

*Kroužek elektronové mikroskopie na Biskupském gymnáziu Brno*

# *Co nám prozradí srst mamuta?*

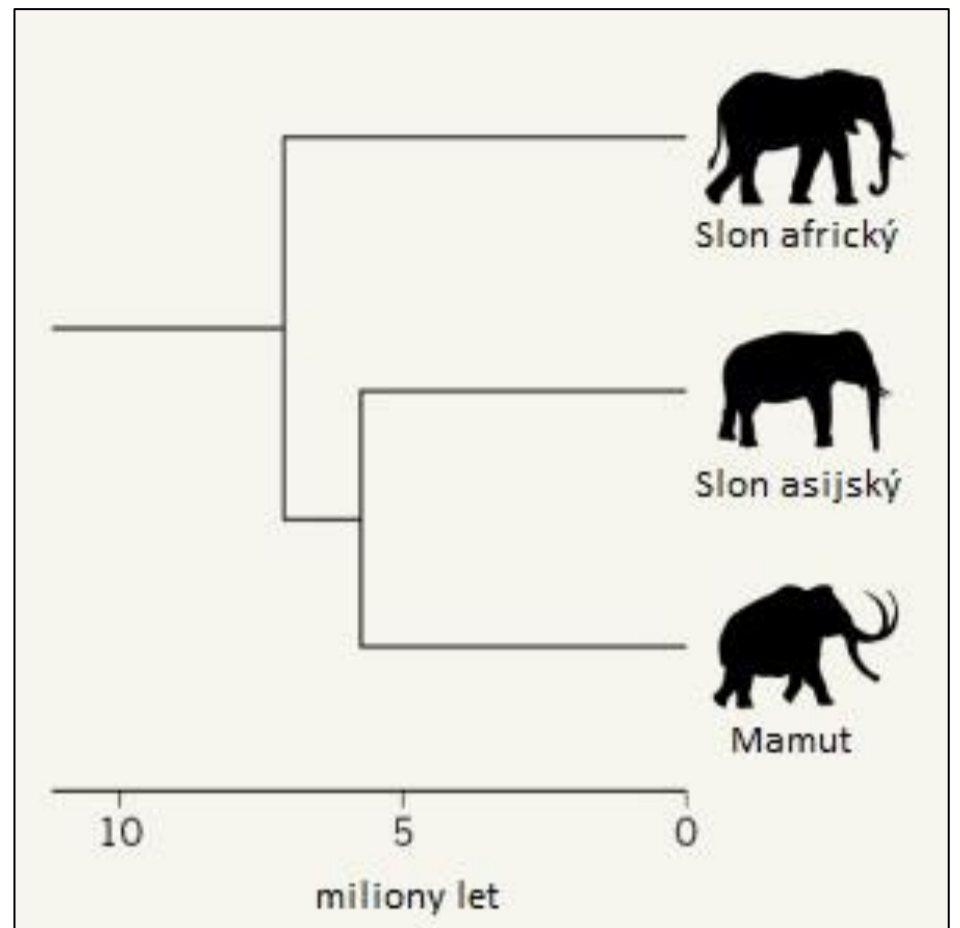
*(Snímky byly pořízeny elektronovým mikroskopem Phenom zapůjčeným firmou ThermoFisher)*



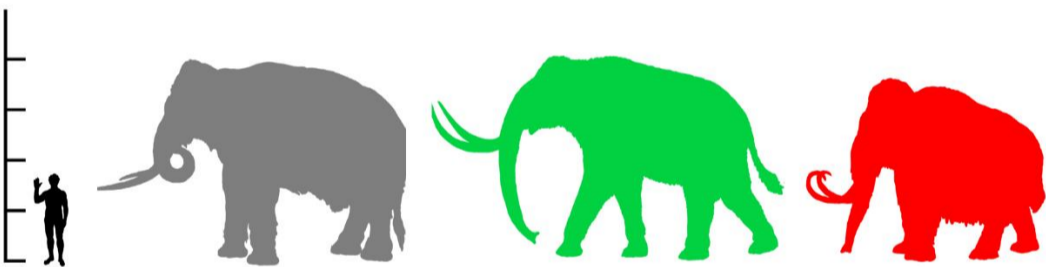
## Mamuti

Mamuti jsou vyhynulý rod čeledi slonovitých. Mamutí linie se rozvětvila od asijského slona asi před 5 miliony let. Asijské sloni jsou tedy mamutům nejbližší příbuzní. ▶

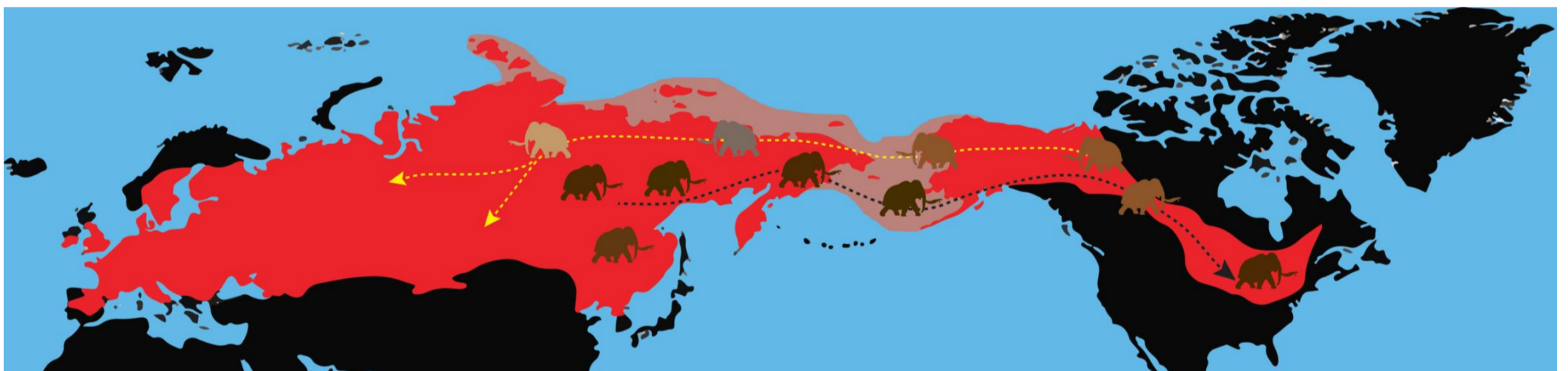
Nejstarší fosilie pocházejí z mamuta jižního (*Mammuthus meridionalis*), ze kterého se později vyvinul mamut stepní (*Mammuthus trogontherii*), největším mamut, který kdy žil. Poté se ve východní Sibiři vyvinul mamut srstnatý (*Mammuthus primigenius*). ▼



- *Mammuthus meridionalis* Mamut jižní
- *Mammuthus trogontherii* Mamut stepní
- *Mammuthus primigenius* Mamut srstnatý



Mamut srstnatý vznikl asi před 800 tisíci lety ve východní Asii. Do Evropy se dostal migrací. Během poslední doby ledové byl velmi široce rozšířen a pohyboval se po většině Evropy, přes severní Asii až do Severní Ameriky. ▼



Mamuti srstnatí nebyli větší než dnešní samci slona afrického a vážili maximálně asi 8000 kg. Samec i samička měli dlouhé zahnuté kly a až 90 cm dlouhé chlupy. Mamuti byli býložravci. Žili v travnatých stepích a tundrách. Pohybovali se ve stádech podobně jako dnešní africké sloni. Podle sezóny migrovali na zimní a letní pastviště. ▶



## Mamutí „mumie“



Anatomii mamuta srstnatého známe dobře zejména díky velkému počtu zmrzlých mršin, které se dochovaly v permafrostu na Sibiři a Aljašce. Nálezy těchto mršin byly popsány už v 17. století. Nejstarší dobře zdokumentovaný nález je od sibiřské řeky Berjozovky z roku 1901. Zachovala se částečně kůže se srstí a většina vnitřních orgánů (ty se ale později rozpadly). Byl to samec ve věku 35 až 40 let, který zemřel před 35 000 lety. Zvíře mělo mezi zuby a na jazyku stále trávu, což by ukazovalo, že zemřelo náhle.

Nejznámějším zmrazeným mamutem z Aljašky je mládě přezdívané „Effie“, které bylo nalezeno v roce 1948. Skládá se z hlavy, kousku trupu a přední nohy a je staré asi 25 000 let. ▶

V roce 1977 byla objevena dobře zachovaná mršina sedmi až osmiměsíčního mamutího mláděte s názvem „Dima“. Tato mršina byla nalezena poblíž přítoku řeky Kolyma na severovýchodě Sibiře. Exemplář vážil asi 100 kg a byl 104 cm vysoký a 115 cm dlouhý. Radiokarbonové datování určilo, že „Dima“ zemřel asi před 40 000 lety. Jeho vnitřní orgány jsou podobné orgánům moderních slonů, ale jeho uši jsou pouze desetinové velikosti jak u slona afrického podobného věku. ▼



▲  
Méně kompletní mládě, přezdívané „Máša“, bylo nalezeno na poloostrově Jamal v roce 1988. Bylo mu 3–4 měsíce a tržná rána na pravé noze mohla být příčinou smrti. Je to na Sibiři nejzápadněji nalezený zmrzlý mamut. Stáří mumie je asi 42 000 let.

V roce 2002 byla poblíž řeky Maksunuocha v severním Jakutsku objevena zachovaná část mršiny. Tento exemplář dospělého samce se nazývá „jukagirský mamut“ a odhaduje se, že žil asi před 18 560 lety a byl vysoký 283 cm a vážil mezi 4 a 5 tunami. Zachovala se hlava, přední nohy, žaludek a část zažívacího traktu. Hlavní potravou byly trávy a ostřice se značným množstvím větviček zakrslé vrby, různými bylinami a mechy. ▶

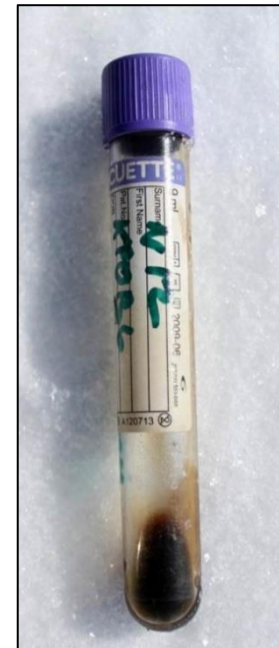


◀ V roce 2007 byla v blízkosti řeky Juribej objevena mršina mladé samice přezdívané „Ljuba“, jenž byla pohřbena 41 800 let. Zvíře zemřelo ve věku 1 měsíce. Vážilo 50 kg bylo 85 cm vysoké a 130 cm dlouhé. V době objevu byly jeho oči a trup neporušené a na těle zůstala nějaká srst. Jeho orgány a kůže jsou velmi dobře zachovány. Předpokládá se, že „Ljuba“ se udusila bahnem v řece, kterou její stádo přecházelo.

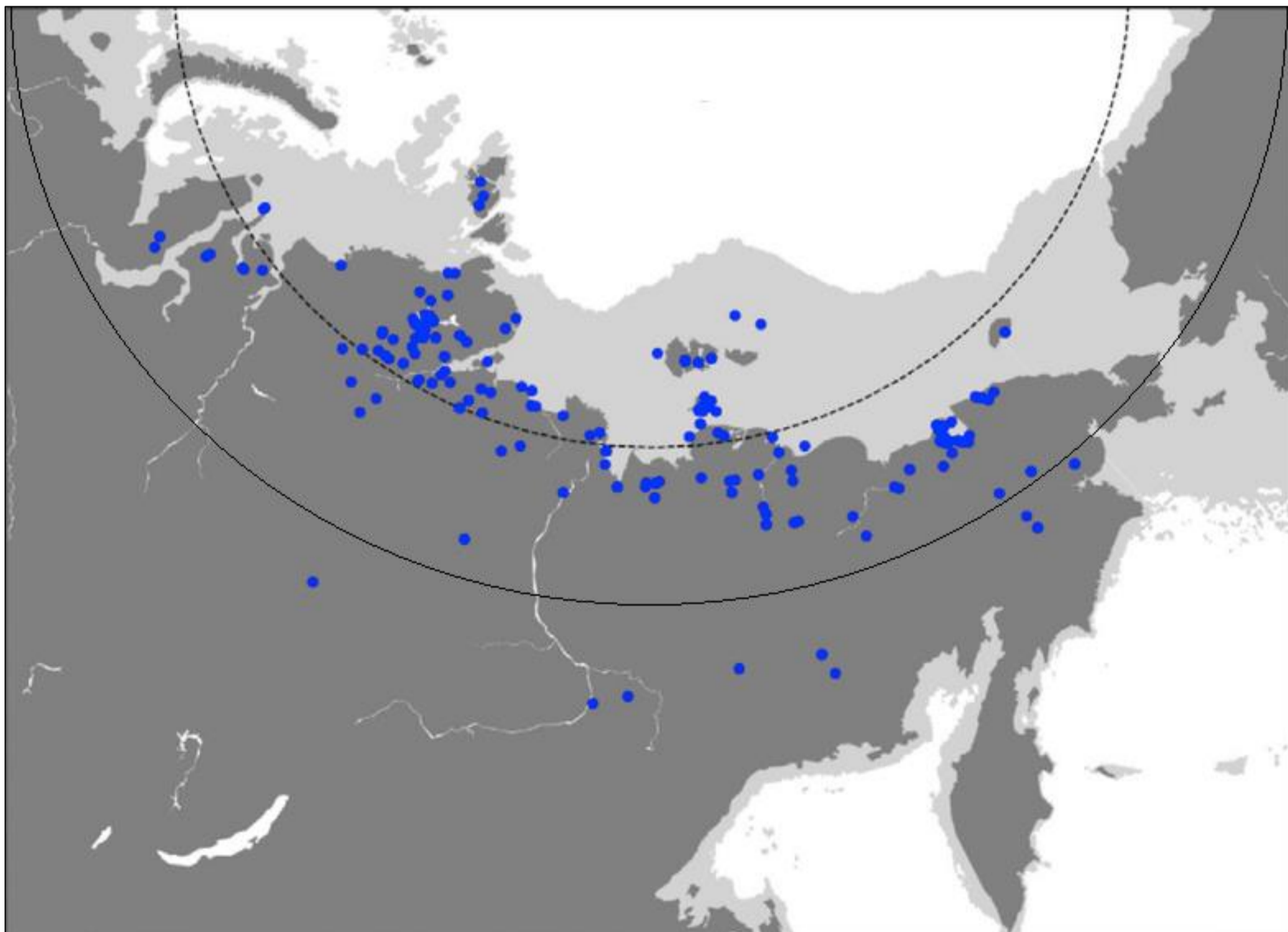


▲ V roce 2010 bylo na Sibíři nalezeno mládě. Vědci odhadli jeho věk v době smrti na 6 – 8 let a dali mu přezdívku „Juka“. Mělo umělé řezné stopy, jeho lebka a pánev byly odstraněny v dávné minulosti a byly nalezeny poblíž. Datování fragmentu Jukova žebra poskytlo radiokarbonové datum 34 300 př.n.l. Tato mamutí mumie byla nalezena v převislé římse asi 4 metry nad úrovní pláže (viz obrázek nahoře vlevo). Stopy řezů a vyjmutí lebky, žeber a páteře naznačují zásah lidské ruky v době úmrtí mamuta.

