krevní plazmě senzory příštítných tělísek štítné žlázy přestanou stimulat

uvolňování parathormonu. Následně parafolikulární buňky (též nazývané C-buňky) štítné žlázy při nadbytečném množství vápníku v krevní plasmě uvolní peptid kalcitonin, který naopak stimuluje ukládání vápníku (DeLuca 2004).

U obojživelníků je kalcitonin produkován buňkami ultimobranchiální žlázy, ze které evolučně vznikla štítná žláza savců (Norris a Carr 2013). Lokalizaci a potvrzením přítomnosti kalcitoninu v ultimobranchiálních buňkách u druhu *Rana temporaria* se zabývali van Noorden a Pearse (1971). Při homeostázi vápníku v těle obojživelníků se kromě zdrojů v kostech využívají především zásoby uhličitanu vápenatého v endolymfatickém váčku. Endolymfatický váček je umístěn na bázi hlavy a/nebo podél páteře. Tyto váčky obsahují velké množství uhličitanu vápenatého, a proto jsou důležitým rezervoárem těchto iontů, zvláště během metamorfózy larev a následné osifikace kostí. Tyto struktury mohou také poskytnout hydrogenuhlíčanové ionty, které slouží v krvi jako pufr, a tím se podílejí na udržení acidobazické rovnováhy (Norris a Carr 2013).

Další látky, které mohou ovlivnit homeostázi vápníku v těle jsou prolaktin a estrogeny. Obě tyto látky působí hyperkalcemicky, tedy zvyšují úroveň vápníku v krevním séru. Prolaktin (též nazývaný luteotropní hormon), peptidický hormon produkován buňkami adenohypofýzy, zvyšoval hladinu vápníku v krevním séru u pulců *Rana catesbeiana* (Sasayama a Oguro 1982) i u dospělých jedinců tohoto druhu (Baksi et al. 1978). Estrogenní hormon estradiol též u adultních jedinců *Rana catesbeiana* vyvolal zvýšení vápníku v krevním séru (Baksi et al. 1978).

2.2.2 Vápník a fosfor

Vápník a fosfor jsou pro obojživelníky velice důležité prvky, protože zajišťují různé fyziologické a biochemické funkce v jejich tělech (Norris a Carr 2013). Přehled těchto funkcí udává tabulka 3 v kapitole Přílohy.

Vápník je v krevní plasmě obojživelníků obsažen ve formě volných kationtů Ca^{2+} a ve formě vázané v plasmových proteinech. Obojživelníci mají nízký podíl volného vápníku, přibližně 50 % (pes 84 %, křepelka 58 %, had 61 %) (Stiffler 1993). Množství volných vápenatých iontů v krevní plasmě se u obojživelníků pohybuje v závislosti na druhu od $1,0\text{--}2,5 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$. Nejnižší hodnota byla stanovena pro dospělé jedince *Ambystoma tigrinum*, nejvyšší pro dospělé jedince *Rana*

temporaria (Stiffler 1993). Množství vápníku v krevní plasmě se zvyšuje během osifikace kostry.

Obojživelníci mohou přijímat vápník aktivně kůží (např. u *Rana pipens* (Stiffler 1995); u *Rana esculanta* (Dore et al. 1978) a u *Ambystoma tigrinum* (Zerella a Stiffler 1999)), žábami alespoň v larválním stádiu *Rana catesbeiana* (Baldwin a Bentley 1980) a stěnou tenkého střeva, především dvanáctníkem (Stiffler 1993).

Fosfor je, stejně jako vápník, nezbytnou složkou kostí a zubů. Přibližně 80 % celkového fosforu je spolu s vápníkem vázáno ve skeletu ve sloučenině hydroxyapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$). Homeostáze fosforu je úzce spjata s homeostází vápníku (Norris a Carr 2013).

Vstřebávání vápníku a fosforu v tenkém střevě je řízeno kalcitriolem, jenž je syntetizován při dostatečném množství UV-B záření, proto také nedostatečné množství UV-B záření může vést ke snížení vstřebatelnosti vápníku a fosforu sliznicí střeva, a tím zapříčinit projev metabolického onemocnění kostí (Antwis a Browne 2009). Mezi klinické příznaky metabolického onemocnění kostí patří zejména nedostatečná mineralizace kostí a dále může zahrnovat abnormální držení těla, omezenou hybnost, tetanii (nedobrovolné kontrakce svalstva), celkovou vodnatelnost a otoky, deformity páteře a čelisti, patologické zlomeniny dlouhých kostí a absenci uhličitanu vápenatého v endolymfatickém váčku (Densmore a Green 2007).

2.3 Vliv zvýšené úrovně UV-B záření na obojživelníky

Zvýšení množství dopadajícího UV-B záření je považováno za jeden z faktorů způsobujících v posledních desítkách let snižování stavu populací obojživelníků. Za další faktory jsou považovány: ničení stanovišť, klimatické změny, kontaminace prostředí, nemoci, introdukce nepůvodních druhů a nadměrné využívání (Alford a Richards 1999, Kiesecker et al. 2001, Blaustein a Kiesecker 2002). Ztenčení ozónové vrstvy v důsledku lidské činnosti vede ke zvýšení množství dopadajícího UV-B záření, zejména ve vyšších nadmořských polohách (McKenzie et al. 2001). Stuart et al. (2004) zjistili, že druhy nejvíce ohrožené vyhubením pocházejí z neotropické oblasti, obývají vyšší nadmořské výšky a preferují tekoucí vody.

Zvyšující se úrovní UV-B záření mohou být více ohroženy ty druhy obojživelníků, u kterých selekční tlak ovlivnil jejich chování tak, že se vystavují vyšším dávkám slunečního záření. Mnoho druhů obojživelníků například klade vajíčka v otevřených, mělkých tůních, kde jsou maximálně vystavena slunečnímu záření (Blaustein a Belden 2003). Tato expozice zvyšuje teplotu snůšky, čímž je indukován rychlejší vývoj jedinců (Sanuy et al. 2008). Obdobně vyhledávají pulci mnoha druhů otevřené, mělké části jezer a rybníků, kde je teplejší voda a kde se mohou vyvinout rychleji (Hoff et al. 1999).

Negativní vliv UV-B záření na úspěšnost kulení pulců byl potvrzen u druhů *Rana cascadae*, *Bufo boreas*, *Ambystoma macrodactylum* a *Ambystoma gracile* ze severozápadu Spojených států amerických. Nicméně tento vliv nebyl prokázán u druhů *Rana pretiosa*, *Rana luteiventris*, *Rana aurora* a *Hyla regilla* (Blaustein et al. 1998). Také Anzalone et al. (1998) nepozorovali vliv dopadajícího UV-B záření na úspěšnost kulení jedinců druhu *Hyla regilla* pocházejících z kalifornské populace. Zaznamenali však negativní vliv UV-B záření u druhů *Hyla cadaverina* a *Taricha torosa*. V Evropě byl pozorován negativní vliv dopadajícího UV-B záření na jedince druhu *Bufo bufo*. Naopak nebyl tento vliv prokázán u druhu *Bufo calamita* (Lizana a Pedraza 1998). Negativní vliv na úspěšnost kulení pulců *Bufo bufo* v Evropě potvrdili Häkkinen et al. (2001). Autoři dále pozorovali tento negativní vliv u druhů *Rana temporaria* a *Rana arvalis*. V Austrálii byl negativní vliv dopadajícího UV-B záření na kulení pulců pozorován u druhů *Litoria verreauxii alpina* a *Crinia signifera* (Broomhall et al. 2000). Naopak žádný negativní vliv nebyl zaznamenán u druhů *Litoria dentata* a *Litoria peronii* (van de Mortel a Buttemer 1996).

Mnohé laboratorní experimenty a pokusy v terénu ukazují, že i larvy obojživelníků vykazují snížení životaschopnosti při vystavení zvýšené úrovni UV-B záření (Blaustein et al. 1997, Ankley et al. 2000, Belden et al. 2000, Flamarique et al. 2000). Naopak někteří autoři např. (Pahkala et al. 2000, Smith et al. 2000, Pahkala et al. 2003b) vliv UV-B záření na životaschopnost embryí nepozorovali.

Sumarizační práce Croteau et al. (2008) uvádí, že v 9 z 15 publikovaných studií zvýšení úrovně UV-B záření mělo za následek zpomalení růstu, tedy pulci po vykolení metamorfovali později. Oddálení metamorfózy se projevovalo v rámci dnů až měsíců. Croteau et al. (2008) uvádějí, že v práci Granta a Lichta z roku 1995, čerstvě vykolení pulci vystaveni vysokým dávkám UV-B, a to několik minut 3krát

týdně po dobu 22 měsíců, dosáhli pouze vývojové fáze 31-33, určené podle Gosnera (1960). Croteau et al. (2008) dále uvádějí, že z šesti publikovaných terénních výzkumů se vliv UV-B záření na rychlost vývoje a metamorfózu projevil u jedinců ve třech výzkumech. Největšímu riziku ze zvyšující se úrovně UV-B záření jsou tedy vystaveny druhy efemérních stanovišť, které musí metamorfovat dříve, než jejich stanoviště zmizí (Blaustein et al. 2001, Sanuy et al. 2008).

2.4 Obranné mechanismy obojživelníku proti UV-B záření

Při evoluci obojživelníků byla jistě expozice slunečnímu záření a s ní spjatému UV-B záření důležitým selekčním tlakem, a proto se u obojživelníků vyvinula řada preventivních opatření proti poškození UV-B zářením, a také opravné mechanismy, pokud již k poškození došlo (Epel et al. 1999).

Obojživelníci mohou využít molekulární, fyziologické a behaviorální mechanismy, aby omezili expozici UV-B záření a/nebo mohou do jisté míry opravit poškození vzniklá ozářením (Blaustein a Belden 2003). Mezi behaviorální mechanismy patří zejména výběr vhodného habitatu, popř. mikrohabitatu s dostatečnou pokryvností vegetace, či substrátu, která snižuje úroveň expozice UV-B (Marco et al. 2001). Volba vhodného stanoviště je důležitá zejména pro kladení snůšek, protože vajíčka, na rozdíl od pulců a dospělých jedinců, nemohou aktivně přizpůsobit úroveň expozice UV-B záření lokomocí. Intenzita UV-B záření působící na vajíčka je ovlivněna vlastnostmi vodního prostředí. Tyto vlastnosti jsou povrch a odrazivost vodní hladiny pro světlo, hloubka vodního sloupce, pH, teplota, barva vody a množství rozpuštěného organického uhlíku (Booth a Morrow 1997). Podle charakteru vodního prostředí může UV-B záření pronikat do hloubky od 10 cm po 10 m. Například v bažinách v hloubce 2 cm je množství UV-B záření oproti povrchu hladiny poloviční a v hloubce 5 cm dosahuje pouze 2 % (Morris et al. 1995).

2.4.1 Pigmentace

Pigmentace vajíček obojživelníků se výrazně liší v závislosti na druhu. Přesto lze obecně druhy podle množství pigmentu ve vajíčkách klasifikovat na druhy s pigmentovanými vajíčky a druhy s nepigmentovanými vajíčky. V průběhu evolučního procesu došlo několikrát nezávisle na sobě k přechodu

od nepigmentovaných vajíček ve vajíčka pigmentovaná a opačně (Lee et al. 2009). Tmavá barva je dána vyšším obsahem pigmentu melaninu, který se typicky nachází na vrchní straně vajíček (Licht 2003). Vajíčka druhů kladoucích volně na hladinu mají tendenci být výrazně více pigmentovaná než ta u druhů, která oplozená vajíčka skrývají např. pod listy vegetace, pod kameny nebo v pěnových hnízdech (Duellman a Trueb 1994). Předpokládá se, že tato změna představuje adaptaci na ochranu proti ultrafialové složce slunečního záření (Blaustein a Belden 2003, Licht 2003).

Přestože je u živočichů napříč taxonomickými skupinami melanin hojně rozšířen, (např. v oční sítnici, peří, kutikule hmyzu, kůži obojživelníků, plazů a savců) jeho ochranná funkce proti UV záření je velmi málo prozkoumána, a to dokonce i v lidské pokožce (Cockell a Knowland 1999). Nelze zcela přesně určit maximální absorpční melaninu pro konkrétní vlnovou délku záření kvůli komplexní polymerové struktuře pigmentu v pokožce, přesto hodnoty absorpce pro vlnové délky odpovídající UV-B záření vykazují prudké zvýšení. Melanin je vytvářen ve specifických organelách melanozomech, které se nacházejí v pigmentových buňkách nazývaných melanocyty. Melanozomy vytvářejí ochranou „čepičku“ nad jádrem buňky, a tím ho chrání před poškozením UV-B zářením (Gilchrest et al. 1996). U člověka obecně platí, že jedinci s tmavší kůží jsou méně náchylní k poškození kůže způsobené UV zářením než jedinci se světlejší kůží (Barker et al. 1995).