V roce 2013 byla na ostrově Malý Ljachovský, jednom z ostrovů v souostroví Nové Sibiře, nalezena dobře zchovalá mršina, samice ve věku 50 až 60 let. Mršina obsahovala dobře zchovalou svalovou tkáň. Když ji vytáhli z ledu, z břišní dutiny se vylila tekutá krev. Nálezci to interpretovali tak, že mamutí krev má nemrznoucí vlastnosti. ▼

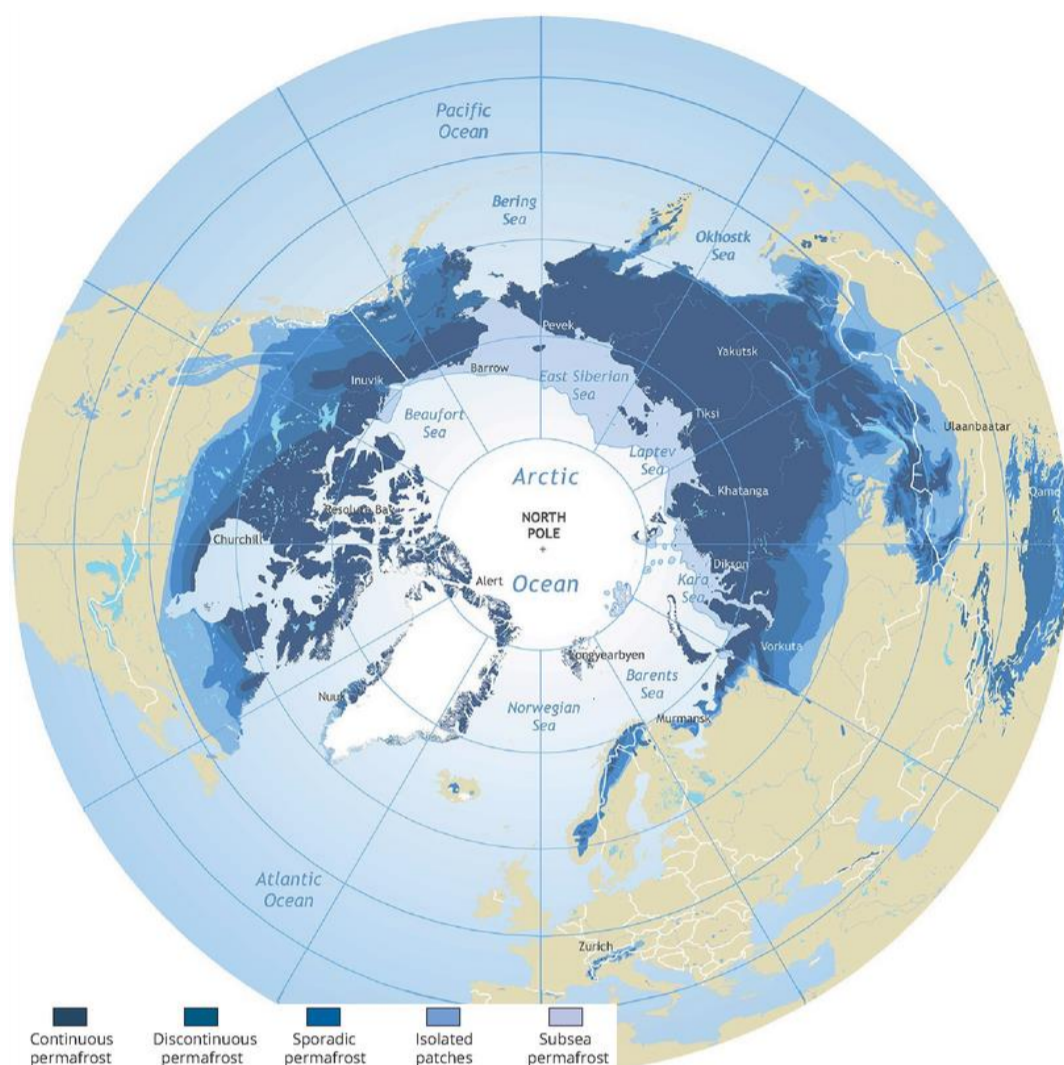


Nalezené pozůstatky mamutů na Sibiři. Současné břehy jsou znázorněny tmavě šedou barvou. Pobřeží, jaké bylo během pozdního pleistocénu a středního holocénu, je zobrazeno světle šedou barvou. 72. rovnoběžka na severu je znázorněna tečkovanou čarou, severní polární kruh plnou čarou. ▼



## Permafrost

Jak to, že těla mamutů se mohou uchovat po desítky tisíc let? Může za to permafrost. Permafrost je hornina nebo půda, jejíž teplota je po dobu dvou či více let nižší než 0°C. Voda v takové půdě je zmrzlá a tvoří spolu s částicemi písku, hlíny a kamení tvrdou krustu. Mocnost permafrostu dosahuje až několika stovek metrů. V oblastech tundry a tajgy svrchní část permafrostu přes léto pravidelně taje. Tato část permafrostu se nazývá aktivní vrstva a mohou na ní růst rostliny. Permafrost zabírá přibližně 11 % zemského povrchu.



Mršina zvířete musela být nějakým způsobem pohřbena. Mohl to být pád do trhliny, sesuv půdy, utonutí v bažině. Tím bylo zabráněno přístupu vzduchu, a tudíž rozkladu měkkých částí těla. Pod tím ležící permafrost dokončil proces konzervace zmrazením. Vlhkost těla krystalovala v okolní půdě a tělo se vysušilo podobně jako mumie. Proto se tento název pro nalezená těla užívá zcela oprávněně.

V dnešní době globálního oteplování dochází k tání permafrostu. To má katastrofální dopady na ekosystém nejen Sibíře. Vznikají obrovské krátery (viz levý spodní obrázek), dochází k sesuvům půdy, propadají se domy i silnice. Kromě toho dochází k uvolňování velkého množství metanu (skleníkového plynu) do atmosféry. Z tajícího permafrostu se také dostávají na povrch mršiny, které v něm byly zamrzlé desítky tisíc let (vpravo).



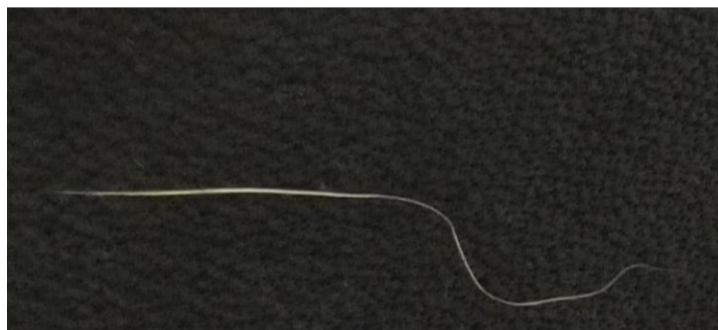
## Srst

Srst je pro savce charakteristická. Setkáváme se s ní u všech savců a u žádného jiného zvířete. Dokonce i „bezsrstí“ savci jako jsou prasata, sloni, hroši, nosorožci, velryby, delfíni a jiní kytovci jsou zčásti pokryti velmi jemnou krátkou srstí, zejména v mládí. Vědci nebyli s to určit, kdy se srst vyvinula. Víme pouze to, že existovala již velmi záhy ve fosilních nálezích jako plně vyvinutá a zcela „moderní“. Srst savců se skládá ze tří vrstev: Spodní tvoří jemné, velice husté a zvlněné chlupy **vlínky**, které vyrůstají z pokožky téměř kolmo a vytvářejí tzv. **podsadu**. Zadržují mezi sebou velké množství vzduchu, který je nejlepší tepelnou izolací. Podsada je však příliš jemná, snadno se poškodí, nasákne vodou, snadno jí proniká vítr. Před těmito vlivy ji chrání tzv. **krycí srst**, kterou tvoří delší chlupy dvou typů: **osínky**, jež podsadu zpevňují a jsou jakýmsi přechodem mezi podsadou a pesíky. **Pesíky** vyrůstají mírně šikmo a tvoří jakýsi plášť. Neprofonkne je vítr, snadno po nich stéká voda a nepromáčí je, chrání podsadu před otěrem a poškozením. Snižují i riziko poranění - ať způsobené drápy a zuby nepřátel, či ostrými předměty. Ukázka chlupů je ze srsti králíka.

pesík



osíník

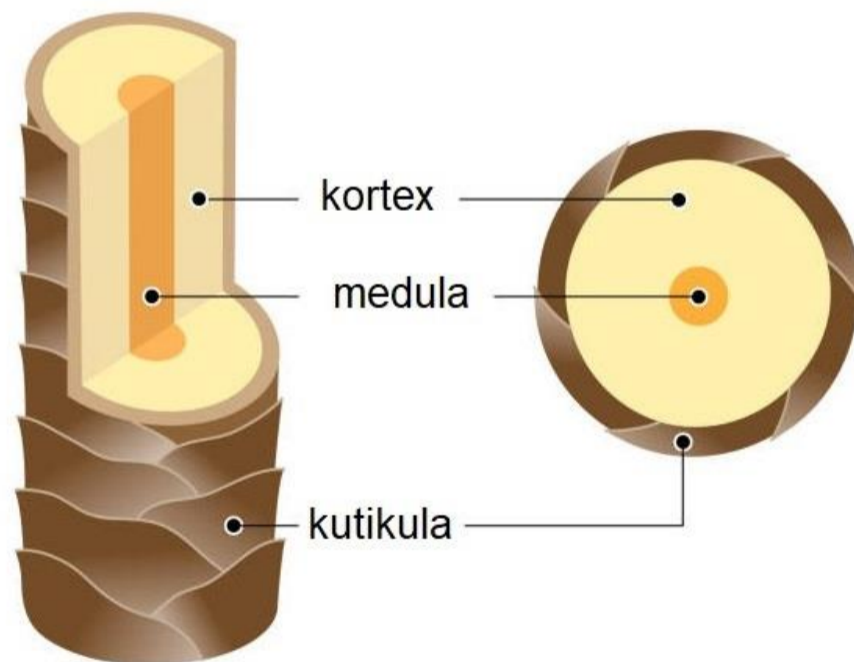


vlíník



Vlastní chlup je tvořen neživými buňkami, pro které je typický vysoký obsah **rohoviny (keratinu)**. Volná část chlupu nad pokožkou se označuje jako **stvol**. Část, která se nachází pod její úrovní jako **kořen**.

Stvol se skládá ze tří vrstev: kutikuly, kortexu a meduly. **Kutikula** je svrchní vrstva chlupu složená z tenkých bezbarvých šupinek. Chrání vlastní chlup před poškozením. U chlupu se tvar šupin mění podél stvolu. **Kortex** je hustá vrstva tvořená keratinovými vlákny. Obsahuje pigmentové buňky zbarvující srst různými odstíny. **Medula** je tvořena buňkami nepravidelného tvaru, které spolu se vzduchovými mezerami tvoří centrální část chlupu. Může být souvislá nebo fragmentovaná, nebo může zcela chybět.



K pozorování chlupů jsme použili dva mikroskopy:

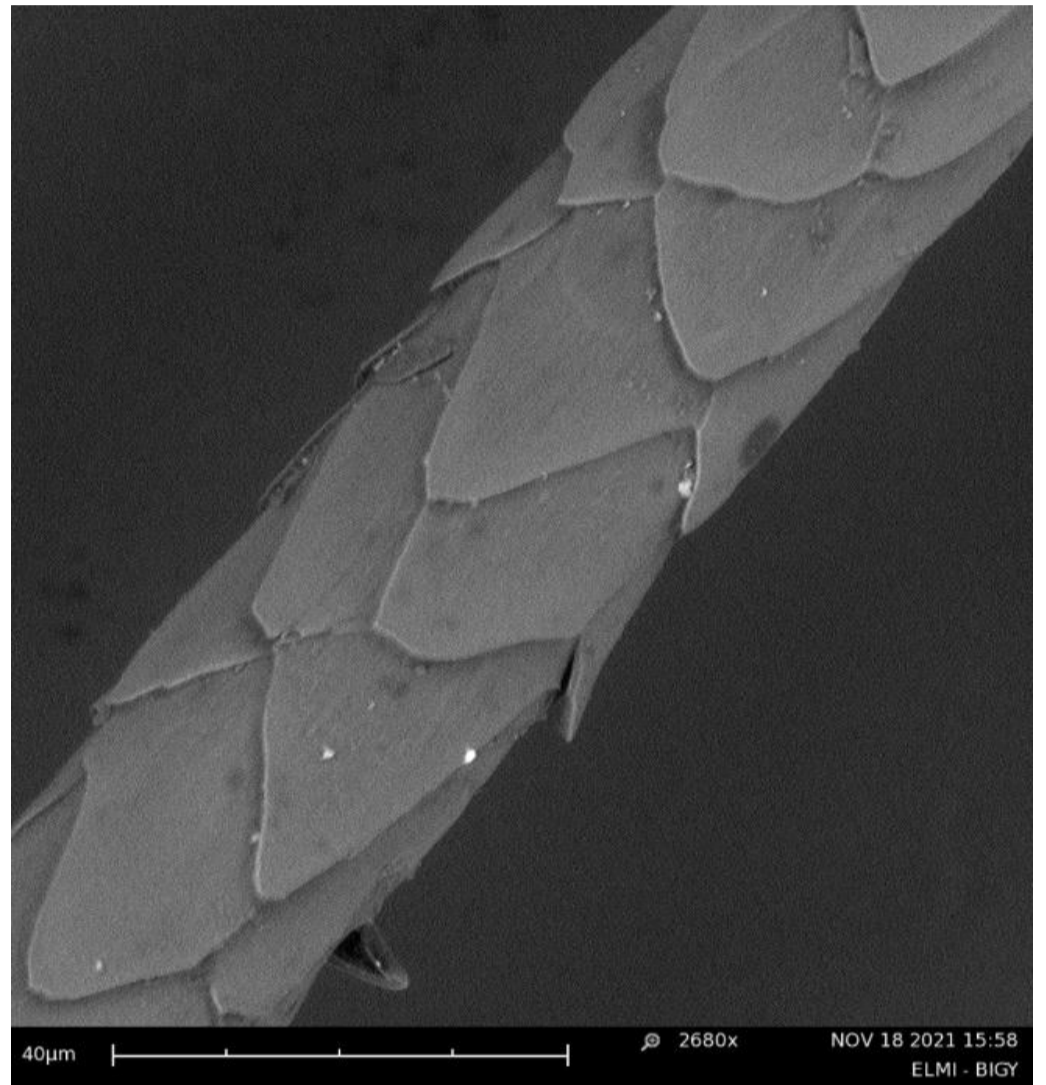
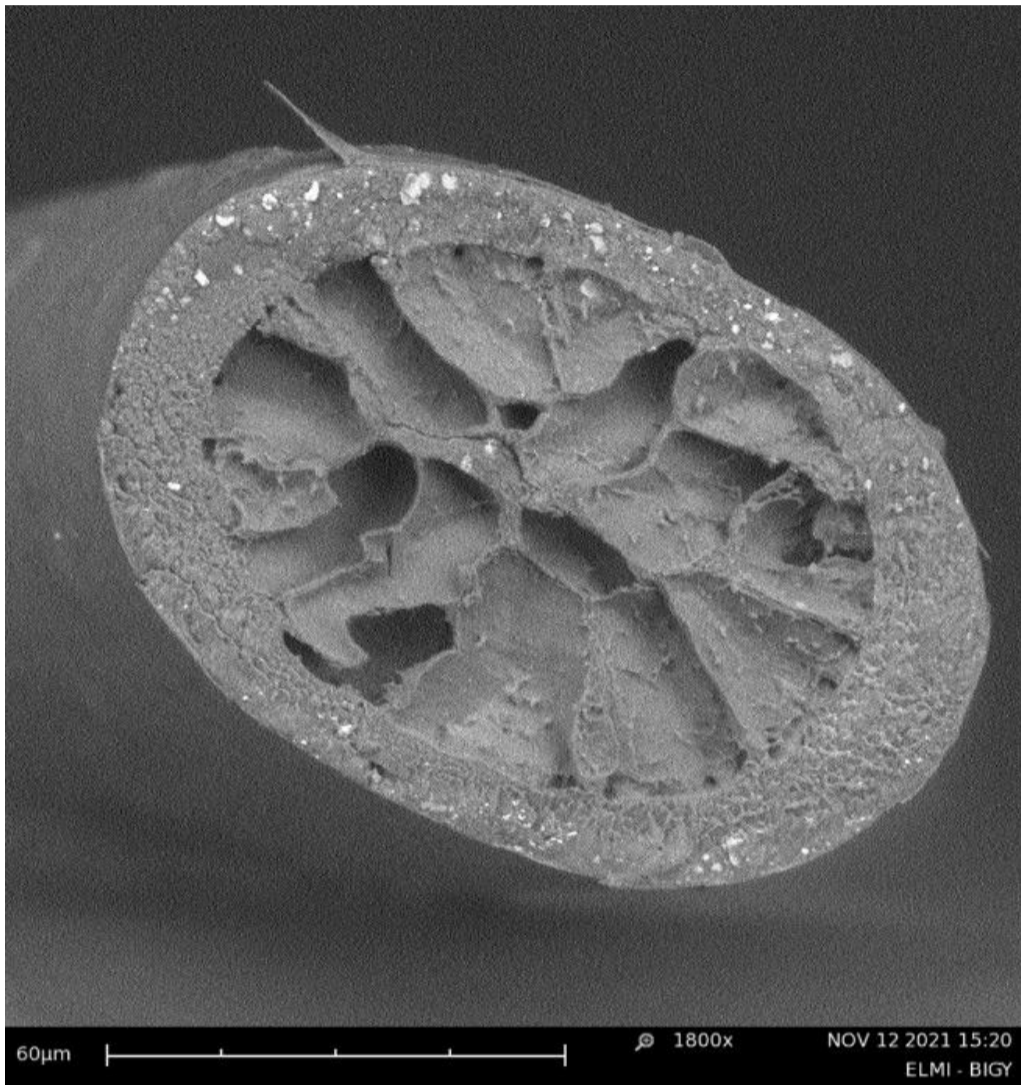
◀ **stolní elektronový Phenom**

a

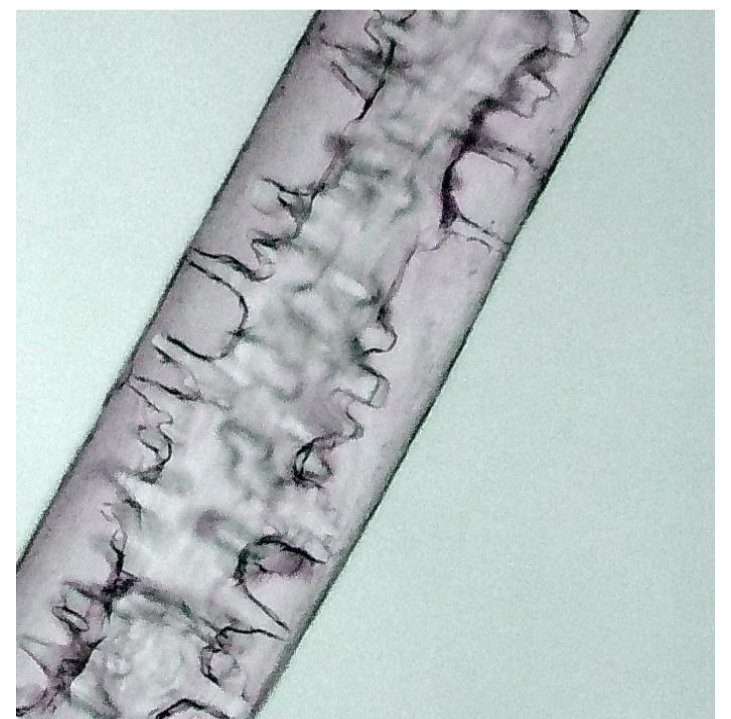
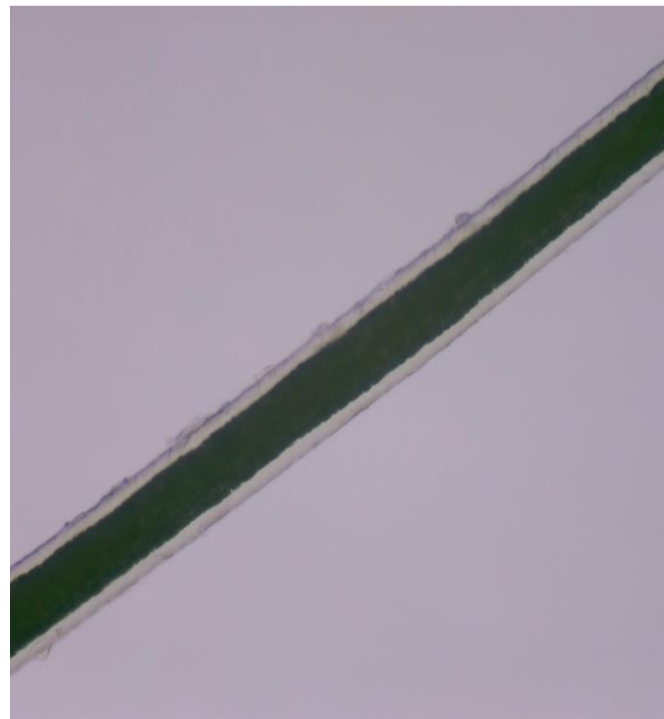
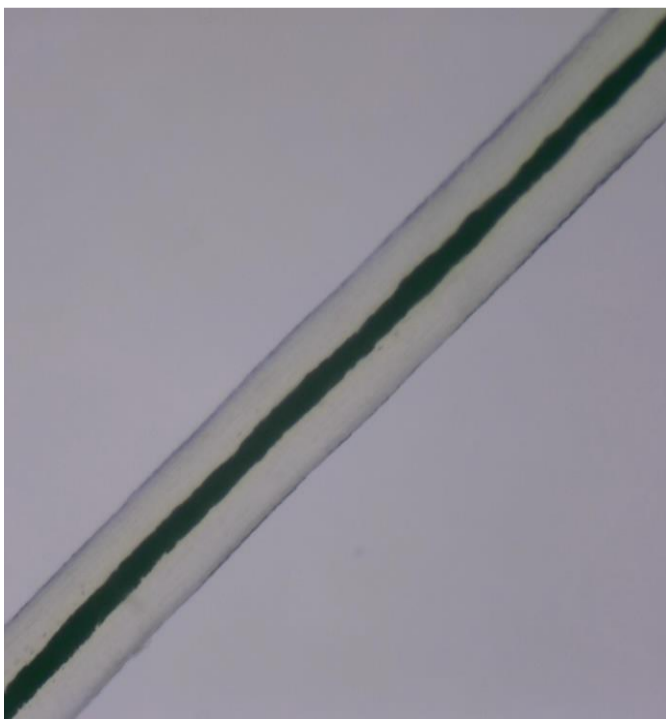
**optický Levenhuk 400T** ▶  
s digitální kamerou M300 Base.



V elektronovém mikroskopu můžeme velmi dobře zobrazit detaily povrchu chlupu, tedy šupiny kutikuly (obrázek vpravo). Zatímco medula je skrytá pod povrchem. Lze ji zobrazit jen na příčném řezu chlupu (obrázek vlevo). Snímky kutikuly a meduly z pesíků mohou poskytnout bližší informace k určení živočišného druhu. Chlupy podsady k tomu nejsou vhodné. Oba uvedené snímky byly provedeny na chlupích psiho plemene šiperka.



V optickém mikroskopu není jednoduché zobrazit šupiny kutikuly. Zato když se ponoří chlup do parafínového oleje (který má index lomu blízký indexu lomu chlupu), zviditelní se docela dobře medula. Je to proto, že všechny dutiny obsahující vzduch se jeví v proslém světle tmavé. Na prvním snímku je lidský vlas, na druhém chlup kozy a na třetím můžete vidět chlup ledního medvěda, který má medulu doslova vyžranou houbami, které se živí keratinem. Zde medula není tmavá, protože olej mohl vniknout do vnitřních prostorů chlupu. Takového zobrazení nelze docílit v elektronovém mikroskopu, který zobrazí pouze povrch chlupu. To je také důvod, proč jsme snímky z elektronového mikroskopu doplnili snímky z mikroskopu optického.





## 20. listopadu 2021 nastal velký den, kdy se nám podařilo získat chlupy z mamuta.

Je to sice jen pouhých 70 mg, ale pro naše pátrání to stačí. Vytvořili jsme již několik preparátů. Snažíme se mamutí chlupy snímkovat nejenom v elektronovém mikroskopu, ale používáme i mikroskop optický. Vzorek obsahuje kromě chlupů i zbytky rostlinného původu. Na základě snímků uveřejněných v zahraničních odborných časopisech si myslíme, že se nám dokonce podařilo identifikovat, o jaké rostliny se může jednat.