Kromě melaninu Hofer a Mokri (2000) extrahovali z kůže ocasu pulců *Rana temporaria* látku s velkou absorpční schopností pro záření o vlnové délce 290–300 nm. Doposud nebylo zjištěno chemické složení této látky, a proto je označována zkratkou UVAS (ultra-violet absorbing substance). Indukce látky UVAS v kůži je závislá na vlnové délce, která na kůži působí. Nejvyšší absorpční schopnost pro záření o vlnové délce 305 nm vykazovala kůže pulců vystavených 6 dní záření o vlnových délkách odpovídajících UV-B i UV-A (intenzita ozáření $3,9 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$). Odfiltrováním UV-B složky záření došlo k poklesu absorpční schopnosti UVAS. Nejnižší absorpční schopnost látky UVAS byla zjištěna při působení záření odpovídající viditelnému spektru (intenzita $6 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$). Pokud se však intenzita viditelného spektra zvýšila z $6 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$ na $50 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$, došlo k zvýšení absorpční schopnosti UVAS.

Také spolupůsobení viditelného spektra a kombinace spekter UV-A a UV-B zvyšovala absorpční schopnosti UVAS (Hofer a Mokri 2000). Analyzováním vzorků kůží pulců pocházejících ze 4 vodních nádrží, které se nacházejí v nadmořských výškách od 1700 m do 2300 m, bylo zjištěno, že se koncentrace látky UVAS v těchto vzorcích významně neliší od koncentrace v kůži pulců vystavených UV-B záření v laboratorních podmínkách (Hofer a Mokri 2000).

Přestože pigmentace představuje možný způsob ochrany před poškozením UV-B zářením, v mnoha případech se nemusí jednat o způsob dostatečný. Ačkoliv UV-B záření vedlo ke zvýšení pigmentace embryí *Ambystoma maculatum*, došlo k poškození jejich DNA a snížení životaschopnosti (Lesser et al. 2001). Také Belden a Blaustein (2002) v laboratorním experimentu nepozorovali vliv rozdílné pigmentace larev *Ambystoma macrodactylum* a *Ambystoma gracile* na životaschopnost při působení UV-B záření. Tmaví i světlí jedinci obou druhů vykazovali sníženou rychlost vývoje během třítýdenní expozice UV-B záření.

2.4.2 Rosolovitý obal vajíček

Funkce rosolovitého obalu vajíček obojživelníků zahrnují mechanickou oporu a možnost vzájemného přichycení, popř. přichycení ke strukturám prostředí. Rosolovitý obal poskytuje ochranu před: vniknutím patogenů a kontaminantů, predátory a abiotickými vlivy prostředí jako jsou teplota a UV záření (Altig a McDiarmid 2007). Někteří autoři se domnívají, že rosolovitý obal obklopující vajíčka obojživelníků je schopen efektivně redukovat dopadající UV-B záření, a tím chránit embrya před nadměrným ozářením (Grant a Licht 1995, Gurdon 1960, Licht 2003). Rosolovitý obal o síle 3 mm absorboval u druhů *Bufo americanus*, *Rana aurora* a *Rana sylvatica* 6–14 % UV-B záření (Grant a Licht 1995).

Absorbční schopnost rosolovitého obalu je určena spíše jeho strukturou než jeho tloušťkou. Například vajíčka druhu *Hyla regilla* mají v porovnání s vajíčky druhu *Rana aurora* slabší tloušťku rosolovitého obalu, přesto je absorpční schopnost tohoto obalu *Hyla regilla* téměř 2krát větší než u druhu *Rana aurora* (Ovaska et al. 1997).

Naopak měření absorbance vaječného obalu druhu *Hyla regilla* při vlnových délkách 200–700 nm vykazují pouze nepatrné navýšení u vlnových délek odpovídajících UV-B záření s vrcholem při 276 nm. Vysoká absorbance byla zaznamenána pro vlnové délky menší než 250 nm. Takto vysoká absorbance však

nemá významný biologický účinek, protože toto záření nedopadá na povrch Země (Hansen et al. 2002). Dále autoři také neprokázali vliv vaječného obalu na úspěšnost vykolení pulců tohoto druhu a druhu *Bufo canorus* při působení UV-B záření o nízké ($0,19 \mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$) i vysoké ($262 \mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$) intenzitě.

Také rosolovitý obal vajíček druhu *Rana temporaria* neposkytuje významnou ochranu před UV-B zářením (Räsänen et al. 2003). V laboratorním experimentu nebyla zjištěna interakce vlivu rosolovitého obalu a intenzity UV-B záření na životaschopnost jedinců tohoto druhu. Vajíčka byla vystavena UV-B záření o třech intenzitách: přirozená ($1,25 \text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$), zvýšená ($1,58 \text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$) a žádná, tedy kontrolní. Vliv zabarvení vaječného obalu či jeho přítomnost na úspěšnost kolení larev *Ambystoma maculatum* nebyl taktéž prokázán (Crump et al. 1999).

2.4.3 Enzymový opravný systém

UV-B záření poškozuje řetězec DNA vytvářením cyklobutanových pyrimidinových dimerů (CPD) a pyrimidin-pyrimidonových (6-4) fotoproduktů, které inhibují řádnou transkripci a translaci, čímž může docházet k mutacím a následně k zániku buňky (Hearst 1995). Velmi důležitým reparačním procesem u řady organismů je enzymatická fotoreaktivace, při které CPD fotolyzační enzym využívá energii viditelného spektra záření (300–500 nm) k opravě narušených míst UV-B zářením v řetězci DNA. Podobně fungující enzym (6-4)-fotolyáza využívá energii světla k odbourání pyrimidin-pyrimidonových (6-4) fotoproduktů (Friedberg et al. 1995 In: Marco et al. 2009).

Dalším mechanismem k opravě poškozené DNA je excize narušeného místa. Pokud je ale poškozeno více nukleotidů, tento mechanismus je energeticky náročnější (Sancar a Tang 1993). Oba reparační mechanismy mohou probíhat současně, ale excize je účinnější k odbourání pyrimidin-pyrimidonových (6-4) fotoproduktů než CPD. Jako hlavní reparační mechanismus k odbourání CPD u organismů vystavených slunečnímu záření se proto jeví enzymatická fotoreaktivace (Friedberg et al. 1995 In: Marco et al. 2009). Aktivita fotolyzačního enzymu je značně citlivá k teplotě prostředí. Vysoká (Pang a Hays 1991) i nízká (MacFadyen et al. 2004) teplota enzym poškozuje, a tím snižují účinnost enzymatické fotoreaktivace poškozené DNA. Dalším faktorem ovlivňující aktivitu enzymu je pH.

Pro optimální aktivitu enzymu je vhodné prostředí s neutrálním pH (Sancar & Sancar 1988).

Úroveň enzymatické fotoreaktivace u vajíček 10 druhů obojživelníků zkoumali Blaustein et al. (1994). Vajíčka druhu *Hyla regilla* vykazovala nejvyšší úroveň aktivity CPD fotolyzačního enzymu. Nejnižší úroveň byla zjištěna u vajíček druhu *Xenopus laevis* pocházejících z umělých odchovů. Zkoumaní ocasatí obojživelníci vykazovali výrazně nižší aktivitu enzymu než žáby. Nejvyšší enzymová aktivita byla zjištěna u druhu *Ambystoma gracile*, nejmenší naopak u druhu *Taricha granulosa*.

Většina ocasatých obojživelníků však svá vajíčka skrývá před slunečním zářením nebo je klade v relativně hlubší vodě, kam proniká nižší úroveň UV-B záření. Naopak druhy žab s vysokou aktivitou CPD fotolyzačního enzymu vykazují tendenci klást vajíčka do mělkých vod s velkou expozicí UV-B záření (Blaustein a Belden 2003). Pozitivní korelaci mezi úrovní expozice UV-B záření v přírodě a aktivitou CPD fotolyzačního enzymu u vajíček a embryí uvádějí další autoři např. (Blaustein et al. 1994, van de Mortel a Buttemer 1998, Smith et al. 2002). Přehled zjištěných enzymových aktivit pro vajíčka jednotlivých druhů zobrazuje tabulka 4 v kapitole Přílohy.

2.5 Vliv UV-B záření na změnu antipredační odpovědi

Vystavení UV-B záření prokazatelně snižovalo pohybovou aktivitu pulců *Limnodynastes peronii*. Také přítomnost chemických látek predátora (sladkovodní krevety *Macrobrachium australiense*) vyvolalo znatelné snížení pohybové aktivity těchto pulců. Interakce vlivu UV-B záření a přítomnosti chemických látek z predátora však neměla signifikantní vliv na pohybovou aktivitu pulců. Vystavení UV-B záření snižovalo pohybovou aktivitu pulců ve skupině bez chemických látek predátora o 56 %, ve skupině s chemickými látkami predátora o 40 %. Opačně, vystavení chemickým látkám z predátora u pulců ve skupině chovaných bez UV-B záření snižovalo jejich pohybovou aktivitu o 36 %, ve skupině s vlivem UV-B záření pak o 12 % (Alton et al. 2012).

Úroveň metabolismu, vyjádřená množstvím spotřebovaného kyslíku za dobu 1 hodiny vztaženou na jednotku hmotnosti, byla u pulců v kontrolní skupině, tedy bez vlivu UV-B a chemických látek predátora, stanovena na 286 mL O₂·kg⁻¹·h⁻¹. Expozice UV-B záření neměla průkazný vliv na metabolickou úroveň pulců.

Taktéž přítomnost chemických látek predátora neměla průkazný vliv na metabolickou úroveň pulců. Byla však prokázána interakce těchto faktorů. Vystavení UV-B záření u pulců bez přítomnosti chemických látek predátora prokazatelně snižovalo množství spotřebovaného kyslíku o 14 %, tedy snižovalo metabolickou úroveň pulců. Vystavení UV-B záření u pulců v přítomnosti chemických látek predátora nemělo prokazatelný vliv na metabolickou úroveň pulců. Dále nebyl prokázán vliv expozice chemických látek predátora u pulců bez UV-B záření na metabolickou úroveň pulců. Naopak u pulců vystavených UV-B záření přidání chemických látek predátora zvýšilo množství spotřebovaného kyslíku o 21 %, tedy zvyšovala se metabolická aktivita pulců (Alton et al. 2012).

Na metabolickou úroveň vzorku tkáně získaného z pulčních ocasů měla signifikantní účinek pouze expozice UV-B záření. Tkáň pulců vystavených UV-B záření vykazovala metabolickou úroveň o 36 % vyšší než tkáň pulců nevystavených tomuto záření. Vliv faktoru přítomnosti chemických látek predátora nebyl prokázán. Také interakce obou faktorů byla neprůkazná. Metabolické úroveň byla rovněž vyjádřena množstvím spotřebovaného kyslíku (Alton et al. 2012).

Naopak Kern et al. (2014) nepozorovali rozdíl v metabolické úrovni pulců druhu *Platyplectrum ornatum* v závislosti na expozici UV-B záření. I zde byla metabolická úroveň vyjádřena množstvím spotřebovaného kyslíku v uzavřené soustavě. Taktéž autoři nepozorovali vliv UV-B záření na rychlost vyvinutou pulcem po jeho podráždění.

UV-B záření vyvolalo snížení pohybové aktivity pulců druhu *Rana aurora*. V přítomnosti chemických látek predátora (*Taricha granulosa*) pulci ze skupiny kontrolní a nízké hladiny UV-B záření vykazovali vyšší pohybovou aktivitu než pulci ze stejných skupin, ale bez vlivu chemických látek predátora. Naopak pulci ze skupiny s vysokou hladinou UV-B záření v přítomnosti chemických látek predátora vykazovali nižší pohybovou aktivitu než pulci bez vlivu chemických látek predátora. Také byla pozorována změna zbarvení do světlejších odstínů za účelem optického splynutí s podkladem. Indukce barvoměny nebyla prokazatelně spojena s vlivem chemických látek predátora. Naopak pulci druhu *Rana cascadae* signifikantně snižovali v přítomnosti chemických látek predátora rovněž pohybovou aktivitu, zatímco UV-B záření v kombinaci s chemickými látkami predátora u nich indukovalo ztmavnutí kůže. Pulci byli vystaveni UV-B záření o třech úrovních:

vysoká ($17,18 \pm 0,34$) $\mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$, nízká ($5,44 \pm 0,23$) $\mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$ a kontrolní ($0,27 \pm 0,02$) $\mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$ (Garcia et al. 2009).

Také Kats et al. (2000) u pulců *Rana cascadae* vystavených působení UV-B záření pozorovali snížení pohybové aktivity v přítomnosti chemických látek vylučovaných adultním jedincem druhu *Taricha granulosa*, který byl krměn pulci *Rana cascadae*. Toto snížení aktivity však nebylo v závislosti na UV-B záření signifikantní. Signifikantní rozdíl byl naopak v pohybové aktivitě pulců bez přítomnosti látek z predátora. Pulci vystaveni pouze UV-B záření vykazovali vyšší pohybovou aktivitu než pulci nevystavení tomuto záření. Také čerstvě metamorfované žáby druhu *Bufo boreas* vykazovaly nižší antipredační chování, tj. méně se vyhýbaly místům s alarmujícími látkami, pokud byly vystaveny UV-B záření. U larev *Taricha granulosa* však vliv UV-B záření na antipredační odpověď nebyl prokázán.

UV záření u larev *Triturus alpestris* vyvolávalo neusměrněný rychlý pohyb na krátké vzdálenosti, přerušovaný pauzami (1-2 min) do okamžiku, než larvy našly zastíněné místo. Zástin vyhledalo do 5 minut 90 % larev, přestože v kontrolní skupině 70 % larev vykazovalo pozitivní fototaxi (Nagl a Hofer 1997).

Vliv expozice UV-B na rychlost pohybu a jeho směr u adultních jedinců *Taricha granulosa* zkoumali Blaustein et al. (2000). Jedinci, kteří byli před měřením vystaveni UV-B záření, rychleji překročili kruhovou hranici s průměrem 6 m. V průměru se také začali pohybovat za kratší čas od umístění do kruhové hranice. Avšak tento čas se signifikantně nelišil od průměru u jedinců nevystavených UV-B záření. Taktéž se u jedinců v obou pokusných skupinách významně nelišil směr, ve kterém opouštěli hraniční kruh. Jedinci se pohybovali směrem k vodnímu zdroji.

3 Metodika

3.1 Materiál

Jedinci *Rana temporaria* pocházeli z periodické tůně v obci Borek u Českých Budějovic (GPS: N 49°1.82290', E 14°29.57785'). Odběr vajíček *Rana temporaria* byl proveden dne 29. 3. 2014. Vývoj pulců probíhal v akváriu o rozměrech 60 × 40 × 40 cm (d × š × v) v laboratorní místnosti. Po vykulení byli pulci krmeni *ad libitum* krmivem pro býložravé ryby Spirulina Wafers (DAJANA[®], DAJANA PET s.r.o., Česká republika), které obsahuje 4000 UI/kg vitamínu D₃. Pulci byli krmeni 12 hodin před měřením. Světelný režim v místnosti poskytovalo sluneční záření procházející okenním sklem, které nepropouští UV záření (Holick 1995). Hodnoty teploty vzduchu v místnosti byly v rozpětí pokojové teploty 21–24 °C.

3.2 Uspořádání pokusu

Pro zkoumání preference pulců *Rana temporaria* vůči zdroji světla s UV a bez UV složky byl použit plastový box o rozměrech 27 × 18 × 4,5 cm (d × š × v), který byl podélnými přepážkami rozčleněn na tři arény. Každá aréna byla 27 cm dlouhá a 4,5 cm široká. Skleněná deska o šířce 0,5 cm v polovině boxu pak ještě příčně rozdělila jednotlivé arény. Tato deska sloužila k odfiltrování UV složky záření; byla zapuštěna 0,5 cm do stěn boxu, aby neznemožňovala pulcům pohyb po celé délce arény. Hladina vody v aréně dosahovala 3 cm.

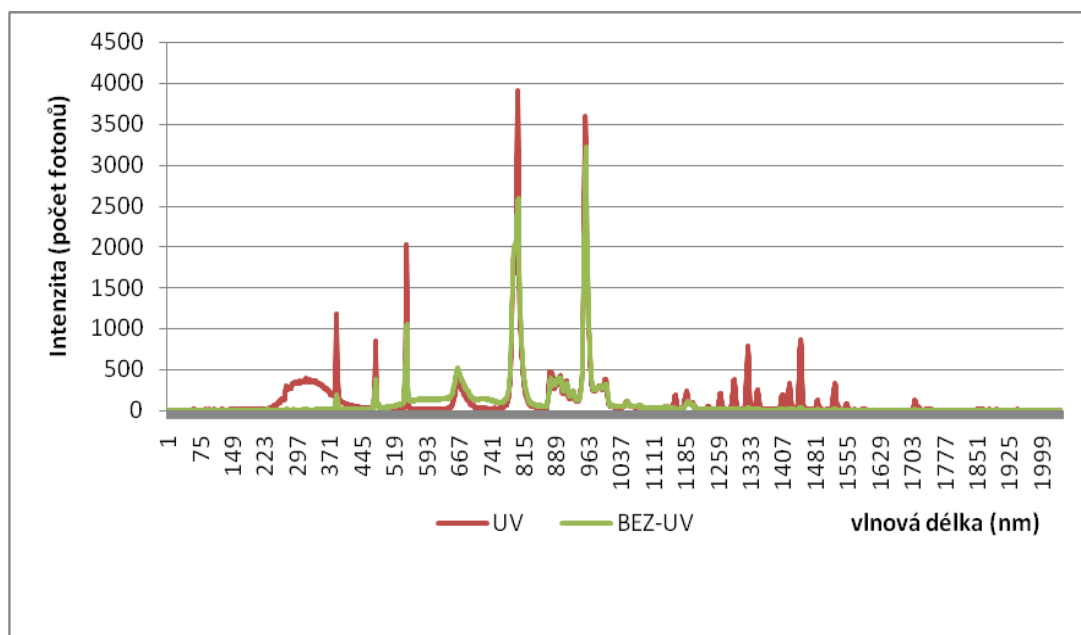
Jako zdroj světla s UV složkou byla použita kompaktní zářivka Reptile UVB100, 26 W (Exo Terra[®], HAGEN GmbH & Co. KG, Německo). Zdrojem světla bez UV složky byla kompaktní zářivka Spiral SP0611, 11 W (MEGAMAN[®], Neonlite Electronic & Lightning (HK) Limited, Hongkong). Spektrum záření vydávané zářivkami bylo analyzováno spektrometrem USB2000+ (Ocean Optics, Florida, USA). Porovnání spekter zářivek zobrazuje graf 2.

Teplota vzduchu měřená pod zářivkami se signifikantně lišila (Mann-Whitneyův test, $p < 0,001$). Rozsah naměřených teplot pod zářivkou s UV složkou záření byl 25,2–26,4 °C, u zářivky bez UV složky byl rozsah 24,2–26,3 °C. Rozdíl průměru naměřených teplot obou zářivek činil 1 °C. Grafické porovnání popisných statistik zobrazuje obrázek 2 v kapitole Přílohy. Možné ovlivnění výsledků rozdílnou teplotou diskutováno v podkapitole Rozdíl teplot.

Kompaktní zářivky byly umístěny ve výšce 10 cm od vodní hladiny v aréně tak, aby pomyslná svislice vnější strany kompaktní zářivky směřovala na boční hranu prostřední arény. Toto umístění bylo zvoleno s ohledem na rozlišovací schopnosti CCD kamery, která snímala pulce v arénách. Uspořádání arén, kompaktních žárovek a CCD kamery v klimatizovaném boxu je zobrazeno na fotografii, viz. foto 1. v kapitole Přílohy. Po provedení poloviny případů měření se vzájemně vyměnilo umístění zářivek, aby nedošlo ke zkreslení výsledků.

Program EthoVision (Noldus Information Technology 1997) následně zpracovával polohu pulce v aréně ze snímku CCD kamery. Frekvence vyhodnocování snímků byla nastavena na 2 snímky/s. Pokusná aréna byla programem rozdělena do dvou sousedících zón, zóna s UV zářením a zóna bez UV záření. Hranici tvořila skleněná deska. Program vyhodnotil následující parametry: celkovou dobu strávenou v dané zóně a celkovou uplavanou vzdálenost v této zóně.

Parametry byly získány pro 30 pulců ve vývojové fázi 38-40 a pro 12 pulců ve vývojové fázi 34-36. Vývojové fáze byly určeny podle Gosnera (1960). Každý pulec byl použit pro měření pouze jednou. Všichni pulci byli po skončení experimentu vráceni do přírody na stanoviště odběru. Před měřením byli pulci aklimatizováni v arénách po dobu 10 minut. Následně probíhalo 20 minut snímání a měření parametrů.



Graf 2: Porovnání spekter záření vydávaných zářivkami, měřeno spektrometrem USB2000+ (Ocean Optics, Florida, USA).

3.3 Statistické zpracování

Pro posouzení rozdílu mezi celkovým časem stráveným v zóně s UV zářením a celkovým časem stráveným v zóně bez UV záření byl použit Wilcoxonův párový test. Test byl použit pro pulce obou vývojových fází. Wilcoxonův párový test byl také použit k posouzení rozdílu v celkové uplavané vzdálenosti v zóně s UV zářením a v zóně bez záření, taktéž pro obě vývojové fáze. Pro posouzení rozdílu v průměrné rychlosti pulce (tedy poměr celkové uplavané vzdálenosti a času stráveného v zóně) mezi zónami u obou vývojových fází byl použit rovněž Wilcoxonův párový test.

K určení, zda se liší celková uplavaná dráha pulce ve vývojové fázi 38-40 od uplavané dráhy pulce ve vývojové fázi 34-36, byl použit Mann-Whitneyův test. Tento test byl proveden pro pulce ze vzájemně si odpovídajících světelných zón. Byly tedy posuzovány uplavané vzdálenosti pulců v zóně s UV zářením a dále odděleně v zóně bez UV záření.

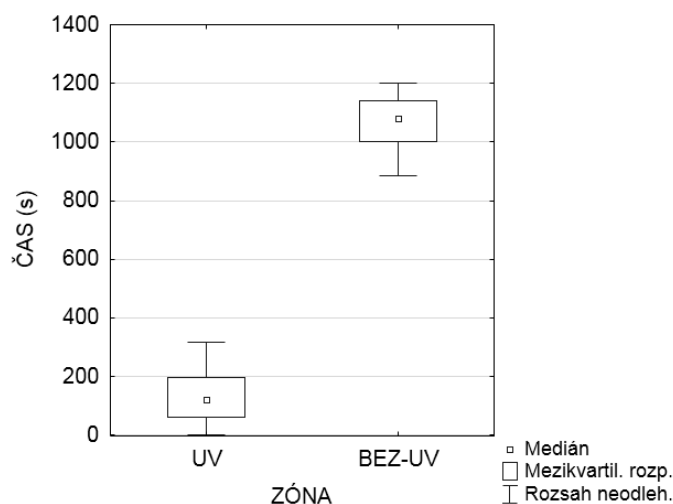
Mann-Whitneyův test byl použit pro posouzení rozdílu v celkovém čase stráveném v zóně pro pulce ve vývojových fázích 34-36 a 38-40. Test nebylo nutno vyhodnocovat odděleně pro obě odpovídající zóny, jako tomu bylo u celkové uplavané vzdálenosti. Výsledek testu pro zónu s UV zářením je shodný s výsledkem pro zónu bez UV záření, protože součet času stráveného v obou světelných zónách odpovídá 1200 s, tedy době trvání měření.

Mann-Whitneyův test byl také použit pro posouzení rozdílu mezi průměrnou rychlostí pulce ve vývojové fázi 38-40 a průměrnou rychlostí pulce ve vývojové fázi 34-36 v odpovídajících si světelných zónách.

Všechny testy byly prováděny v programovacím jazyku R, verze 3.0.2 (R Core Team 2013) za pomoci vývojového prostředí RStudio, verze 0.98.1091 (RStudio 2015).

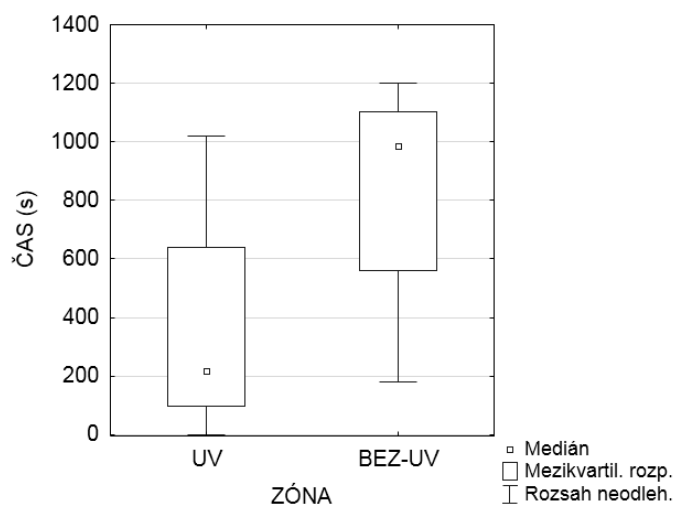
4 Výsledky

Hodnoty průměru jsou uváděny spolu se střední chybou průměru. Wilcoxonův párový test prokázal ($p < 0,001$), že čas strávený ve světelných zónách se u pulců ve vývojové fázi 38-40 významně lišil. Průměr času stráveného v zóně bez UV záření činil (1047 ± 33) s. Pulci trávili v průměru téměř 7krát více času v zóně bez UV záření (obr. 3).