## Srst mamuta

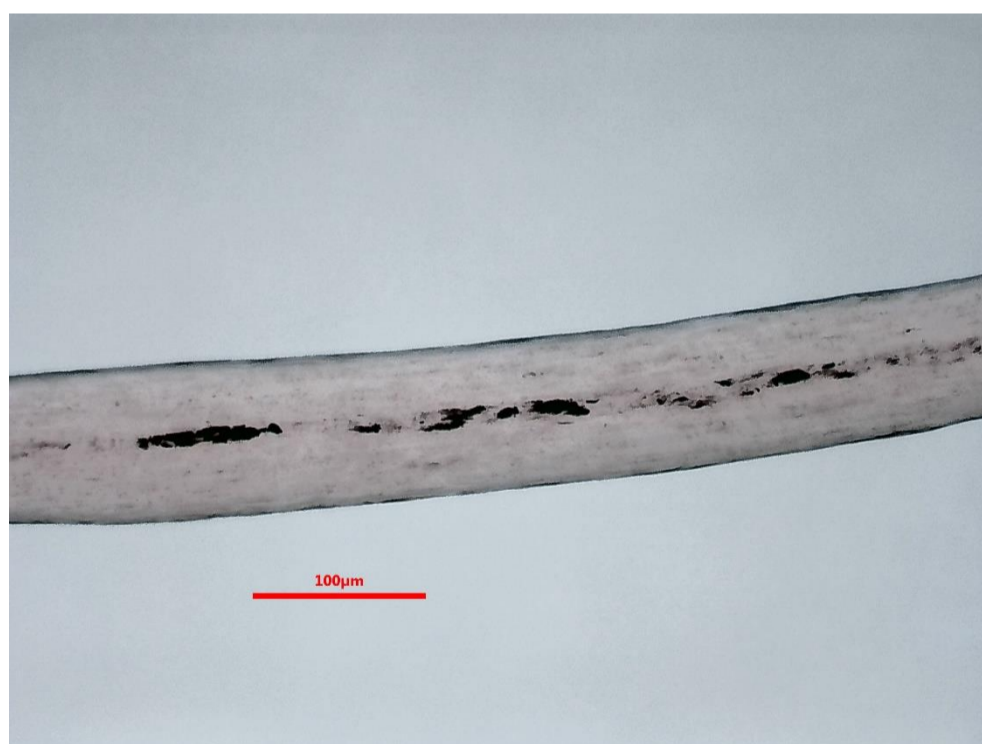
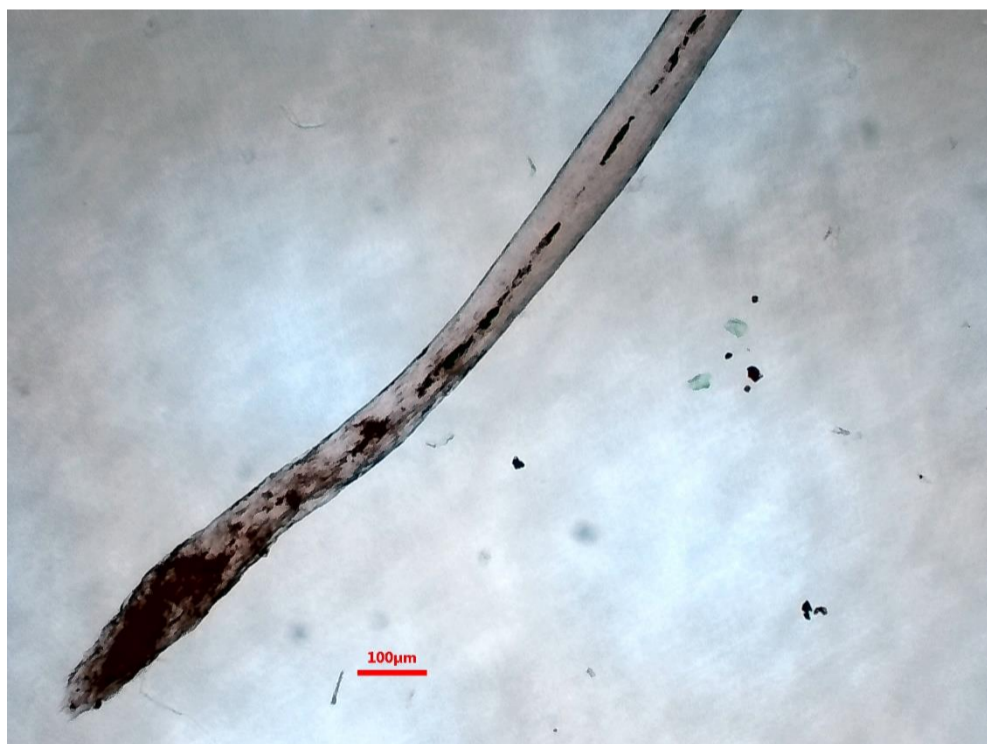
Srst mamuta srstnatého *Mammuthus primigenius* (Blumenbach, 1799), byla studována po mnoho let. Soudě podle starověkých skalních maleb, figurek a dochovaných fragmentů srsti, jakož i z údajů četných paleontologických výzkumů, byly mamutí chlupy dlouhé (až 1 m nebo dokonce delší), husté, vícevrstvé a s rozdíly po těle. ▶



Délka či průměr mamutích chlupů závisí na místě na těle mamuta, odkud pochází. Nejdelší chlupy pocházejí z ocasu, nejkratší ze hřbetu a třísel. Podle odborné literatury lze napsat:

Typ chlupu	Průměr chlupu ( $\mu\text{m}$ )	Délka chlupu (cm)
Pesíky (overhair, guard hair)	150 - 300	10 - 100
Osiníky (guard hair, intermediate hair)	50 - 150	5 - 10
Vlníky (underhair)	do 50	do 5

Zatím jsme zpracovali pouze tři z delších chlupů, které byly skutečně celé. Začínaly kořínkem a končili špičkou. Jejich délka byla přibližně 5 až 8 cm. To by nasvědčovalo tomu, že máme k dispozici spíše jemnější chlupy (osiníky). Zde jsou snímky jednoho z nich:

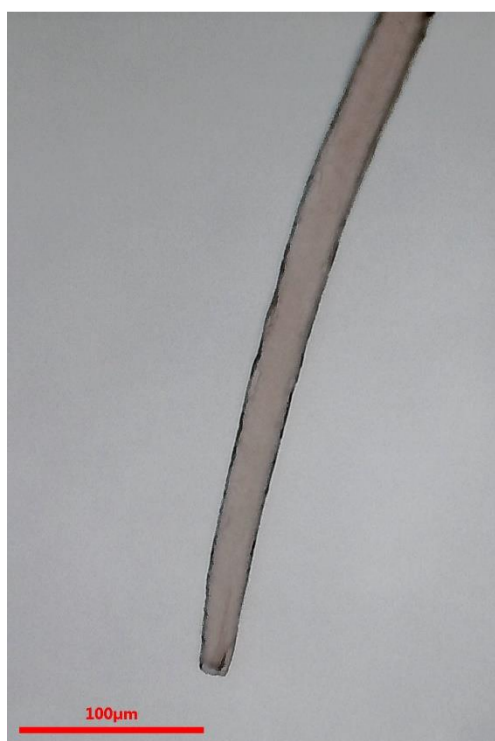


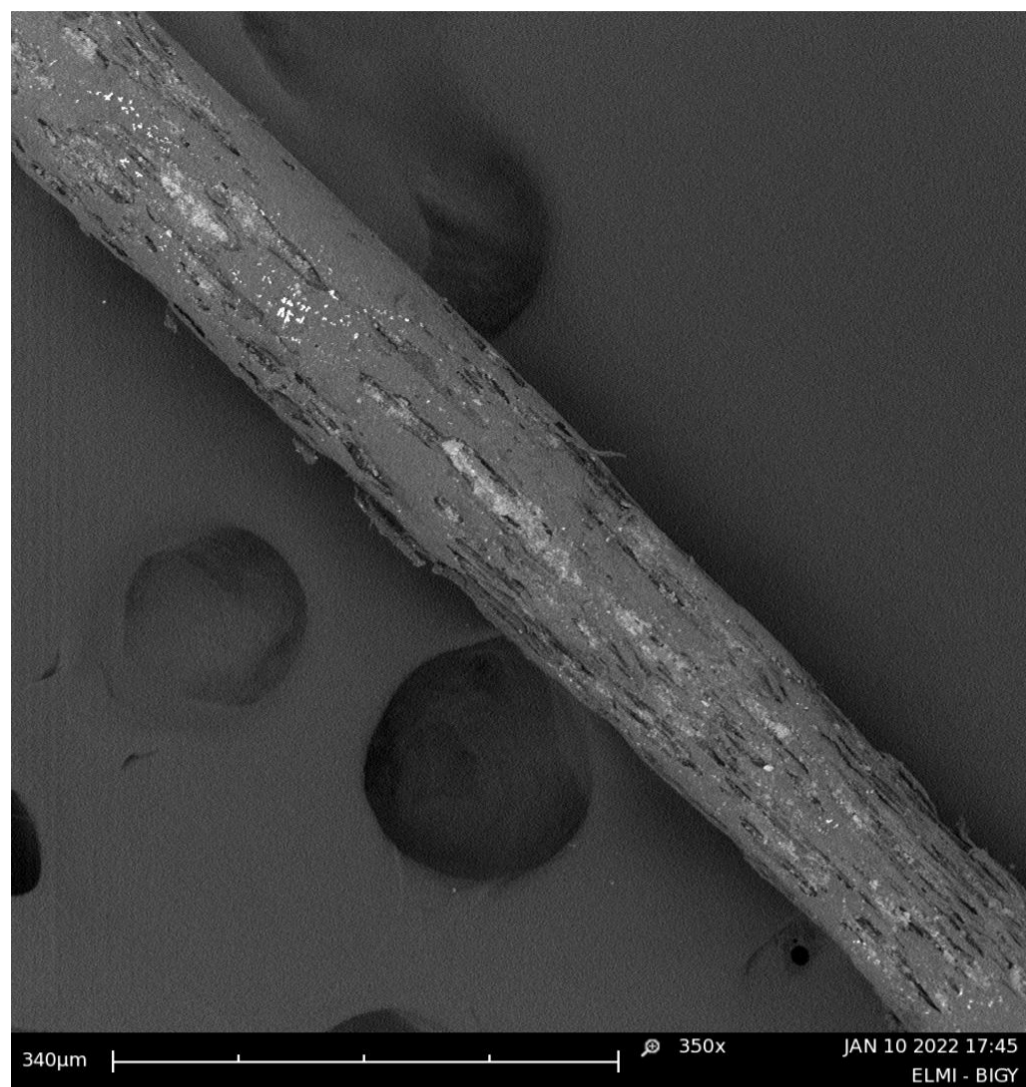
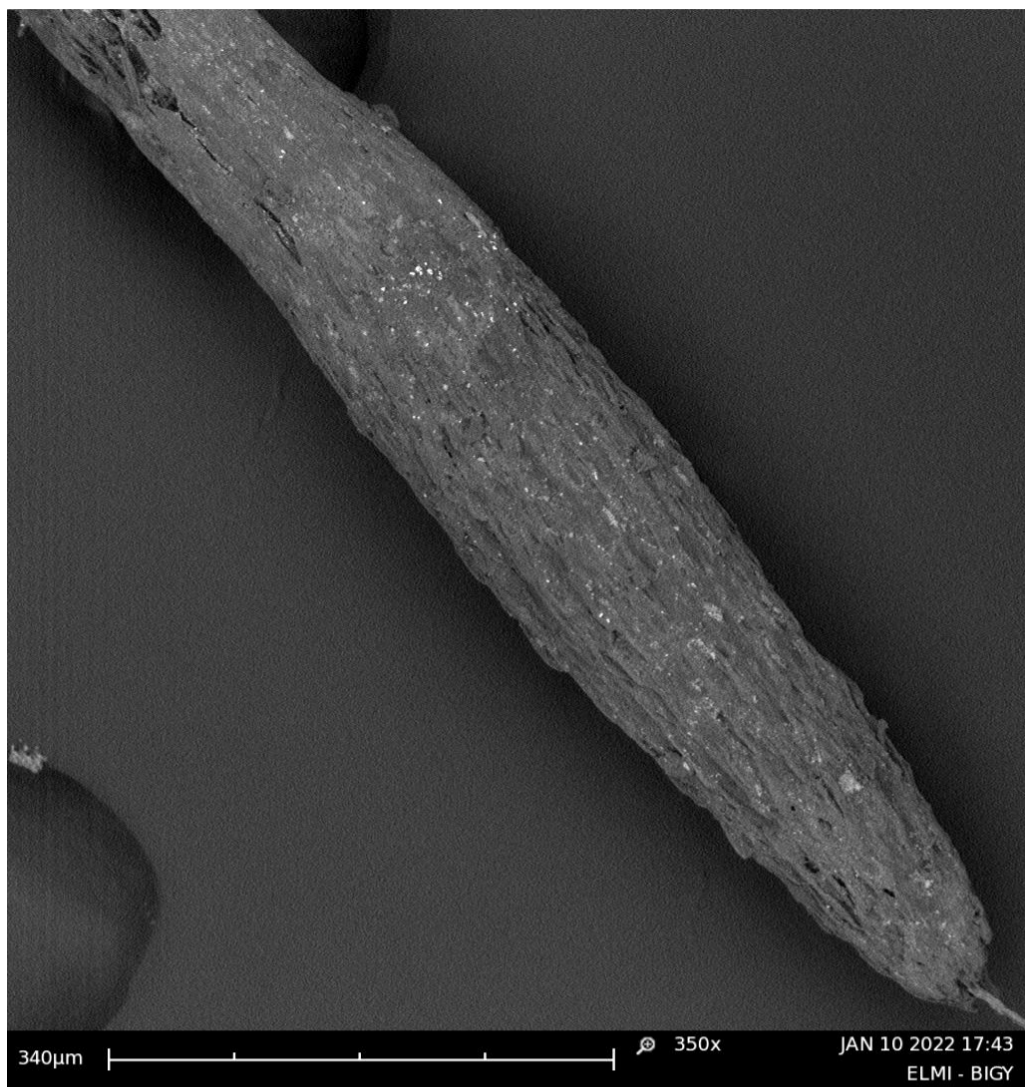
Kořínek chlupu ▲