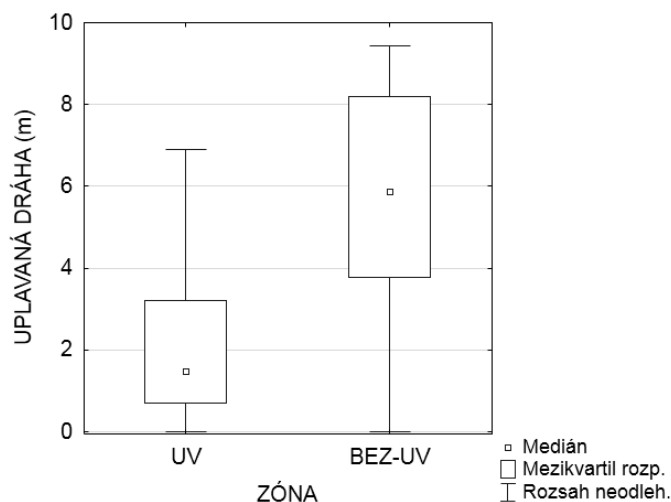
Obr. 3: Box & whisker plot zobrazující popisnou statistiku času stráveného pulci ve vývojové fázi 38-40 v obou zónách.

Čas strávený ve světelných zónách se u pulců ve vývojové fázi 34-36 signifikantně lišil. Dosažená hladina významnosti Wilcoxonova párového testu činila 0,034. Průměr času stráveného v zóně bez UV záření činil (847 ± 99) s. Pulci trávili v průměru téměř 2,5krát více času v zóně bez UV záření (obr. 4.).



Obr. 4: Box & whisker plot zobrazující popisnou statistiku času stráveného pulci ve vývojové fázi 34-36 v obou zónách.

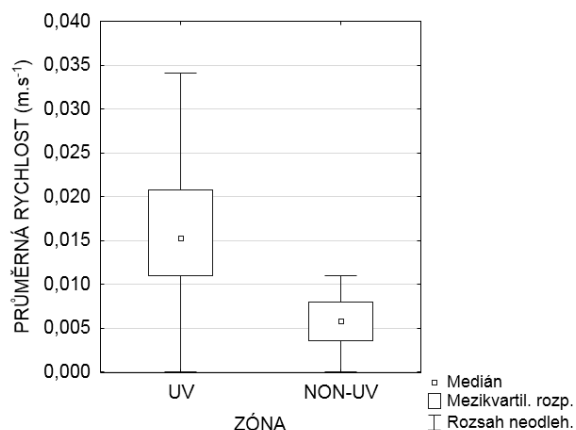
Wilcoxonův párový test prokázal ($p < 0,001$), že celková uplavaná dráha ve světelných zónách se u pulců ve vývojové fázi 38-40 významně lišila. Průměr uplavané dráhy pulců v zóně s UV zářením činil ($2,305 \pm 0,394$) m oproti ($5,696 \pm 0,490$) m v zóně bez UV záření. Uplavaná dráha pulců v zóně bez UV záření byla téměř 2,5krát delší než v zóně s UV zářením (obr. 5).



Obr. 5: Box & whisker plot zobrazující popisnou statistiku uplavané dráhy pulci ve vývojové fázi 38-40 v obou zónách.

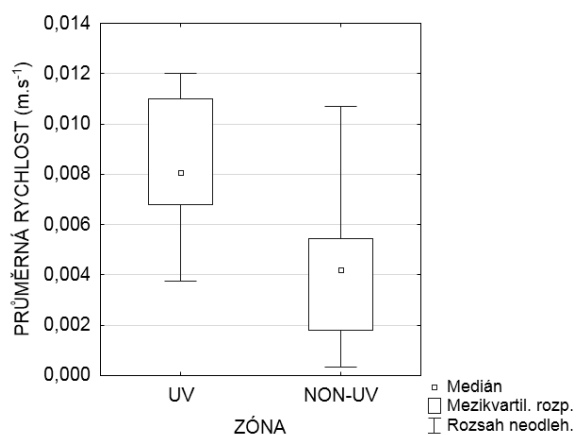
Naopak se celková uplavaná dráha ve světelných zónách u pulců ve vývojové fázi 34-36 signifikantně nelišila. Dosažená hladina významnosti Wilcoxonova párového testu činila 0,346. Průměrná délka celkové uplavané dráhy v zóně s UV zářením byla ($3,391 \pm 1,154$) m. V zóně bez UV záření byla průměrná délka dráhy ($3,976 \pm 1,141$) m. Grafické porovnání popisných statistik zobrazuje obrázek 6 v kapitole Přílohy.

Wilcoxonův párový test prokázal ($p < 0,001$), že průměrná rychlost v zónách se u pulců ve vývojové fázi 38-40 významně lišila. V zóně s UV činil průměr průměrné rychlosti ($1,87 \cdot 10^{-2} \pm 3,9 \cdot 10^{-3}$) $\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ oproti ($5,74 \cdot 10^{-3} \pm 5,2 \cdot 10^{-4}$) $\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ v zóně bez UV záření. Průměrná rychlost pulců v zóně s UV zářením byla tedy v průměru 3krát větší než v zóně bez UV záření (obr. 7).



Obr. 7: Box & whisker plot zobrazující popisnou statistiku průměrné rychlosti pulců ve vývojové fázi 38-40 v obou zónách.

Průměrná rychlost v zónách se také významně lišila u pulců ve vývojové fázi 34-36. Dosažená hladina významnosti Wilcoxonova párového testu činila 0,010. Tito pulci taktéž vykazovali vyšší průměrnou rychlost v zóně s UV zářením. V zóně s UV zářením činil průměr průměrné rychlosti $(1,00 \cdot 10^{-2} \pm 2,1 \cdot 10^{-3}) \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ oproti $(5,50 \cdot 10^{-3} \pm 1,7 \cdot 10^{-3}) \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ v zóně bez UV záření. Průměrná rychlost pulců v zóně s UV zářením byla tedy v průměru téměř 2krát větší než v zóně bez UV záření (obr. 8).

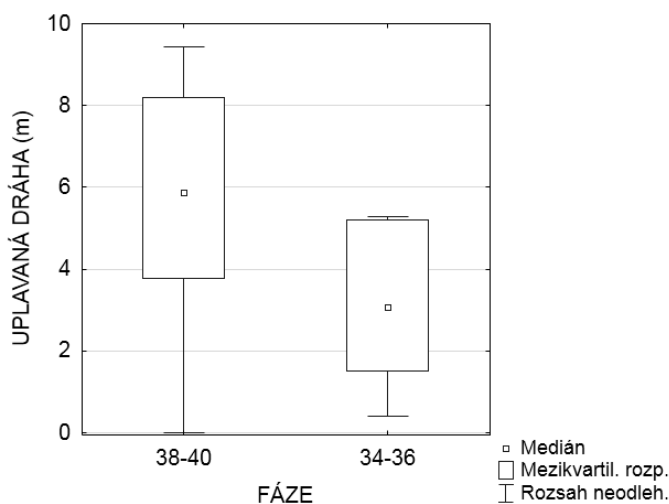


Obr. 8: Box & whisker plot zobrazující popisnou statistiku průměrné rychlosti pulců ve vývojové fázi 34-36 v obou zónách.

Mann-Whitneyův test prokázal ($p = 0,079$), že čas strávený v odpovídajících si světelných zónách se u pulců ve vývojové fázi 38-40 významně nelišil od stráveného času u pulců ve vývojové fázi 34-36. Hodnota průměru času stráveného v zóně s UV zářením u pulců ve fázi 38-40 činila $(153 \pm 33) \text{ s}$. U pulců ve fázi 34-36 v zóně s UV zářením činila hodnota průměru $(353 \pm 99) \text{ s}$. Grafické porovnání popisných statistik zobrazuje obrázek 9 v kapitole Přílohy.

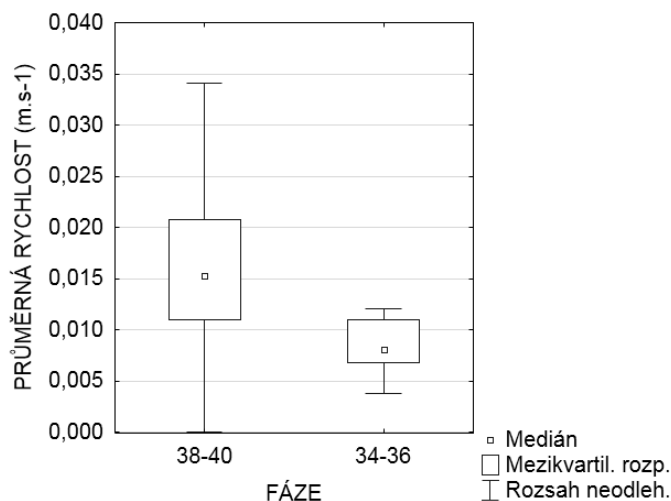
Z výsledku Mann-Whitneyova testu ($p = 0,522$) vyplývá, že celková uplavaná dráha v zóně s UV zářením se u pulců ve vývojové fázi 38-40 signifikantně nelišila od uplavané dráhy pulců ve vývojové fázi 34-36 v této zóně. Hodnota průměru uplavané dráhy v zóně s UV zářením u pulců ve fázi 38-40 činila ($2,305 \pm 0,394$) m. U pulců ve fázi 34-36 v zóně s UV zářením činila hodnota průměru ($3,391 \pm 1,154$) m. Grafické porovnání popisných statistik zobrazuje obrázek 10 v kapitole Přílohy.

Uplavaná dráha se naopak signifikantně lišila v zóně bez UV záření u pulců ve vývojové fázi 38-40 od uplavané dráhy v zóně bez UV záření u pulců ve vývojové fázi 34-36. Dosažená hladina významnosti Mann-Whitneyova testu činila 0,025. Hodnota průměru uplavané dráhy v zóně bez UV záření u pulců ve fázi 38-40 činila ($5,696 \pm 0,490$) m oproti hodnotě průměru ($3,976 \pm 1,141$) m u pulců ve fázi 34-36 v zóně bez UV záření. Grafické porovnání popisných statistik zobrazuje obrázek 11.



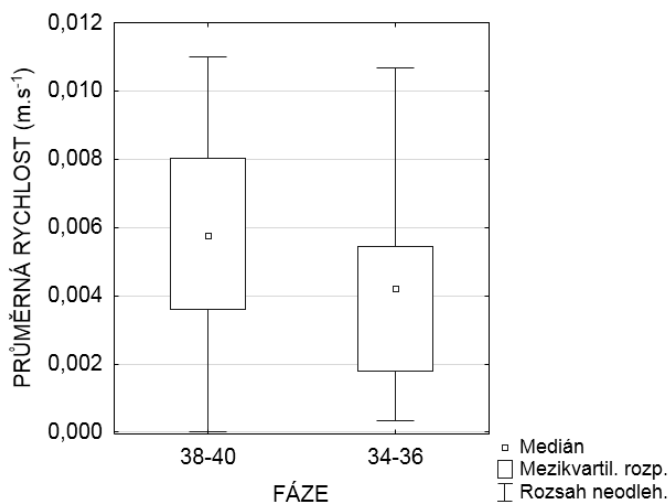
Obr. 11: Box & whisker plot zobrazující porovnání popisných statistik dráhy uplavané pulci odlišných vývojových fází v zóně bez UV záření.

Mann-Whitneyův test prokázal ($p = 0,039$), že průměrná rychlost v zóně s UV zářením se u pulců ve vývojové fázi 38-40 signifikantně lišila od průměrné rychlosti pulců ve vývojové fázi 34-36 v této zóně. Průměr průměrné rychlosti pulců ve fázi 38-40 činil ($1,87 \cdot 10^{-2} \pm 3,9 \cdot 10^{-3}$) $\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ oproti ($1,00 \cdot 10^{-2} \pm 2,1 \cdot 10^{-3}$) $\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ u pulců ve vývojové fázi 34-36. Průměrná rychlost pulců ve vývojové fázi 38-40 v zóně s UV zářením byla tedy v průměru téměř 2krát větší než u pulců ve vývojové fázi 34-36 (obr. 12).



Obr. 12: Box & whisker plot zobrazující porovnání popisných statistik průměrné rychlosti pulců odlišných vývojových fází v zóně s UV zářením.

Naopak se signifikantně nelišila průměrná rychlost pulců ve vývojové fázi 38-40 v zóně bez UV záření od průměrné rychlosti pulců ve vývojové fázi 34-36 v této zóně. Dosažená hladina významnosti Mann-Whitneyova testu činila 0,226. Průměr průměrné rychlosti pulců ve vývojové fázi 38-40 činil $(5,74 \cdot 10^{-3} \pm 5,2 \cdot 10^{-4}) \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ oproti $(5,50 \cdot 10^{-3} \pm 1,7 \cdot 10^{-3}) \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ u pulců ve vývojové fázi 34-36. Grafické porovnání popisných statistik zobrazuje obrázek 13.



Obr. 13: Box & whisker plot zobrazující porovnání popisných statistik průměrné rychlosti pulců odlišných vývojových fází v zóně bez UV zářením.

Tabulka 5 udává přehled hodnot průměru a středních chyb průměru všech zjišťovaných parametrů a tabulka 6 udává přehled dosažených hladin významnosti jednotlivých statistických testů; obě tabulky v kapitole Přílohy.

5 Diskuze

Vliv UV záření na obojživelníky se liší nejen mezidruhově (Blaustein et al. 1998, van de Mortel a Buttemer 1998, Häkkinen et al. 2001, Pahkala et al. 2003a), ale i vnitrodruhově (Belden et al. 2000, Pahkala et al. 2002). Tento vliv se také liší u jedinců různých vývojových stádií (Grant a Licht 1995, Crump et al. 1999, Calfee et al. 2006).

V tomto experimentu měli pulci *Rana temporaria* možnost zvolit si stranu s UV zářením nebo bez UV záření. Pokud je mi známo, nebyla publikována žádná jiná studie, zabývající se preferencí či aktivním výběrem místa exponovaného UV zářením u pulců tohoto druhu, vyjma práce Pahkaly et al. (2003a). Autoři zkoumali změnu chování vedoucí k aktivnímu hledání ukrytu při působení UV-B záření u pulců tří druhů žab (*R. temporaria*, *R. arvalis* a *Bufo bufo*) ve vývojové fázi 25 (Gosner 1960). Ani u jednoho z druhů nebyl prokázán významný rozdíl v preferenci zóny. Byl však prokázán významný rozdíl v době strávené v zóně bez UV-B záření mezi různými druhy. Nejčastěji byli v zóně bez UV-B záření zaznamenáni pulci *R. arvalis*, dále pulci *R. temporaria* a nejméně pulci *B. bufo*. Autoři se však domnívají, že tento rozdíl mezi druhy mohl být ovlivněn jejich teplotním optimem, protože teplota pod UV-B filtrem byla mírně nižší, což vyhovuje druhu *R. arvalis*. Naopak v mém experimentu pulci *R. temporaria* trávili prokazatelně více času v zóně bez UV-B záření. Lišilo se však uspořádání mého pokusu od postupu Pahkaly et al. (2003a). Podobně jako v mém experimentu byli pulci umístěni do plastové arény, která byla rozdělena na dvě zóny. Autoři však k odfiltrování UV-B záření použili fólie zakrývající arény; v zóně bez UV-B záření polyesterovou Mylar fólií a v zóně s UV-B zářením fólii z acetátové celulózy.

Po 15minutové aklimatizaci pulců v aréně byla zaznamenávána jejich poloha a aktivita (pohyb/odpočinek) v intervalech 5 minut po dobu 2 hodin. Autoři neprokázali významný rozdíl pohybové aktivity pulců mezi zónami. Shodně pulci ze skupiny ve vývojové fázi 34-36 v mém pokusu nevykazovali významný rozdíl uplavané dráhy v jednotlivých zónách. Naopak uplavaná dráha pulců téměř před metamorfózou (vývojová fáze 38-40) byla prokazatelně delší v zóně bez UV-B záření. Rovněž z porovnání uplavané dráhy pulců mezi skupinami v zóně bez UV záření vyplývá, že pulci v pozdější vývojové fázi uplavali prokazatelně delší

vzdálenost. To je v souladu s výsledky Golden et al. (2000), kteří pozorovali nárůst pohybové aktivity pulců *Xenopus laevis* spojený s pozdější fází jejich vývoje.

Pulci *Litoria aurea* a *Litoria peronii* byli prokazatelně častěji zaznamenáni v zóně bez působení UV-B záření. Naopak u pulců *Litoria dentata* preference této zóny nebyla potvrzena (van de Mortel a Buttemer 1998). Pulci při těchto měřeních byli vystaveni 3násobné intenzitě UV-B záření, než byla zjištěna v lokalitě odběru jedinců během poledne v letních měsících. Lze tedy očekávat, že vliv UV-B záření na pulce se v laboratorním experimentu projevil výrazněji, než by tomu bylo v terénu nebo při nižší intenzitě UV-B záření. Preference zóny bez UV-B záření také nebyla prokázána pro adultní jedince *Litoria aurea* a *Litoria peronii*.

Změnou pohybu vlivem expozice UV-B záření se u ocasatých obojživelníků, konkrétně u larev *Triturus alpestris*, zabývali Nagl a Hofer (1997). Ve svých laboratorních i terénních pokusech prokázali, že expozice UV-B záření u larev vyvolává nesměrný, rychlý pohyb, který byl náhle ukončen, když larvy dosáhly zastíněné části pokusné nádrže, tedy místa s nižší expozicí UV-B záření. Naopak larvy v kontrolní skupině (bez UV-B záření) prokazatelně vykazovaly pozitivní fototaxi. Shodně i v mém pokusu pulci obou vývojových skupin v zóně s UV zářením vykazovali prokazatelně vyšší průměrnou rychlost, přestože uplavaná dráha byla výrazně delší v zóně bez UV záření, tudíž pulci v zóně s UV zářením se pohybovali vyšší okamžitou rychlostí než v zóně bez UV záření. Průměrná rychlost v zóně bez UV záření se mezi skupinami pulců nelišila. Naopak v zóně s UV zářením byla průměrná rychlost pulců ve vývojové fázi 38-40 prokazatelně větší.

Zda se budou pulci *Rana cascadea* aktivně vyhýbat místům exponovaným UV-B záření testovali v laboratoři i v terénu Belden et al. (2003). V obou testovacích podmínkách pulci nevykazovali žádnou preferenci strany bez UV-B záření, přestože množství UV-B záření bylo téměř 3krát větší v terénních pokusech než v pokusech v laboratoři.

Belden et al. (2003) dále zkoumali radioimunologickými metodami hladinu stresového glukokortikoidního hormonu kortikosteronu v tělech pulců *Rana cascadea*. Nejprve testovali, zda manipulace s pulci u nich vyvolá stresovou reakci stimulující hypotalamo-hypofyzární osu spojenou s následným uvolňováním glukokortikoidního hormonu z kůry nadledvin. Manipulace spočívala v umístění jednotlivých pulců do 800ml plastových kelímků, se kterými se každé 3 minuty třáslo. Hladina kortikosteronu se zjišťovala u pulců: na začátku, po 30 a 60 minutách manipulace. Po 60 minutách manipulace hladina kortikosteroidu v tělech pulců byla téměř 3krát vyšší než u pulců na začátku manipulace. Vystavení pulců UV-B záření v terénním pokusu po dobu 1 týdne však nevyvolalo signifikantní rozdíl v hladině kortikosteroidního hormonu. Dokonce se významně nelišila hladina kortikosteroidního hormonu u pulců vystavených UV-B záření po dobu 6 týdnů od hladiny tohoto hormonu u pulců chráněných filtrem, přestože mortalita pulců přímo vystavených UV-B záření byla prokazatelně vyšší. Lze tedy předpokládat, že expozice UV-B záření, byť zvyšující mortalitu pulců *Rana cascadea*, u nich nevyvolává antistresovou odpověď, tudíž vyšší expozice UV-B není chápána pulci jako stresový faktor, kterému je nutno se vyhnout.

Také je možné, že pulci nejsou schopni detekovat hladinu UV-B záření. Fotoreceptor s vrcholem sensitivity v rozmezí 360–370 nm, tedy spadající pouze do spektra UV-A záření, byl u obojživelníků potvrzen u larev a neoteních jedinců *Ambystoma mexicanum* (Deutschlander a Phillips 1995). U druhu *Rana temporaria* bylo zjištěno, že rohovka, čočka a sklivec propouštějí záření vlnových délek 330 nm (Govardovskii a Zueva 1974).

Alton et al. (2012) také předpokládali, že pulci *Limnodynastes peronii* vyhodnotí expozici UV záření jako stresový faktor, v jehož důsledku se pulcům zvýší metabolická aktivita. Avšak zvýšení metabolické aktivity o 36 % vlivem expozice UV záření bylo pozorováno pouze u vzorku tkáně. Naopak metabolická aktivita měřená pro celé jedince, kteří byli vystaveni vlivu UV-B záření, byla o 14 % nižší. Autoři toto snížení metabolické aktivity připisují snížení pohybové aktivity jedinců vlivem působení UV záření. Vystavení UV záření snižovalo pohybovou aktivitu pulců o 56 %.

Prokazatelně nižší pohybovou aktivitu, vyjádřenou uplavanou vzdáleností, při mých měřeních vykazovali v zóně s UV zářením pouze pulci ve vývojové fázi 38-40. Pohybová aktivita v jednotlivých zónách se u pulců vývojových fází 34-36 významně nelišila. Výsledky mých měření jsou však s výsledky Altona et al. (2012) neporovnatelné díky odlišnému navržení pokusu. Pulci v mém pokusu nebyli vystaveni působení UV záření až do okamžiku samotného měření a během měření si mohli zvolit zónu s/nebo bez UV záření. Alton et al. (2012) naopak vystavili pulce UV záření po dobu 9 dní a následně provedli měření jejich aktivity v prostředí bez UV záření.

Pulci *Rana aurora* vystavení po dobu 6 dní UV-B záření o třech intenzitách vykazovali prokazatelné snížení pohybové aktivity. S vyšší intenzitou záření došlo k výraznějšímu snížení pohybové aktivity. Naopak pulci *Rana cascadae* významně nesnižovali svoji aktivitu při působení UV-B záření, přesto však při vysoké intenzitě UV-B byl patrný její pokles (Garcia et al. 2009).

V jiné studii se Alton et al. (2011) zabývali vlivem předchozí expozice UV záření na únikovou rychlost pulců *Limnodynastes peronii*. Expozice UV záření neměla žádný vliv na rychlost pohybu pulců, který byl vyvolán elektrickým podnětem. Rovněž Kern et al. (2014) nepozorovali rozdíl v únikové rychlosti pulců *Platyplectrum ornatum* v závislosti na předchozí expozici UV-B záření.

5.1 Rozdíl teplot

Při mých měřeních se teplota vzduchu v zónách lišila v průměru o 1 °C, přičemž teplota v zóně s UV zářením byla vyšší. Popisnou statistiku naměřených teplot zobrazuje obrázek 2 v kapitole přílohy. Proto nelze zcela vyloučit, že na preferenci zóny u pulců se spolu se zářením podílela i teplota. Přesto v mých pokusech pulci preferovali zónu s nižší teplotou, i když byl prokázán pozitivní vliv vyšší teploty na rychlost vývoje pulců *Rana temporaria* (Merilä et al. 2000).

Autoři pozorovali u pulců ze severní i jižní populace Švédska rychlejší vývoj při teplotě 22 °C oproti pulcům chovaným při teplotě 14 °C. Ke stejným závěrům dospěli Ståhlberg et al (2001), kteří rovněž zkoumali vliv rozdílné teploty na rychlost vývoje pulců *Rana temporaria* ze severní a jižní populace Švédska. Pulci v jejich experimentu byli chováni při třech teplotních úrovních (10, 15 a 20 °C). Pulci obou

populaci se prokazatelně vyvíjeli rychleji při vyšších teplotách, přesto pulci ze severní populace rostli se zvyšující se teplotou rychleji než pulci z populace jižní.

Dále pulci z jižní populace při teplotě 10 °C setrvali v pohybu indukovaném mechanickým podnětem delší čas než pulci z populace severní. Pohybová aktivita pulců obou populací se při teplotě 15 °C téměř nelišila. Měření pohybové aktivity nebyly z logistických důvodů prováděny pro skupiny pulců chovaných při teplotě 20 °C. Z porovnání pohybové aktivity pulců pocházejících ze stejné populace, ale chovaných při různých teplotách vody vyplývá, že tato aktivita se u pulců severní populace nelišila a u pulců jižní populace došlo k nepatrnému snížení aktivity při teplotě 15 °C.

Lze tedy usuzovat, že při mém pokusu rozdíl maximální naměřené teploty vzduchu v zóně s UV zářením a minimální naměřené teploty vzduchu v zóně bez UV záření činící 2 °C neměl významný vliv na pohybovou aktivitu pulců v těchto pokusech. Navíc výsledný rozdíl teploty vody při mých měřeních byl patrně nižší díky vysoké měrné tepelné kapacitě vody ($4\,180\text{ J}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{°C}^{-1}$) a krátké době měření. Také lze předpokládat, že teplota vzduchu při mých měřeních u pulců nevyvolávala teplotní stres, který by ovlivňoval jejich chování, protože Surova (2006) pozorovala v terénu shlukování pulců *Rana temporaria* v mělčinách u břehu vodní nádrže při teplotách vzduchu dosahujících 30 °C. Stejně Hofer a Lackner (2006) pozorovali shlukování pulců tohoto druhu v mělkých vodách horských nádrží, ve kterých teplota vody dosahovala 28 °C.