Medula ? ▲

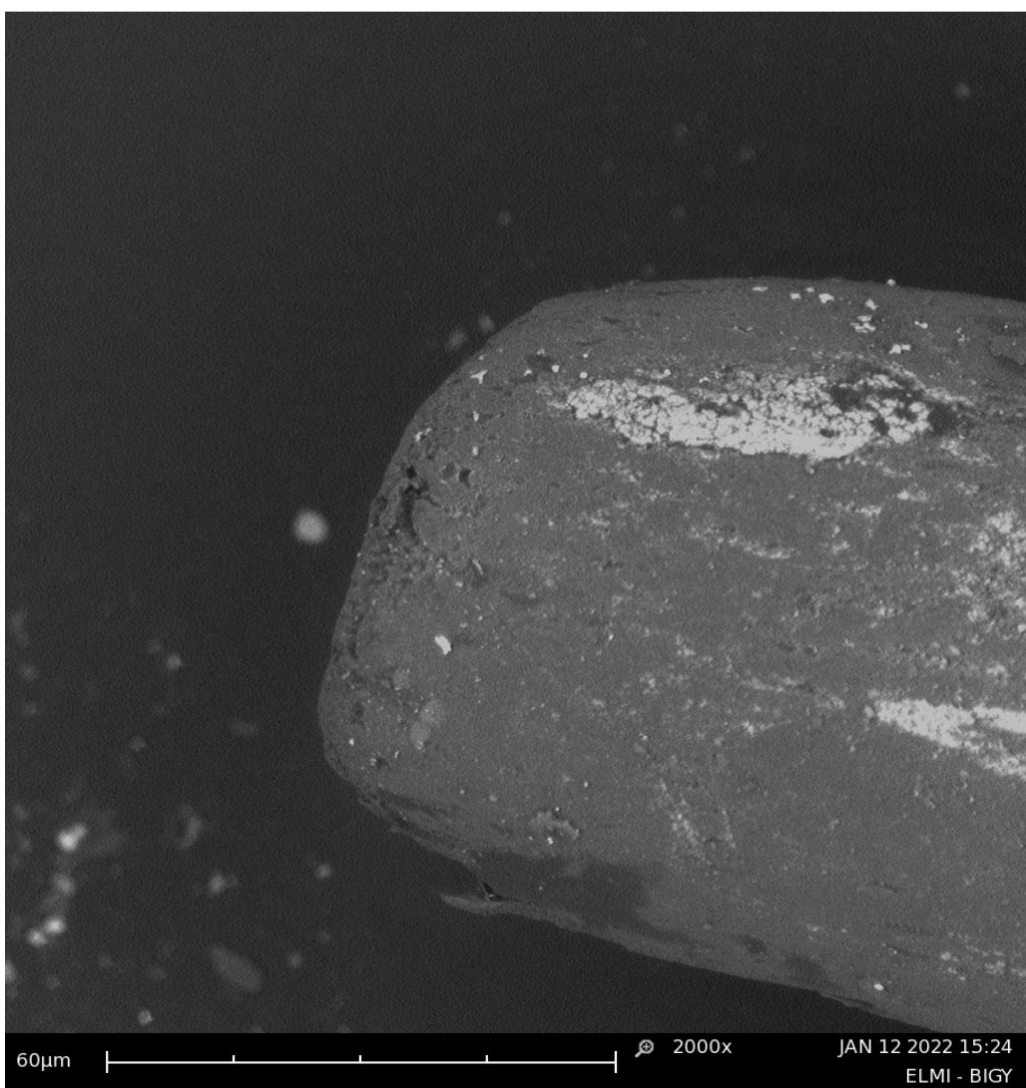
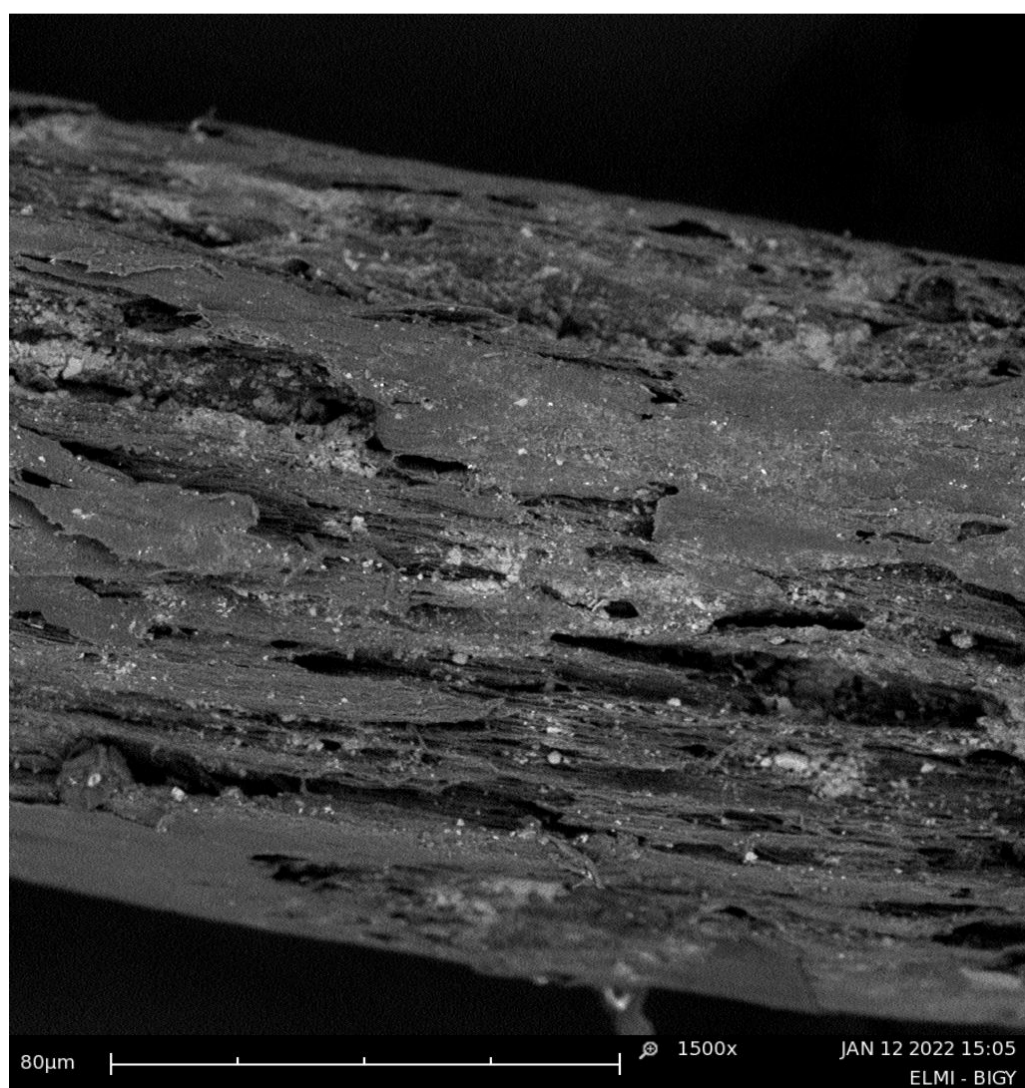
◀ Špička chlupu

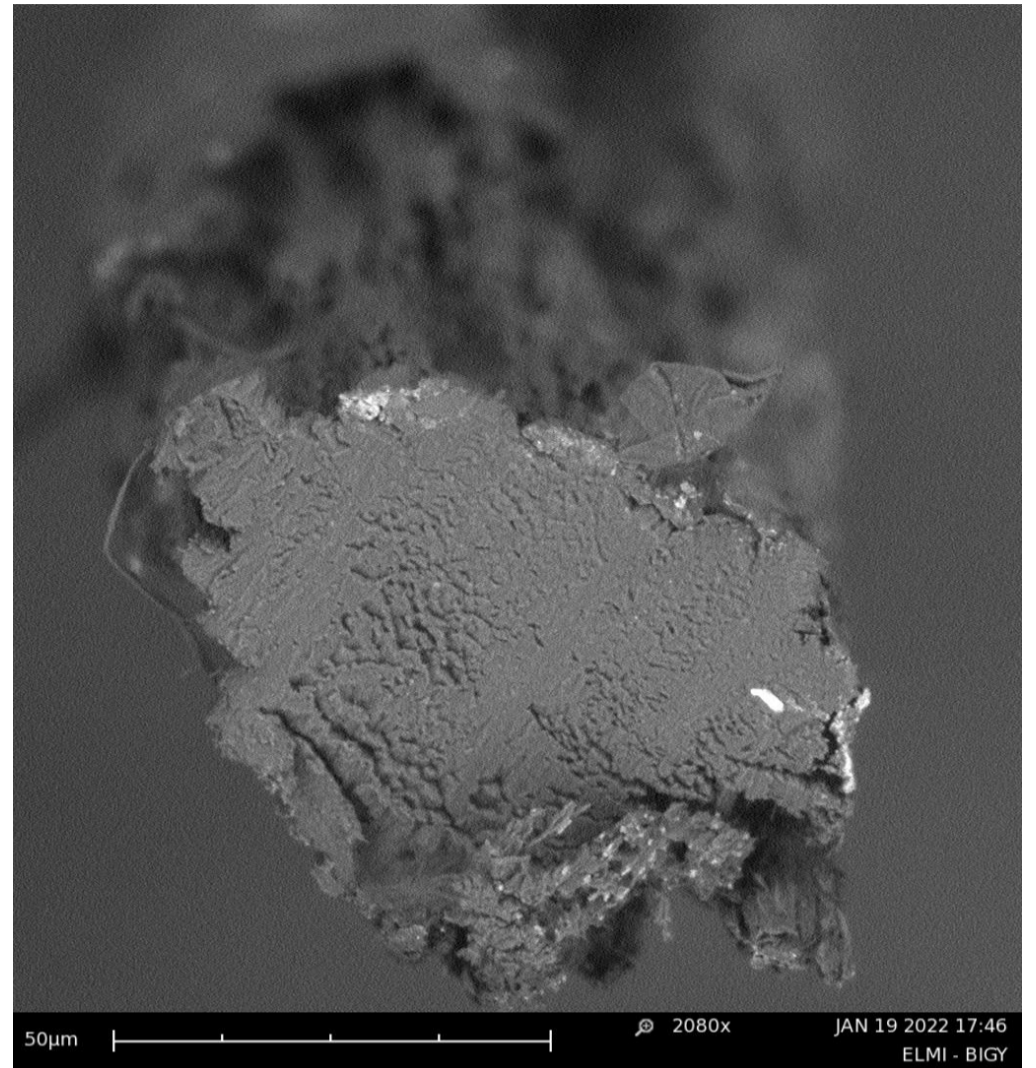
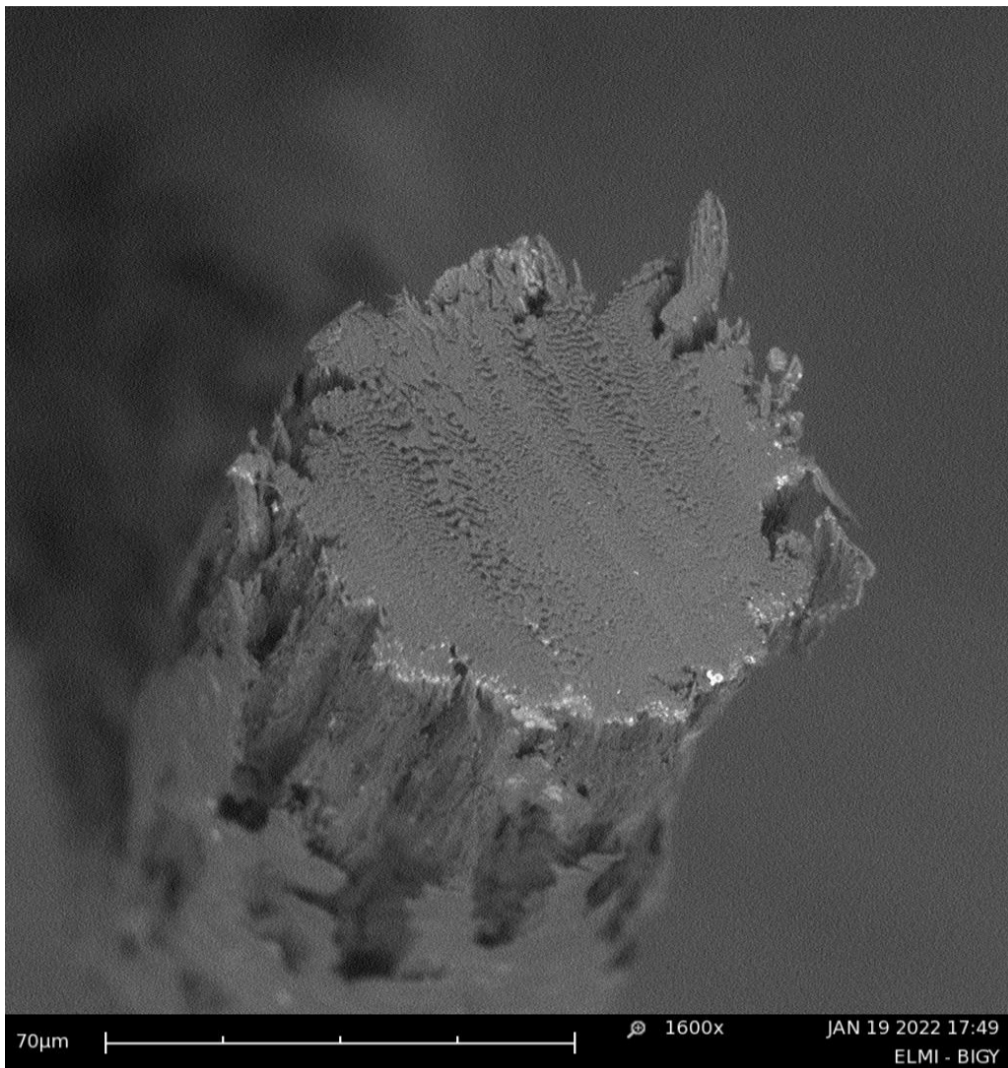
Na snímcích vidíme, že průměr chlupu je pod  $100 \mu\text{m}$ , v blízkosti špičky to může být tak  $25 \mu\text{m}$ . To může odpovídat nejjemnějším chlupům (podsadě). Tento druh chlupů by ale neměl mít medulu (dřeň). Na našich snímcích z optického mikroskopu však medula v blízkosti kořínku je zcela zřetelná (tmavá místa v ose stvolu). Není sice souvislá, ale je. To zatím nedovedeme vysvětlit, protože na řezech ze stejných míst tohoto chlupu jsme v elektronovém mikroskopu medulu nenalezli. Řezy byly dělány v blízkosti kořínku a ve větším počtu, abychom zvýšili šanci na to, že se řezem trefíme do místa s medulou.