Jednou z příčin globálního poklesu populací obojživelníků byl často zmiňován vliv zvyšující se úrovně UV-B záření (Alford a Richards 1999, Kiesecker et al. 2001, Collins a Storfer 2003). Přestože vysoká expozice UV-B záření má přímý, nepříznivý vliv na fitness jedinců, mnohem závažnější je interakce vlivu UV záření a dalších abiotických a biotických faktorů prostředí, které díky vzájemnému synergetickému účinku mají výraznější dopad na fitness jedinců a v konečném důsledku i na přežití celých populací (Kiesecker a Blaustein 1995, Long et al. 1995, Koponen a Kukkonen 2002, Macías et al. 2007, Bancroft et al. 2008).

UV-B záření však nemusí mít jen negativní efekt. Vystavení pulců *Rana temporaria* a *Rana arvalis* ve vývojové fázi 25 (Gosner 1960) po dobu třech týdnů záření o třech úrovních: žádné; $1,25 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}\text{d}^{-1}$ (přirozené) a $1,58 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}\text{d}^{-1}$ (zvýšené o 26%), zvyšovalo rychlost růstu se zvyšující se úrovní UV-B záření. Dosažená velikost se prokazatelně lišila u pulců *R. temporaria* při expozici UV-B záření o přirozené i zvýšené intenzitě. U pulců *R. arvalis* se dosažená velikost lišila pouze při zvýšené úrovni UV-B záření (Pahkala et al. 2003a).

Naopak Pahkala et al. (2003b) ve svých pokusech pozorovali, že pokud byli jedinci *R. temporaria* od vajíček do metamorfózy vystaveni přirozené i zvýšené intenzitě UV-B záření, metamorfovali při nižších velikostech a později než pulci nevystavení UV-B záření. Ale naopak pulci vystavení přirozené intenzitě UV-B záření nevykazovali žádnou mortalitu. Mortalita pulců nevystavených žádné úrovni UV-B záření činila 15 % a mortalita pulců vystavených zvýšené úrovni UV-B činila 30 %. Autoři se domnívají, že tato nižší mortalita mohla být způsobena pozitivním vlivem UV-B záření vhodné intenzity indukující biosyntézu vitamínu D₃. Tento vitamín se ve své hormonální formě významně podílí na homeostázi vápníku a fosforu v tělech obojživelníků (Norris a Carr 2013). Pro bližší poznání vlivu UV záření na obojživelníky je nutný další výzkum, který by měl být proveden podle sjednocených metodických postupů, které umožní vzájemné porovnání zjištěných výsledků.

6 Závěr

V laboratorním experimentu, který u dvou odlišných vývojových fází pulců *Rana temporaria* zkoumal preferenci ke stanovišti a pohybovou aktivitu v závislosti na přítomnosti UV záření, bylo prokázáno:

- 1) Pulci obou skupin preferovali stanoviště bez UV záření, tedy trávili prokazatelně více času v zóně bez tohoto záření.
- 2) Pulci v pokročilejší vývojové fázi uplavali v zóně bez UV záření větší vzdálenost. Jejich celková uplavaná dráha byla téměř 2,5krát delší než v zóně s UV zářením. U pulců v nižší fázi vývoje nebyl patrný rozdíl v uplavané dráze v jednotlivých zónách.
- 3) Průměrná rychlost pulců obou skupin byla významně větší v zóně s UV zářením.
- 4) Uplavaná dráha pulců obou skupin se od sebe prokazatelně nelišila v zóně s UV zářením. Naopak se u skupin významně lišila průměrná rychlost v této zóně. Průměrná rychlost pulců v pokročilejší vývojové fázi byla téměř 2krát větší v zóně s UV zářením.
- 5) Naopak se významně lišila uplavaná dráha pulců obou skupin v zóně bez UV záření. V této zóně pulci v pokročilejší fázi vývoje uplavali delší vzdálenost, přestože rozdíl průměrné rychlosti mezi pulci obou skupin v zóně bez UV záření nebyl prokazatelný.

7 Seznam použitých zdrojů

- Alford, R. A. a Richards, S. J. (1999). Global amphibian declines: A problem in applied ecology. *Annual review of Ecology and Systematics* 30: 133–165.
- Altig, R. a McDiarmid, R. W. (2007). Morphological diversity and evolution of egg and clutch structure in amphibians. *Herpetological Monographs* 21: 1–32.
- Alton, L. A., White, C. R., Wilson, R. S. a Franklin, C. E. (2012). The energetic cost of exposure to UV radiation for tadpoles is greater when they live with predators: Effect of UVR on tadpole metabolic rate. *Functional Ecology* 26: 94–103.
- Alton, L. A., Wilson, R. S. a Franklin, C. E. (2011). A small increase in UV-B increases the susceptibility of tadpoles to predation. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 278: 2575–2583.
- Ankley, G. T., Tietge, J. E., Holcombe, G. W., DeFoe, D. L., Diamond, S. A., Jensen, K. M. a Degitz, S. J. (2000). Effects of laboratory ultraviolet radiation and natural sunlight on survival and development of *Rana pipiens*. *Canadian Journal of Zoology* 78: 1092–1100.
- Antwis, R. E. a Browne, R. K. (2009). Ultraviolet radiation and vitamin D₃ in amphibian health, behaviour, diet and conservation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 154: 184–190.
- Anzalone, C. R., Kats, L. B. a Gordon, M. S. (1998). Effects of solar UV-B radiation on embryonic development in *Hyla cadaverina*, *Hyla regilla*, and *Taricha torosa*. *Conservation Biology* 12: 646–653.
- Baksi, S. N., Kenny, A. D., Galli-Gallardo, S. M. a Pang, P. K. T. (1978). Vitamin D metabolism in bullfrogs and Japanese quail: Effects of estradiol and prolactin. *General and Comparative Endocrinology* 35: 258–262.
- Baldwin, G. F. a Bentley, P. J. (1980). Calcium metabolism in bullfrog tadpoles (*Rana catesbeiana*). *The Journal of Experimental Biology* 88: 357–365.
- Bancroft, B. A., Baker, N. J. a Blaustein, A. R. (2008). A meta-analysis of the effects of ultraviolet B radiation and its synergistic interactions with pH, contaminants, and disease on amphibian survival. *Conservation Biology* 22: 987–996.
- Barker, D., Dixon, K., Medrano, E. E., Smalara, D., Im, S., Mitchell, D., Babcock, G. a Abdel-Malek, Z. A. (1995). Comparison of the responses of human melanocytes with different melanin contents to ultraviolet B irradiation. *Cancer Research* 55: 4041–4046.
- Belden, L. K. a Blaustein, A. R. (2002). UV-B induced skin darkening in larval salamanders does not prevent sublethal effects of exposure on growth. *Copeia* 2002/3: 748–754.

- Belden, L. K., Moore, I. T., Mason, R. T., Wingfield, J. C. & Blaustein, A. R. (2003). Survival, the hormonal stress response and UV-B avoidance in cascades frog tadpoles (*Rana cascadae*) exposed to UV-B radiation. *Functional Ecology* 17: 409–416.
- Belden, L. K., Wildy, E. L. & Blaustein, A. R. (2000). Growth, survival and behaviour of larval long-toed salamanders (*Ambystoma macrodactylum*) exposed to ambient levels of UV-B radiation. *Journal of Zoology* 251: 473–479.
- Blaustein, A. R. & Belden, L. K. (2003). Amphibian defenses against ultraviolet-B radiation. *Evolution & Development* 5: 89–97.
- Blaustein, A. R., Hatch, A., Belden, L. K. & Wildy, E. L. (2001). Influence of abiotic and biotic factors on amphibians in ephemeral ponds with special reference to long-toed salamanders (*Ambystoma macrodactylum*). *Israel Journal of Zoology* 47: 333–346.
- Blaustein, A. R., Hoffman, P. D., Hokit, D. G., Kiesecker, J. M., Walls, S. C. & Hays, J. B. (1994). UV repair and resistance to solar UV-B in amphibian eggs: A link to population declines?. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 91: 1791–1795.
- Blaustein, A. R., Chivers, D. P., Kats, L. B. & Kiesecker, J. M. (2000). Effects of ultraviolet radiation on locomotion and orientation in roughskin newts (*Taricha granulosa*). *Ethology* 106: 227–234.
- Blaustein, A. R. & Kiesecker, J. M. (2002). Complexity in conservation: Lessons from the global decline of amphibian populations. *Ecology Letters* 5: 597–608.
- Blaustein, A. R., Kiesecker, J. M., Chivers, D. P. & Anthony, R. G. (1997). Ambient UV-B radiation causes deformities in amphibian embryos. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94: 13735–13737.
- Blaustein, A. R., Kiesecker, J. M., Chivers, D. P., Hokit, D. G., Marco, A., Belden, L. K. & Hatch, A. (1998). Effects of ultraviolet radiation on amphibians: Field experiments. *American Zoologist* 38: 799–812.
- Booth, C. R. & Morrow, J. H. (1997). The penetration of UV into natural waters. *Photochemistry and Photobiology* 65: 254–257.
- Broomhall, S. D., Osborne, W. S. & Cunningham, R. B. (2000). Comparative effects of ambient ultraviolet-B radiation on two sympatric species of Australian frogs. *Conservation Biology* 14: 420–427.
- Calfee, R. D., Bridges, C. M. & Little, E. E. (2006). Sensitivity of two salamander (*Ambystoma*) species to ultraviolet radiation. *Journal of Herpetology* 40: 35–42.

- CIE. (2006). Action spectrum for the production of previtamin D₃ in human skin. Vienna: Commission internationale de l'éclairage. 16 s.
- Cockell, C. S. a Knowland, J. (1999). Ultraviolet radiation screening compounds. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* 74: 311–345.
- Collins, J. P. a Storfer, A. (2003). Global amphibian declines: Sorting the hypotheses. *Diversity and Distributions* 9: 89–98.
- Croteau, M. C., Davidson, M. A., Lean, D. R. S. a Trudeau, V. L. (2008). Global increases in ultraviolet B radiation: Potential impacts on amphibian development and metamorphosis. *Physiological & Biochemical Zoology* 81: 743–761.
- Crump, D., Berrill, M., Coulson, D., Lean, D., McGillivray, L. a Smith, A. (1999). Sensitivity of amphibian embryos, tadpoles, and larvae to enhanced UV-B radiation in natural pond conditions. *Canadian Journal of Zoology* 77: 1956–1966.
- ČHMÚ. (2015). Portál ČHMÚ: Aktuální situace: Aktuální stav počasí: Česká republika: Ozonové a UV zpravodajství. Dostupné 23. února 2015, z http://portal.chmi.cz/portal/dt?menu=JSPTabContainer/P10_0_Aktualni_situace/P10_1_Pocasi/P10_1_1_Cesko/P10_1_1_11_Ozon_a_UV.
- DeLuca, H. F. (2004). Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *The American Journal of Clinical Nutrition* 80: 1689S–1696S.
- Densmore, C. L. a Green, D. E. (2007). Diseases of amphibians. *ILAR Journal* 48: 235–254.
- Deutschlander, M. E. a Phillips, J. B. (1995). Characterization of an ultraviolet photoreception mechanism in the retina of an amphibian, the axolotl (*Ambystoma mexicanum*). *Neuroscience Letters* 197: 93–96.
- Dore, B., Guardabassi, A. a Sinigaglia, D. (1978). *Rana esculenta* ⁴⁵Ca uptake through the skin in vivo. *Bolletino Di Zoologia* 45: 79–81.
- Duellman, W. E. a Trueb, L. (1994). Eggs and development. In: Biology of amphibians (s. 109–139). Baltimore: Johns Hopkins University Press.
- Epel, D., Hemela, K., Shick, M. a Patton, C. (1999). Development in the floating world: Defenses of eggs and embryos against damage from UV radiation. *American Zoologist* 39: 271–278.
- Flamarique, I. N., Ovaska, K. a Davis, T. M. (2000). UV-B induced damage to the skin and ocular system of amphibians. *The Biological Bulletin* 199: 187–188.
- Friedberg, E. C., Walker, G. C. a Siede, W. (1995). DNA repair and mutagenesis. Washington, D.C.: ASM Press. 728 s.