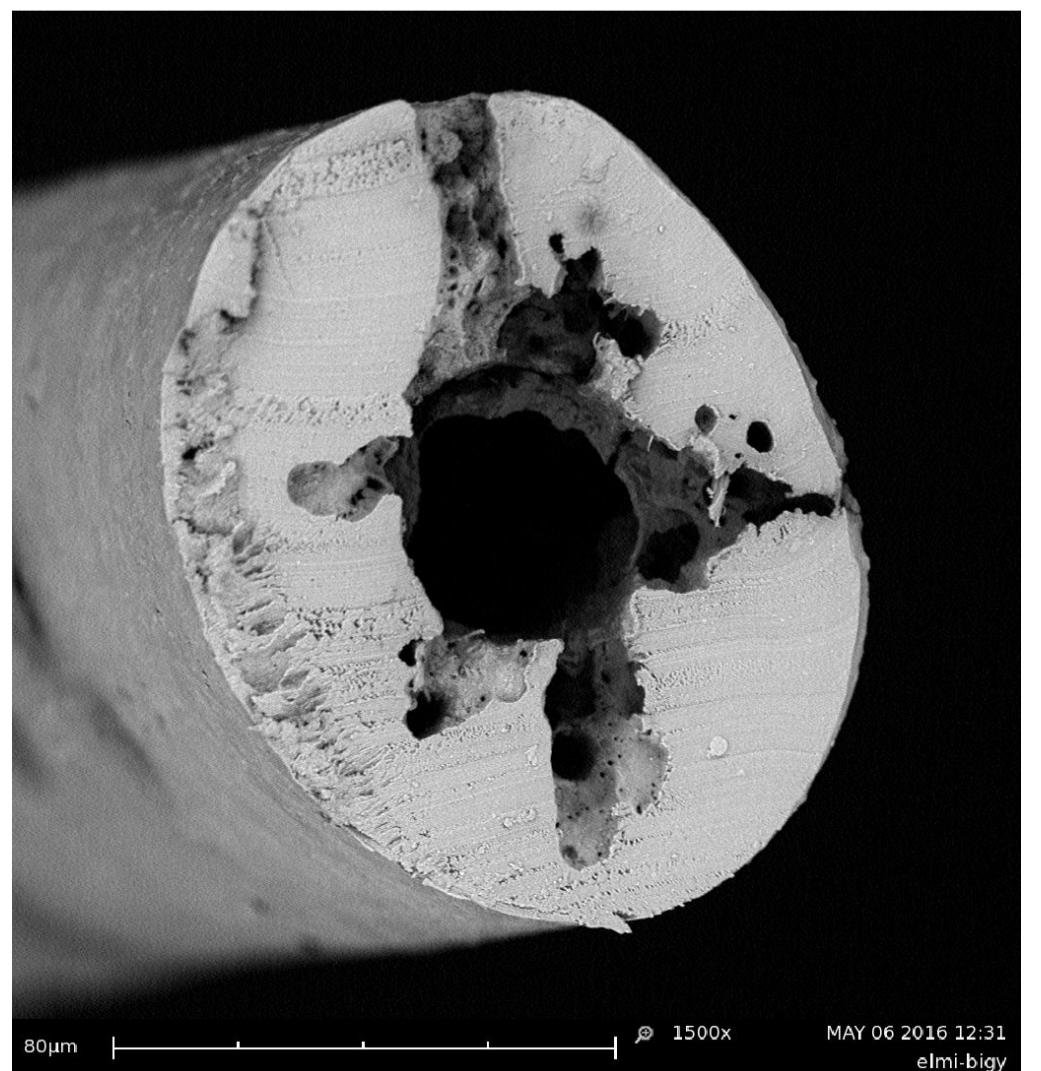
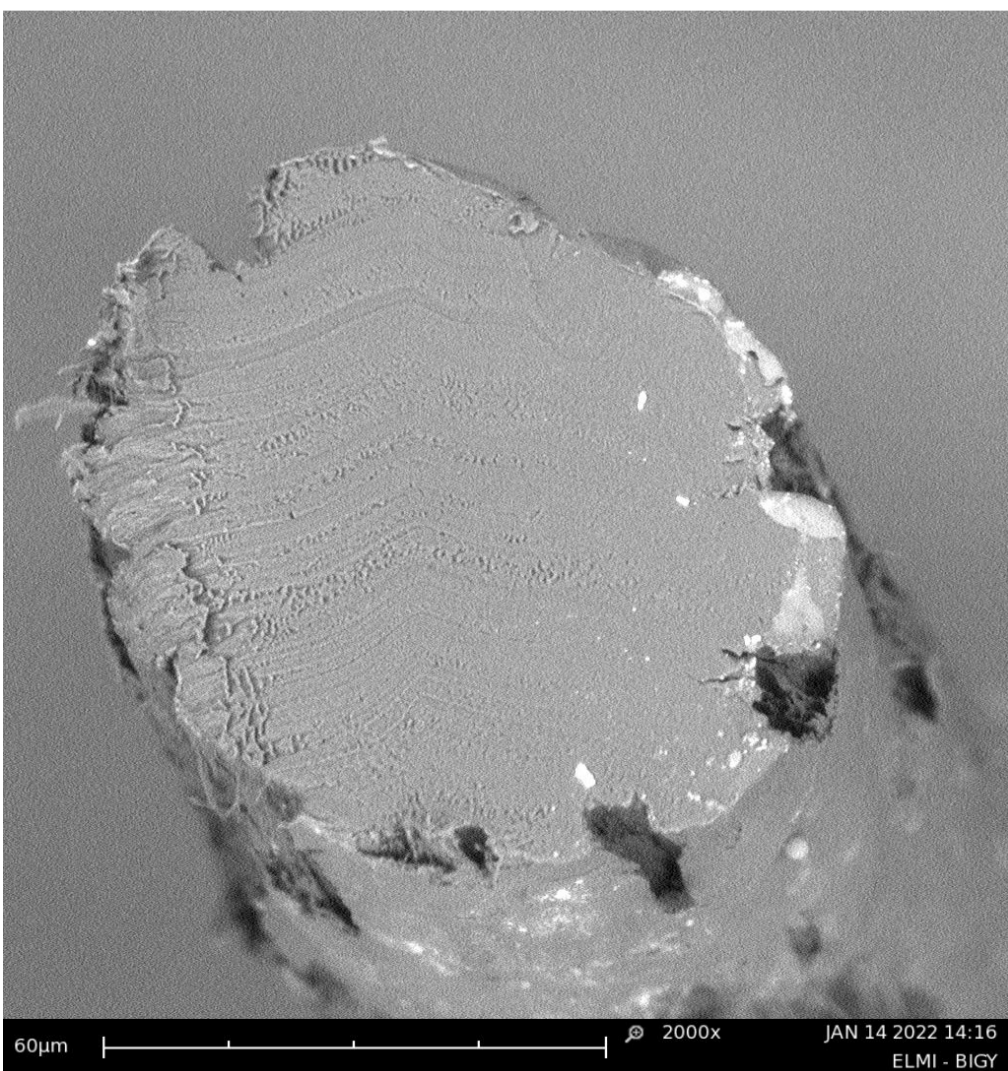


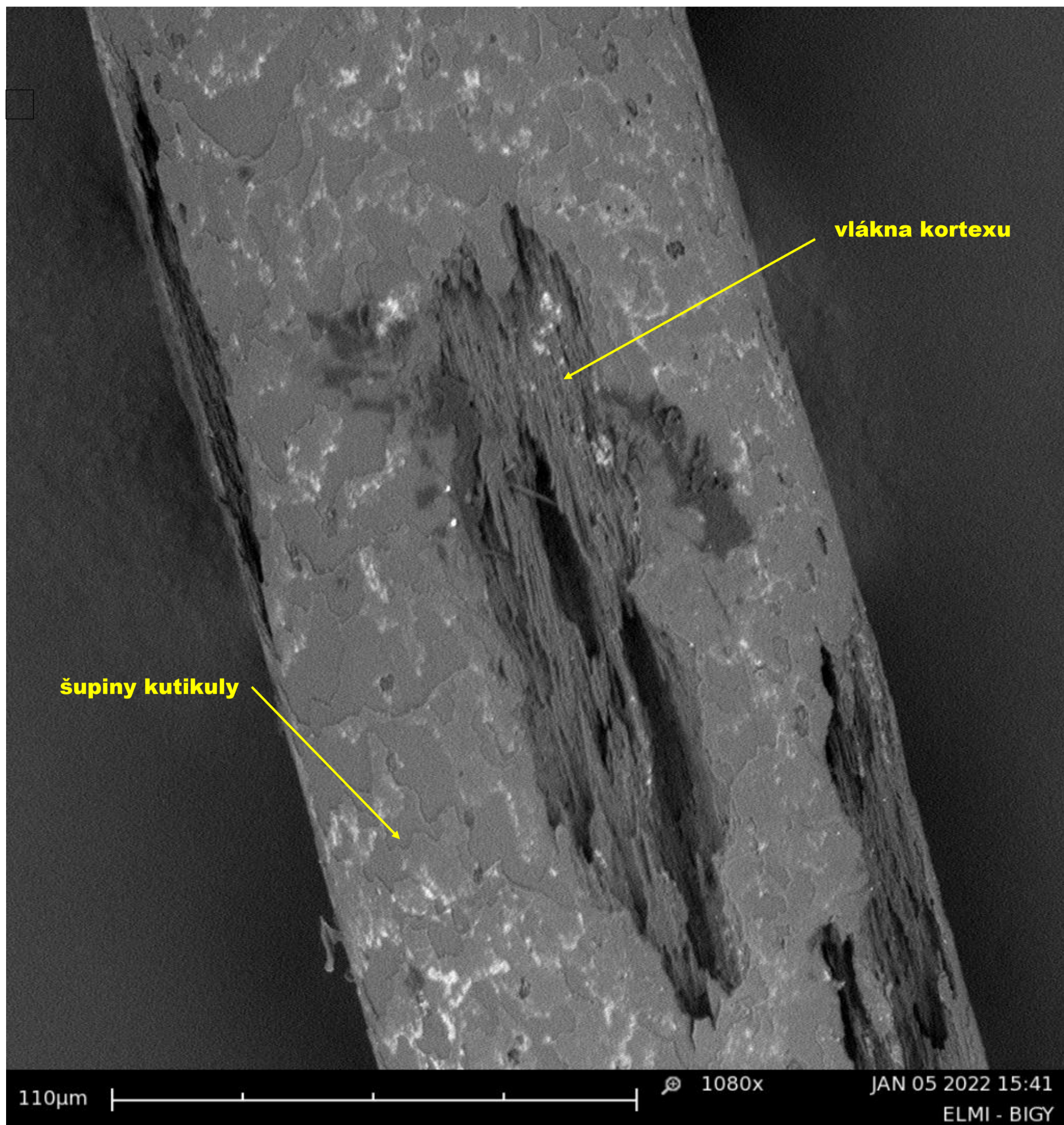
**Takto vypadá stejný chlup v elektronovém mikroskopu. Na snímku vlevo vidíme opět kořínek chlupu (délka asi 0,7 mm). Na snímku vpravo vidíme chlup o kousek dál od kořínku. Samozřejmě nemůžeme pozorovat případnou medulu, ta je skryta pod povrchem. Zato vidíme zničenou vrstvu kutikuly. Šupiny kutikuly tvoří jen jakési ostrůvky a na některých místech se doslova odlupují. Bílé skvrny jsou nečistoty či zbytky hlíny, ve které se tělo mamuta nacházelo. To, že bývají chlupy nejvíce zničeny v blízkosti povrchu kůže je zdůvodňováno hnilobnými procesy na kůži mršiny v době po smrti mamuta. Na snímku vlevo dole vidíme detail devastace chlupu, vpravo dole je špička chlupu.**