- Garcia, T. S., Paoletti, D. J. a Blaustein, A. R. (2009). Correlated trait response: Comparing amphibian defense strategies across a stress gradient. *Canadian J. Zoology-revue Canadienne De Zoologie* 87: 41–49.
- Gilchrest, B. A., Park, H. Y., Eller, M. S. a Yaar, M. (1996). Mechanisms of ultraviolet light-induced pigmentation. *Photochemistry and Photobiology* 63: 1–10.
- Golden, D. R., Smith, G. R. a Rettig, J. E. (2000). Effects of age and group size on habitat selection and activity level in *Xenopus laevis* tadpoles. *Transactions of the Nebraska Academy of Sciences* 26: 23–27.
- Gosner, K. L. (1960). A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica* 16: 183–190.
- Govardovskii, V. I. a Zueva, L. V. (1974). Spectral sensitivity of the frog eye in the ultraviolet and visible region. *Vision Research* 14: 1317–1321.
- Grant, K. P. a Licht, L. E. (1995). Effects of ultraviolet radiation on life-history stages of anurans from Ontario, Canada. *Canadian Journal of Zoology* 73: 2292–2301.
- van Greffen, J. a van der A, R. (2012). TEMIS: UV radiation monitoring: UV index and UV dose. Dostupné 14. února 2015, z <http://www.temis.nl/uvradiation/info/index.html>.
- Gurdon, J. B. (1960). The effects of ultraviolet irradiation on uncleaved eggs of *Xenopus laevis*. *Quarterly Journal of Microscopical Science* 101: 299–311.
- Häkkinen, J., Pasanen, S. a Kukkonen, J. V. K. (2001). The effects of solar UV-B radiation on embryonic mortality and development in three boreal anurans (*Rana temporaria*, *Rana arvalis* and *Bufo bufo*). *Chemosphere* 44: 441–446.
- Hansen, L. J., Fabacher, D. L. a Calfee, R. (2002). The role of the egg jelly coat in protecting *Hyla regilla* and *Bufo canorus* embryos from ultraviolet B radiation during development. *Environmental Science and Pollution Research International* 9: 412–416.
- Hearst, J. E. (1995). The structure of photolyase: Using photon energy for DNA repair. *Science* 268: 1858–1859.
- Hofer, R. a Lackner, R. (2006). Nutritional status of tadpole populations of *Rana temporaria* in the Central Alps (Austria). *Berichte des Naturwissenschaftlich Medizinischen Vereins in Innsbruck* 93: 147–159.
- Hofer, R. a Mokri, C. (2000). Photoprotection in tadpoles of the common frog, *Rana temporaria*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 59: 48–53.

- Hoff, K. vS, Blaustein, A. R., McDiarmid, R. W. a Altig, R. (1999). Behavior: Interactions and their consequences. In R. W. McDiarmid a R. Altig (Eds.), *Tadpoles: The biology of anuran larvae* (s. 215–239). Chicago: University of Chicago Press.
- Holick, M. F. (1995). Environmental factors that influence the cutaneous production of vitamin D. *The American Journal of Clinical Nutrition* 61: 638S–645S.
- Holick, M. F. (2003). Vitamin D: A millenium perspective. *Journal of Cellular Biochemistry* 88: 296–307.
- Holick, M. F., Tian, X. Q. a Allen, M. (1995). Evolutionary importance for the membrane enhancement of the production of vitamin D₃ in the skin of poikilothermic animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92: 3124–3126.
- Chen, T. C., Chimeh, F., Lu, Z., Mathieu, J., Person, K. S., Zhang, A., Kohn, N., Martinello, S., Berkowitz, R. a Holick, M. F. (2007). Factors that influence the cutaneous synthesis and dietary sources of vitamin D. *Archives of biochemistry and biophysics* 460: 213–217.
- Kats, L. B., Kiesecker, J. M., Chivers, D. P. a Blaustein, A. R. (2000). Effects of UV-B radiation on anti-predator behavior in three species of amphibians. *Ethology* 106: 921–931.
- Kern, P., Cramp, R. L. a Franklin, C. E. (2014). Temperature and UV-B-insensitive performance in tadpoles of the ornate burrowing frog: An ephemeral pond specialist. *Journal of Experimental Biology* 217: 1246–1252.
- Kiesecker, J. M. a Blaustein, A. R. (1995). Synergism between UV-B radiation and a pathogen magnifies amphibian embryo mortality in nature. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 92: 11049–11052.
- Kiesecker, J. M., Blaustein, A. R. a Belden, L. K. (2001). Complex causes of amphibian population declines. *Nature* 410: 681–684.
- Koponen, P. S. a Kukkonen, J. V. K. (2002). Effects of bisphenol A and artificial UVB radiation on the early development of *Rana temporaria*. *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A* 65: 947–959.
- Lee, C., Le, M.-P., Cannatella, D. a Wallingford, J. B. (2009). Changes in localization and expression levels of Shroom2 and spectrin contribute to variation in amphibian egg pigmentation patterns. *Development Genes and Evolution* 219: 319–330.
- Lesser, M. P., Turtle, S. L., Farrell, J. H. a Walker, C. W. (2001). Exposure to ultraviolet radiation (290–400 nm) causes oxidative stress, DNA damage, and expression of p53/p73 in laboratory experiments on embryos of the spotted salamander, *Ambystoma maculatum*. *Physiological Biochemical Zoology* 74: 733–741.

- Licht, L. E. (2003). Shedding light on ultraviolet radiation and amphibian embryos. *BioScience* 53: 551–561.
- Lindgren, J., Siitonen, T. a Brown, B. (2004). UV-lamps for terrariums: Their spectral characteristics and efficiency in promoting vitamin D₃ synthesis by UVB irradiation. *Herpetomania* 13: 13–20.
- Lizana, M. a Pedraza, E. M. (1998). The effects of UV-B radiation on toad mortality in mountainous areas of central Spain. *Conservation Biology* 12: 703–707.
- Long, L. E., Saylor, L. S. a Soule, M. E. (1995). A pH/UV-B synergism in amphibians. *Conservation Biology* 9: 1301–1303.
- MacFadyen, E. J., Williamson, C. E., Grad, G., Lowery, M., Jeffrey, W. H. a Mitchell, D. L. (2004). Molecular response to climate change: Temperature dependence of UV-induced DNA damage and repair in the freshwater crustacean *Daphnia pulex*. *Global Change Biology* 10: 408–416.
- Macías, G., Marco, A. a Blaustein, A. R. (2007). Combined exposure to ambient UVB radiation and nitrite negatively affects survival of amphibian early life stages. *The Science of the Total Environment* 385: 55–65.
- Marco, A., Bancroft, B. A., Lizana, M. a Blaustein, A. R. (2009). Ultraviolet-B radiation and amphibians. In: H. Heatwole (Ed.), *Amphibian Decline: Diseases, parasites, maladies and pollution* (s. 3112–3144). Chipping Norton: Surrey Beatty & Sons.
- Marco, A., Lizana, M., Alvarez, A. a Blaustein, A. R. (2001). Egg-wrapping behaviour protects newt embryos from UV radiation. *Animal Behaviour* 61: 639–644.
- McKenzie, R. L., Aucamp, P. J., Bais, A. F., Björn, L. O. a Ilyas, M. (2007). Changes in biologically-active ultraviolet radiation reaching the Earth's surface. *Photochemical & Photobiological Sciences* 6: 218–231.
- McKenzie, R. L., Johnston, P. V., Smale, D., Bodhaine, B. A. a Madronich, S. (2001). Altitude effects on UV spectral irradiance deduced from measurements at Lauder, New Zealand, and at Mauna Loa Observatory, Hawaii. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres* 106: 22845–22860.
- Merilä, J., Laurila, A., Laugen, A. T., Räsänen, K. a Pakkala, M. (2000). Plasticity in age and size at metamorphosis in *Rana temporaria* comparison of high and low latitude populations. *Ecography* 23: 457–465.
- Metelka, L. (2015). Minulost, súčasnosť a budúcnosť ozonovej vrstvy. Dostupné 17. února 2015, z <http://oze.tzb-info.cz/klimaticke-zmeny/12215-minulost-soucasnost-a-budoucnost-ozonove-vrstvy>.

- Morris, D. P., Zagarese, H., Williamson, C. E., Balseiro, E. G., Hargreaves, B. R., Modenutti, B., Moeller, R. a Queimalinos, C. (1995). The attenuation of solar UV radiation in lakes and the role of dissolved organic carbon. *Limnology and Oceanography* 40: 1381–1391.
- van de Mortel, T. F. a Buttemer, W. A. (1998). Avoidance of ultraviolet-B radiation in frogs and tadpoles of the species *Litoria aurea*, *L. dentata* and *L. peronii*. *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales*: 173–179.
- van de Mortel, T. F. a Buttemer, W. A. (1996). Are *Litoria aurea* eggs more sensitive to ultraviolet-B radiation than eggs of sympatric *L. peronii* or *L. dentata*?. *Australian Zoologist* 30: 150–157.
- Nagl, A. M. a Hofer, R. (1997). Effects of ultraviolet radiation on early larval stages of the alpine newt, *Triturus alpestris*, under natural and laboratory conditions. *Oecologia* 110: 514–519.
- Noldus Information Technology. (1997). Ethovision: Video tracking, motion analysis and behavior recognition system. version 1.90. Wageningen: Noldus Information Technology.
- van Noorden, S. a Pearse, A. G. E. (1971). Immunofluorescent localization of calcitonin in the ultimobranchial gland of *Rana temporaria* and *Rana pipiens*. *Histochemie* 26: 95–97.
- Norris, D. O. a Carr, J. A. (2013). Regulation of calcium and phosphate homeostasis in vertebrates. In: D. O. Norris a J. A. Carr (Eds.), *Vertebrate endocrinology* (s. 501–527). San Diego: Academic Press.
- Ovaska, K., Davis, T. M. a Flamarique, I. N. (1997). Hatching success and larval survival of the frogs *Hyla regilla* and *Rana aurora* under ambient and artificially enhanced solar ultraviolet radiation. *Canadian J. Zoology-revue Canadienne De Zoologie* 75: 1081–1088.
- Pahkala, M., Laurila, A. a Merila, J. (2000). Ambient ultraviolet-B radiation reduces hatchling size in the common frog *Rana temporaria*. *Ecography* 23: 531–538.
- Pahkala, M., Laurila, A. a Merila, J. (2003a). Effects of ultraviolet-B radiation on behaviour and growth of three species of amphibian larvae. *Chemosphere* 51: 197–204.
- Pahkala, M., Merila, J., Ots, I. a Laurila, A. (2003b). Effects of ultraviolet-B radiation on metamorphic traits in the common frog *Rana temporaria*. *Journal of Zoology* 259: 57–62.
- Pahkala, M., Rasanen, K., Laurila, A., Johanson, U., Bjorn, L. O. a Merila, J. (2002). Lethal and sublethal effects of UV-B/pH synergism on common frog embryos. *Conservation Biology* 16: 1063–1073.

- Pang, Q. a Hays, J. B. (1991). UV-B-inducible and temperature-sensitive photoreactivation of cyclobutane pyrimidine dimers in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology* 95: 536–543.
- Paul, N. D. a Gwynn-Jones, D. (2003). Ecological roles of solar UV radiation: Towards an integrated approach. *Trends in Ecology & Evolution* 18: 48–55.
- Räsänen, K., Pahkala, M., Laurila, A. a Merila, J. (2003). Does jelly envelope protect the common frog *Rana temporaria* embryos from UV-B radiation?. *Herpetologica* 59: 293–300.
- R Core Team. (2013). R: A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing.
- RStudio. (2015). RStudio: Integrated development environment for R (Verze 0.98.1091). Boston, MA: RStudio.
- Sancar, A. a Sancar, G. B. (1988). DNA repair enzymes. *Annual Review of Biochemistry* 57: 29–67.
- Sancar, A. a Tang, M. (1993). Nucleotide excision repair. *Photochemistry and Photobiology* 57: 905–921.
- Sanuy, D., Oromí, N. a Galofré, A. (2008). Effects of temperature on embryonic and larval development and growth in the natterjack toad (*Bufo calamita*) in a semi-arid zone. *Animal biodiversity and conservation* 31: 41–46.
- Sasayama, Y. a Oguro, C. (1982). Effects of hypophysectomy and replacement therapy with pituitary homogenates or ovine prolactin on serum calcium, sodium, and magnesium concentrations in bullfrog tadpoles. *General and Comparative Endocrinology* 46: 75–80.
- Skalická-Freitinger, Z., Hon, Z. a Navrátil, L. (2010). Biologický účinek ultrafialového záření. *Kontakt* 2010/4: 480–486.
- Smith, G. R., Waters, M. A. a Rettig, J. E. (2000). Consequences of embryonic UV-B exposure for embryos and tadpoles of the plains leopard frog. *Conservation Biology* 14: 1903–1907.
- Smith, M. A., Berrill, M. a Kapron, C. M. (2002). Photolyase activity of the embryo and the ultraviolet absorbance of embryo jelly for several Ontario amphibian species. *Canadian Journal of Zoology* 80: 1109–1116.
- Ståhlberg, F., Olsson, M. a Uller, T. (2001). Population divergence of developmental thermal optima in Swedish common frogs, *Rana temporaria*. *Journal of Evolutionary Biology* 14: 755–762.
- Stiffler, D. F. (1993). Amphibian calcium metabolism. *The Journal of Experimental Biology* 184: 47–61.