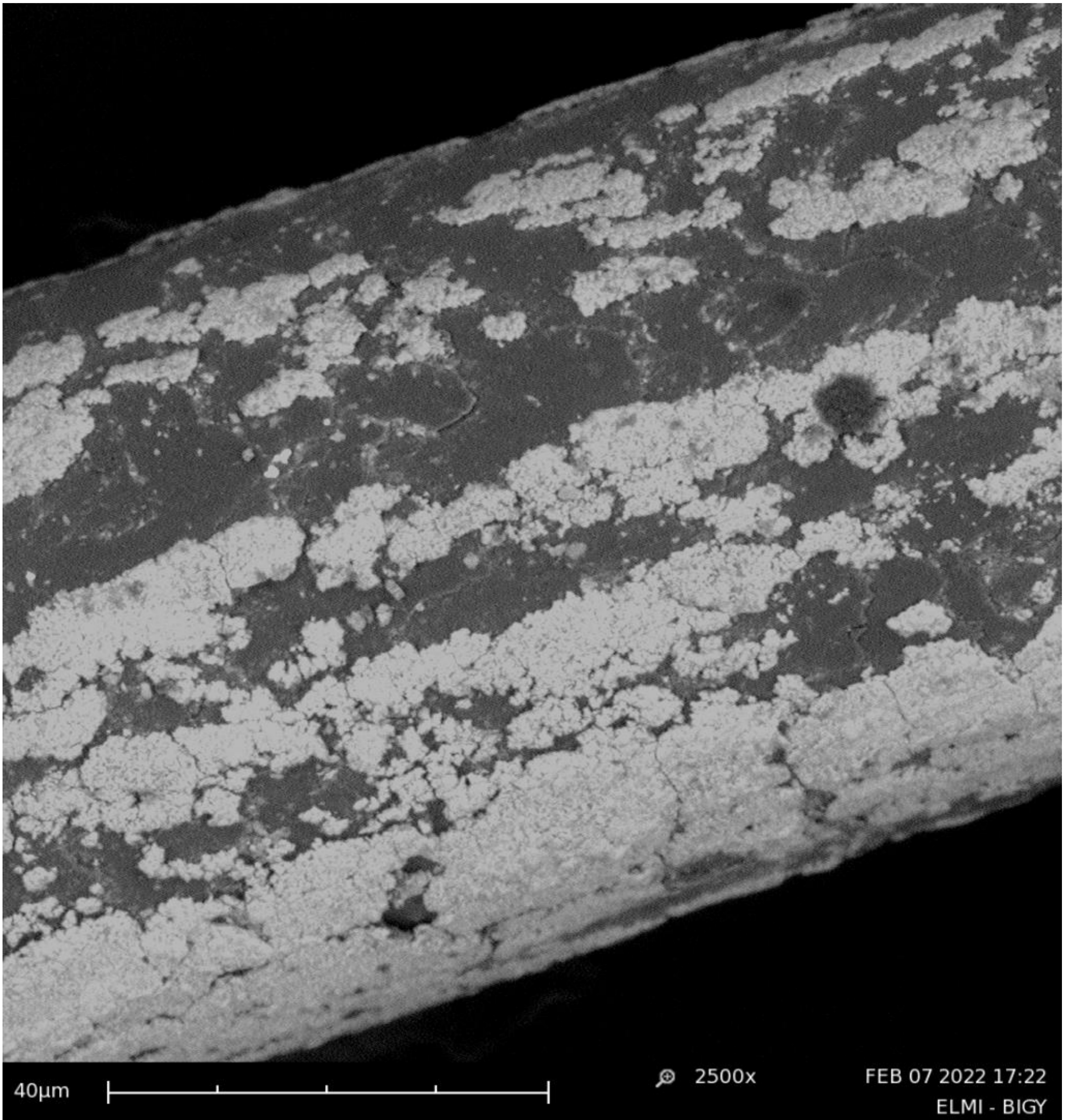


**Zde vidíte tři řezy chlupem mamuta v blízkosti kořínku. Všimněte si zničené kutikuly, která prakticky chybí (horní dva snímky), nebo vykazuje velké díry až do kortexu (levý spodní snímek). Na žádném řezu není patrná medula a ze snímků je zřejmé, že degradace postupovala z vnějšku dovnitř. Zatím u žádného chlupu nebylo pozorováno napadení keratinolytickými plísněmi, jak jsme je našli před šesti lety u chlupů ledního medvěda (poslední snímek dole). Tyto plísně nejdříve zlikvidují měkčí medulu a potom postupují chodbičkami směrem k povrchu. Chlup na povrchu vypadá do poslední chvíle v pořádku, i když je uvnitř zcela vyžraný (viz poslední snímek z optického mikroskopu na straně č. 6).**

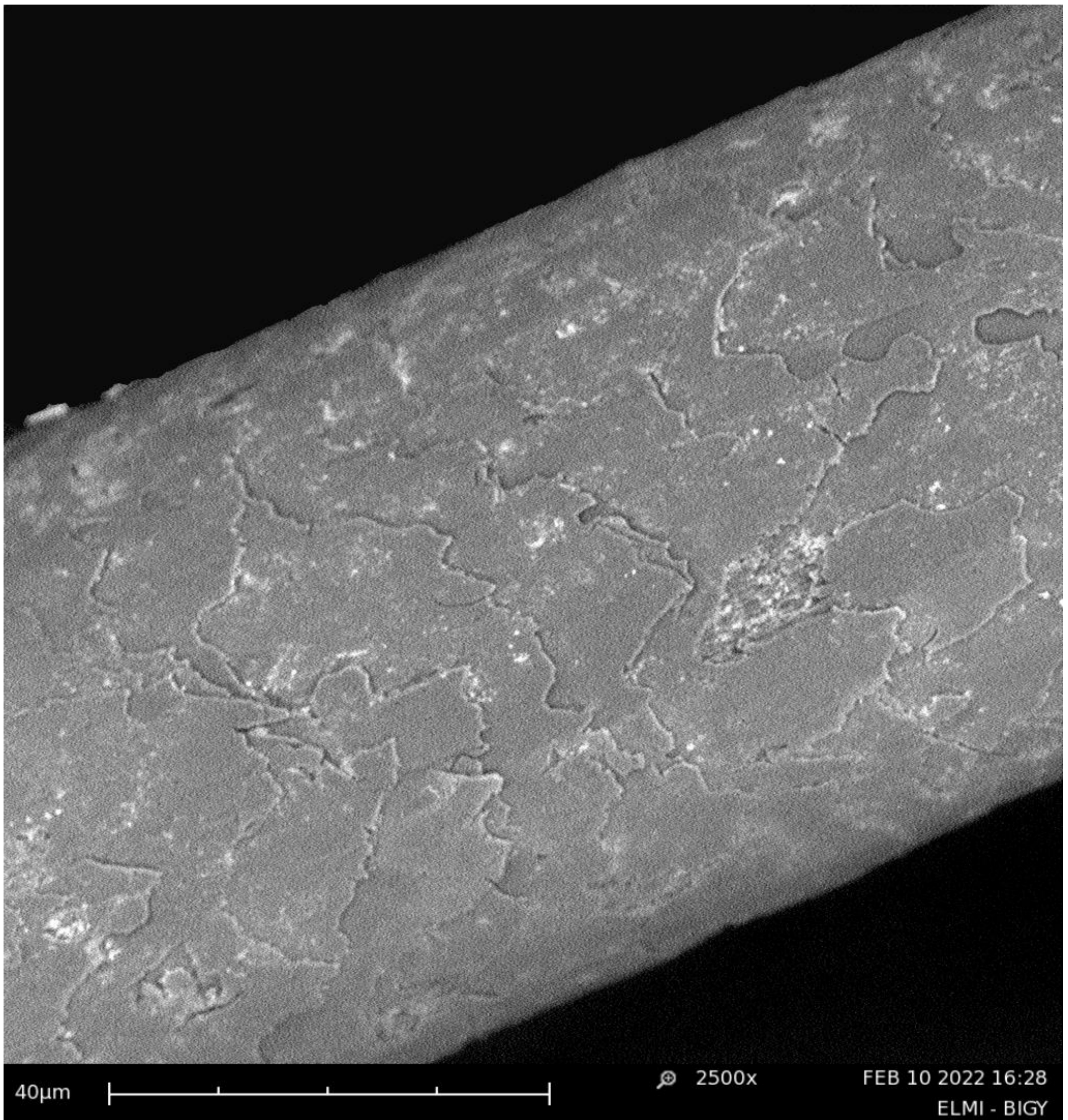




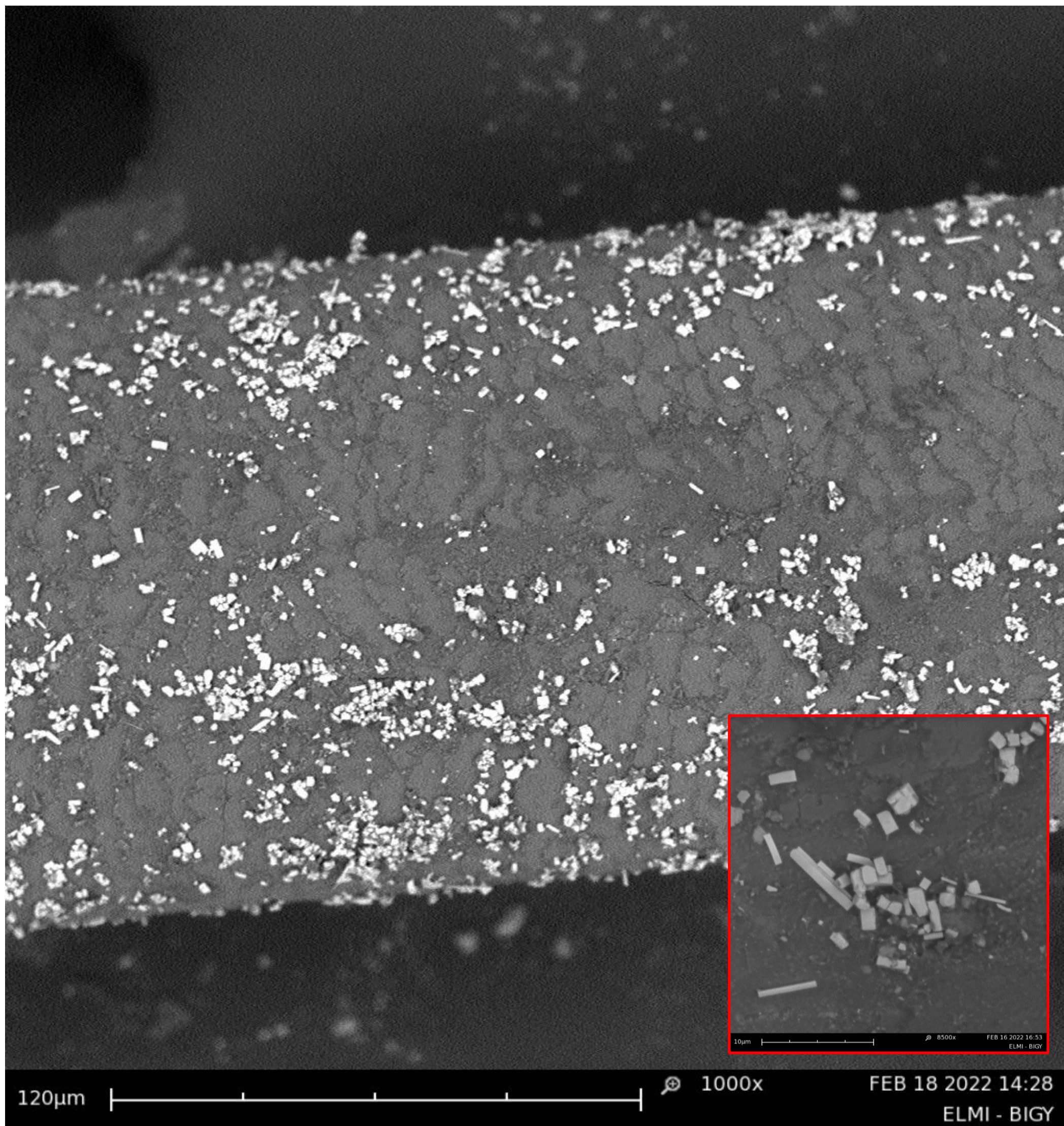
**Podívejme se podrobně na chlup mamuta. Ochranná vrstva kutikuly je značně poškozená. Přesto jsou zřetelně vidět jednotlivé šupiny. Nelze určovat jejich tvar, protože jsou doslova olámané. V kortexu jsou hluboké díry, které odhalují vláknitou strukturu kortexu. Díry nejsou ucpány nečistotami, protože byl preparát čištěn v lihu ultrazvukem. Ze snímku bychom mohli usuzovat, že degradace chlupu probíhala z vnějšího prostředí směrem dovnitř. Napřed byla napadena kutikula, potom přišel na řadu kortex. Došlo k tomu v době, kdy se těla mamutů před zmrazením v permafrostu nějakou dobu rozkládala.**