- Stiffler, D. F. (1995). Active calcium transport in the skin of the frog *Rana pipiens*: Kinetics and seasonal rhythms. *The Journal of Experimental Biology* 198: 967–974.
- Stuart, S. N., Chanson, J. S., Cox, N. A., Young, B. E., Rodrigues, A. S. L., Fischman D. L. a Waller R. W. (2004). Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science* 306: 1783–1786.
- Surova, G. S. (2006). Motor activity of amphibian larvae - from schools to shoals. In: M. Vences, J. Köhler, T. Ziegler a W. Böhme (Eds.), *Herpetologia Bonnensis II*: (s. 183–186). Bonn: SEH.
- SZÚ. (2015). UV záření. Dostupné 8. února 2015, z <http://www.szu.cz/tema/zivotni-prostredi/koupani-ve-volne-prirode/uv-zareni>.
- TEMIS. (2015). UV station data based on satellite data. Dostupné 19. února 2015, z http://www.temis.nl/uvradiation/SCIA/stations_uv.html.
- Zerella, M. J. a Stiffler, D. F. (1999). Active transport of calcium ions in the skin of the salamander *Ambystoma tigrinum*. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology* 169: 481–486.

8 Přílohy

vlnová délka	vliv ztenčení ozónové vrstvy	fyzikální a biologické vlastnosti	vliv na živočichy	vliv na rostliny
UV-C (200-280 nm)	žádný absorbováno v atmosféře, neproniká k biosféře	krátká vlnová délka, proto energeticky vysoce bohaté silně absorbováno nukleovými kyselinami	žádný umělé UV-C způsobuje vážné poškození očí a kůže	žádný umělé UV-C způsobuje vážné poškození exponovaných tkání
UV-B (280–315 nm)	silně ovlivněno tloušťkou ozónové vrstvy	energeticky nejvíce bohaté záření dosahující biosféry absorbované mnoha biologickými molekulami včetně nukleových kyselin	může vyvolat akutní a chronické poškození kůže a očí narušuje imunitní systém, možný faktor způsobující snížení mnoha populací obojživelníků, akutní expozice u člověka způsobí spáleniny, chronická expozice je příčinou rakoviny kůže	v přírodě zřídka vede k přímému zániku rostliny, ale vyvolává řadu morfologických, fyziologických a biochemických změn s mnohými ekologickými účinky
UV-A (315–400 nm)	žádný	méně energeticky bohaté než UV-B, ale s mnohem větší intenzitou v slunečním paprsku absorbováno mnoha proteiny včetně významných fotoreceptorů	stále více uznáváno jako důležitý faktor v rozvoji rakoviny kůže u člověka viditelná složka světla pro mnoho bezobratlých i obratlovců	vliv na morfologii a s ní spojené specifické funkce (např. otevírání průduchů a indukce formování pigmentace)

Tab. 1: Přehled rozdělení UV záření a jeho biologické účinky (Paul a Gwynn-Jones 2003).

Vápník	Fosfor
stavební složka (spolu s fosforem) kostí a zubů	stavební složka (spolu s vápníkem) kostí a zubů
důležitý pro kontrakci kosterní, hladké a srdeční svaloviny	aktivátor enzymů
udržuje membránový potenciál některých neuronů	pufr v krvi a jiných tělních tekutinách
unikátní úloha v potenciálu pacemakerových buněk	základní složka pro ukládání energie do chemických vazeb ATP, kreatin fosfát, atd.
druhý posel při hormonální a neurokrinní regulaci	základní složka nukleových kyselin
úloha v exocytóze sekrečních produktů z buněk	základní složka fosfolipidů v buněčných membránách
nezbytný kofaktor některých enzymů	součást chemické struktury sekundárních poslů
součást mezibuněčných matrix (např. bazální membrána)	nezbytný pro metabolismus glukózy a dalších sacharidů

Tab. 3: Přehled biologických funkcí vápníku a fosforu v organismu.

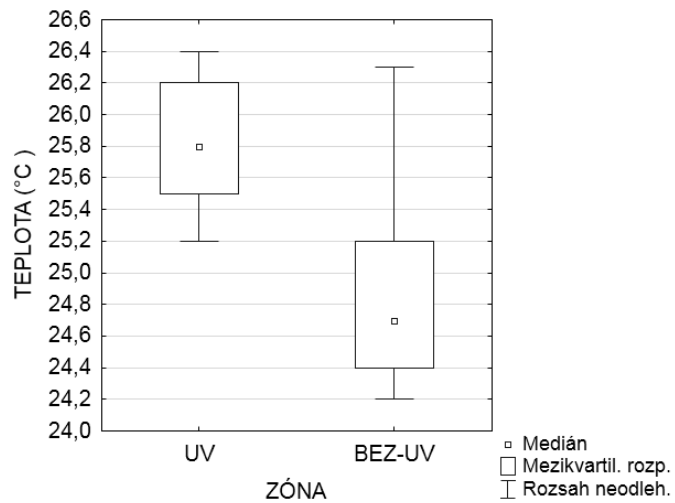
druh	specifická aktivita fotolyzačního enzymu 10 ¹¹ [CPD/h/μg]
žáby	
<i>Ascaphus truei</i>	< 0,1
<i>Bufo boreas</i>	1,3
<i>Hyla cadaverina</i>	3,5
<i>Hyla regilla</i>	7,5
<i>Hyla squirella</i>	5,0
<i>Rana aurora</i>	6,1
<i>Rana cascadae</i>	2,4
<i>Rana luteiventris</i>	6,8
<i>Rana pretiosa</i>	6,6
ocasatí	
<i>Ambystoma gracile</i>	1,0
<i>Ambystoma macrodactylum</i>	0,8
<i>Aneides ferreus</i>	0,4
<i>Batrachoseps wrighti</i>	0,7
<i>Plethodon dunni</i>	< 0,1
<i>Plethodon vehiculum</i>	0,5
<i>Rhyacotriton olympicus</i>	0,3
<i>Taricha granulosa</i>	0,2

Tab. 4: Přehled zjištěných aktivit fotolyzačního enzymu pro vajíčka vybraných druhů obojživelníků (Blaustein & Belden, 2003). [CPD/h/μg] – množství opravených cyklobutanových pyrimidinových dimerů za hodinu na mikrogram enzymu.

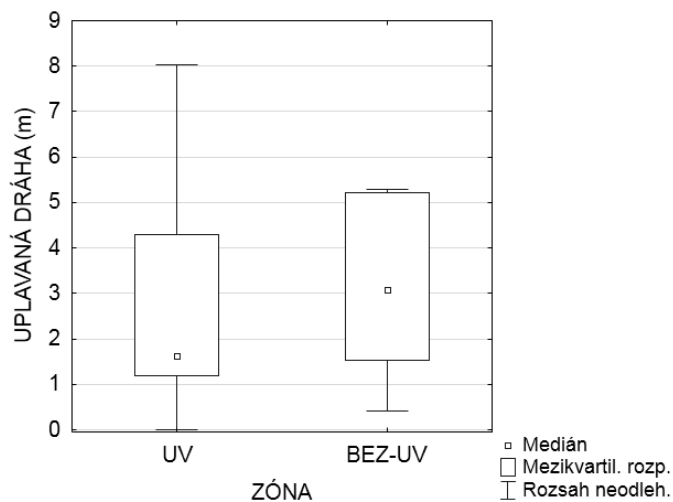


Vladimír Klapka

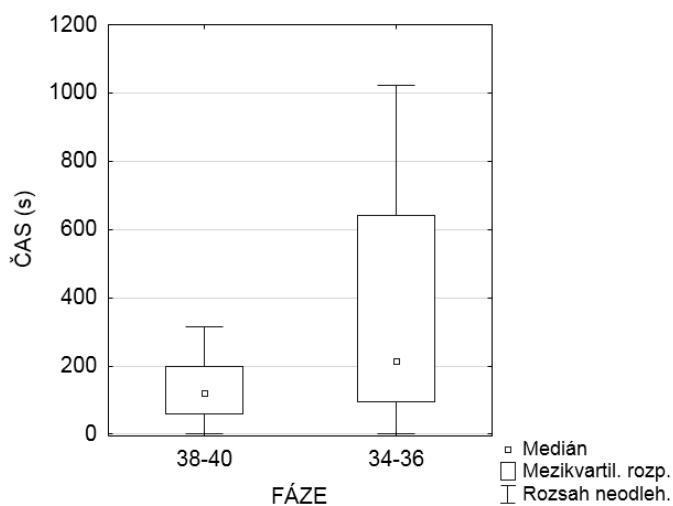
Foto 1: Uspořádání arén, kompaktních zářivek a kamery v klimatizovaném boxu.



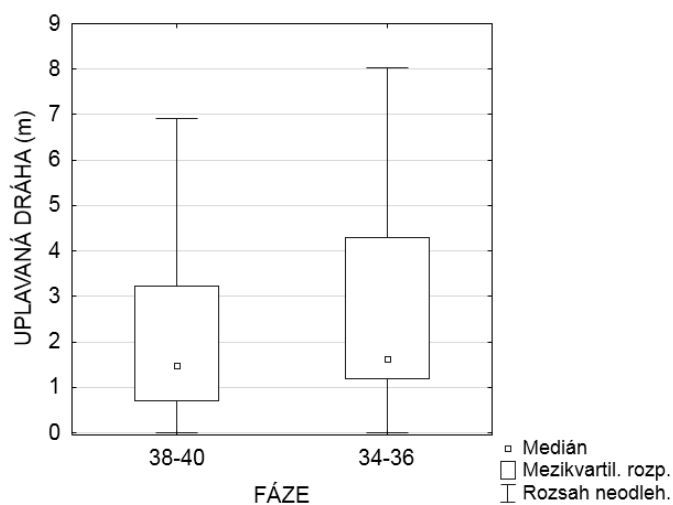
Obr. 2: Box & whisker plot zobrazující porovnání teplot vzduchu naměřených pod kompaktními zářivkami.



Obr. 6: Box & whisker plot zobrazující popisnou statistiku uplavané dráhy pulci ve vývojové fázi 34-36 v obou zónách.



Obr. 9: Box & whisker plot zobrazující porovnání popisných statistik času stráveného pulci odlišných vývojových fází v zóně s UV zářením.



Obr. 10: Box & whisker plot zobrazující porovnání popisných statistik dráhy uplavané pulci odlišných vývojových fází v zóně s UV zářením.

průměr ± střední chyba		
ČAS (s)	UV	BEZ-UV
38-40	153 ± 33	1047 ± 33
34-36	353 ± 99	847 ± 99
DRÁHA (m)		
38-40	2,305 ± 0,394	5,696 ± 0,490
34-36	3,391 ± 1,154	3,976 ± 1,141
PRŮMĚRNÁ RYCHLOST (m·s ⁻¹)		
38-40	$1,87 \cdot 10^{-2} \pm 3,9 \cdot 10^{-3}$	$5,74 \cdot 10^{-3} \pm 5,2 \cdot 10^{-4}$
34-36	$1,00 \cdot 10^{-2} \pm 2,1 \cdot 10^{-3}$	$5,5 \cdot 10^{-3} \pm 1,7 \cdot 10^{-3}$

Tab. 5: Přehled průměrů a středních chyb průměru měřených parametrů.

	UV	BEZ-UV
38-40 (Wilcoxonův párový test)		
ČAS		< 0,001
DRÁHA		< 0,001
PRŮMĚRNÁ RYCHLOST	< 0,001	
34-36 (Wilcoxonův párový test)		
ČAS		0,034
DRÁHA		0,346
PRŮMĚRNÁ RYCHLOST	0,010	
	38-40	34-36
38-40 × 34-36 (Mann-Whitneyův test)		
ČAS (UV)		0,079
ČAS (BEZ-UV)		0,079
DRÁHA (UV)		0,522
DRÁHA (BEZ-UV)	0,025	
PRŮMĚRNÁ RYCHLOST (UV)	0,039	
PRŮMĚRNÁ RYCHLOST (BEZ-UV)	0,226	

Tab. 6: Přehled dosažených hladin významnosti jednotlivých statistických testů. Signifikantní hodnoty jsou vyznačeny tučně. Umístění dosažených hladin významnosti ve sloupcích tabulky (UV × BEZ-UV; 38-40 × 34-36) je zvoleno podle vyšší průměrné hodnoty parametru.