**Některé chlupy mají, zejména v části blíže ke špičce (tzv. distální část chlupu), povrch pokrytý pevnou vrstvičkou, kterou se nepodařilo odstranit ani ultrazvukem. Domníváme se, že se jedná o vrstvičku  $\text{CaCO}_3$ . Vrstva kutikuly nejeví významné poškození, jaké jsme mohli pozorovat na předchozím snímku. Mohla snad vytvořená vrstva chránit chlup před degradací? Proč se podobné vrstvičky objevují právě na povrchu distální části chlupu? Součástí permafrostu může být spraš, která skutečně obsahuje  $\text{CaCO}_3$ .**

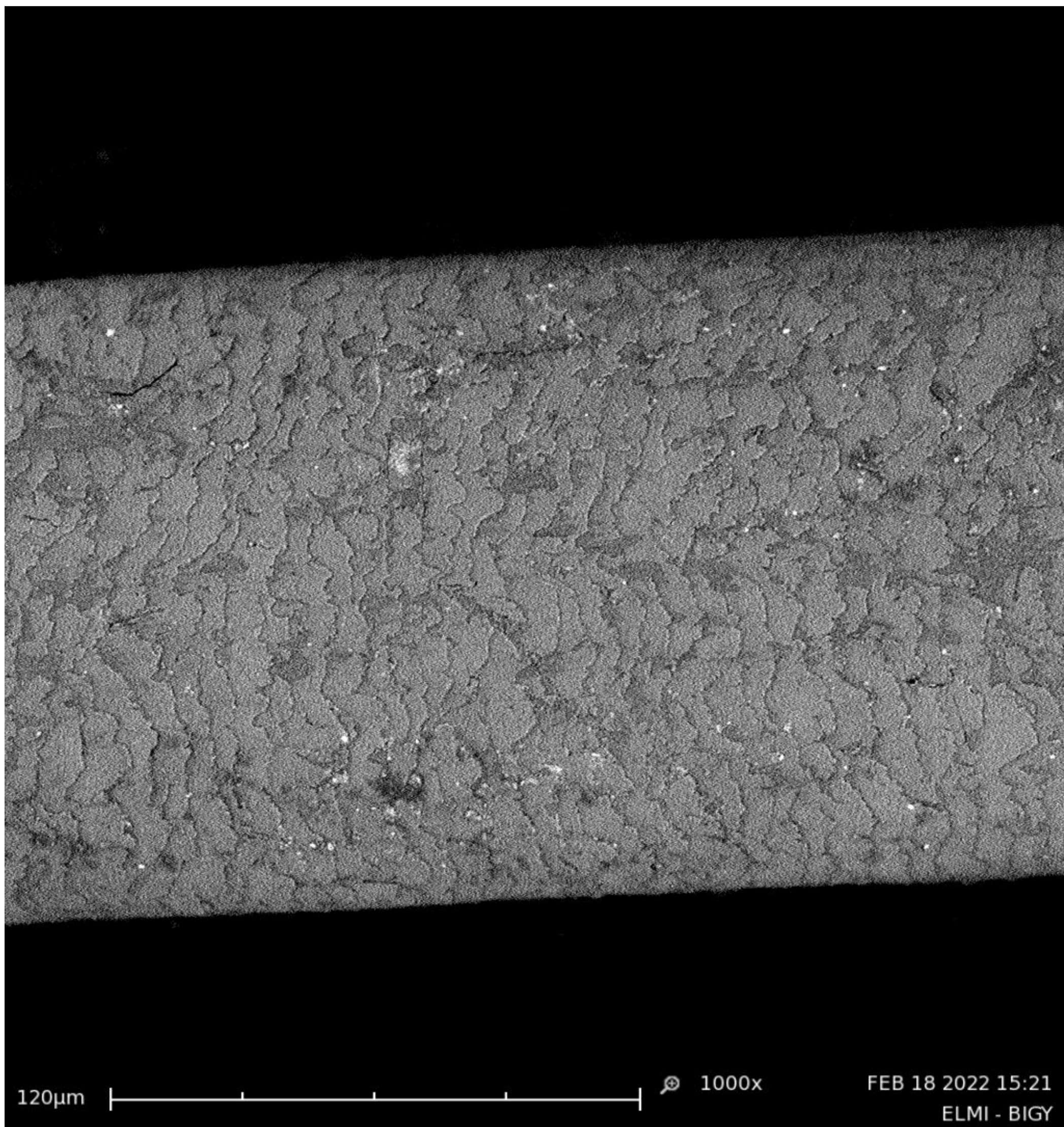


Na tomto snímku vidíme tentýž chlup, jako na předchozím snímku. Byl očištěn asi 5 min. v 10 % kyselině HCl a potom v destilované vodě v ultrazvuku. Pokrytí bílou vrstvičkou prakticky zmizelo. K tak rychlému očištění mohlo dojít právě tehdy, když vrstvičkou byl usazený  $\text{CaCO}_3$ . Podobná usazenina může vznikat například na stěnách sklenice s vodou, která tam bude stát delší dobu. Šupiny kutikuly jsou silně „okousané“, ale není zde tak silné poškození jako na stránce 11. nebo 9. Vznikla daná krusta ještě za života jedince, nebo až po jeho smrti?

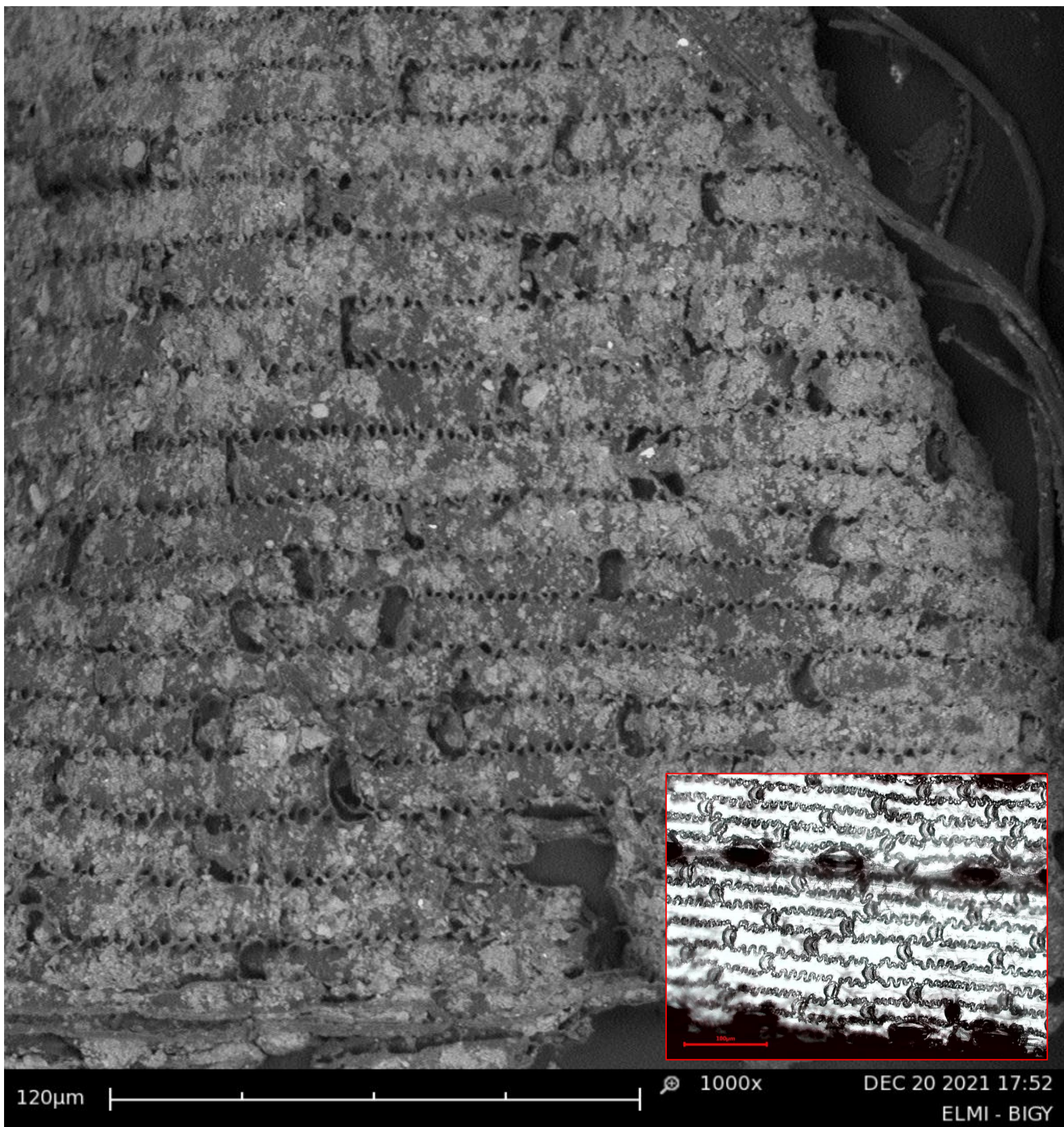


**Skutečně se může v srsti zvířat usazovat něco, co možná časem vytvoří téměř souvislou vrstvičku. To dokazuje tento snímek. Jde o chlupy jezevce. Jeho srst také přichází do styku s půdou a jak je vidět, na chlupech se usazují drobné krystalky. Je to  $\text{CaCO}_3$ ? K úplné jistotě bychom potřebovali chemickou analýzu, která pro nás byla zatím nedostupná.**

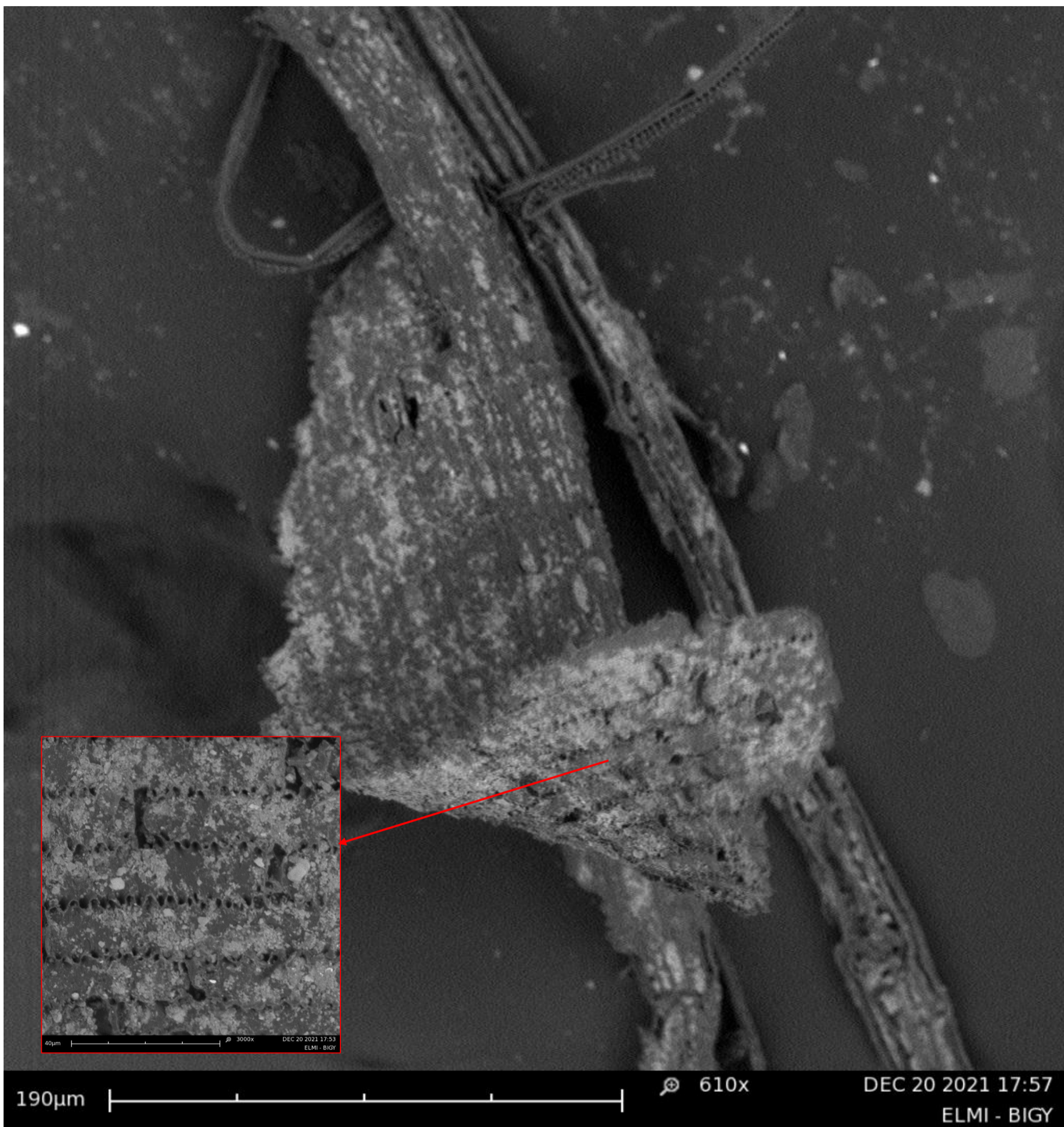




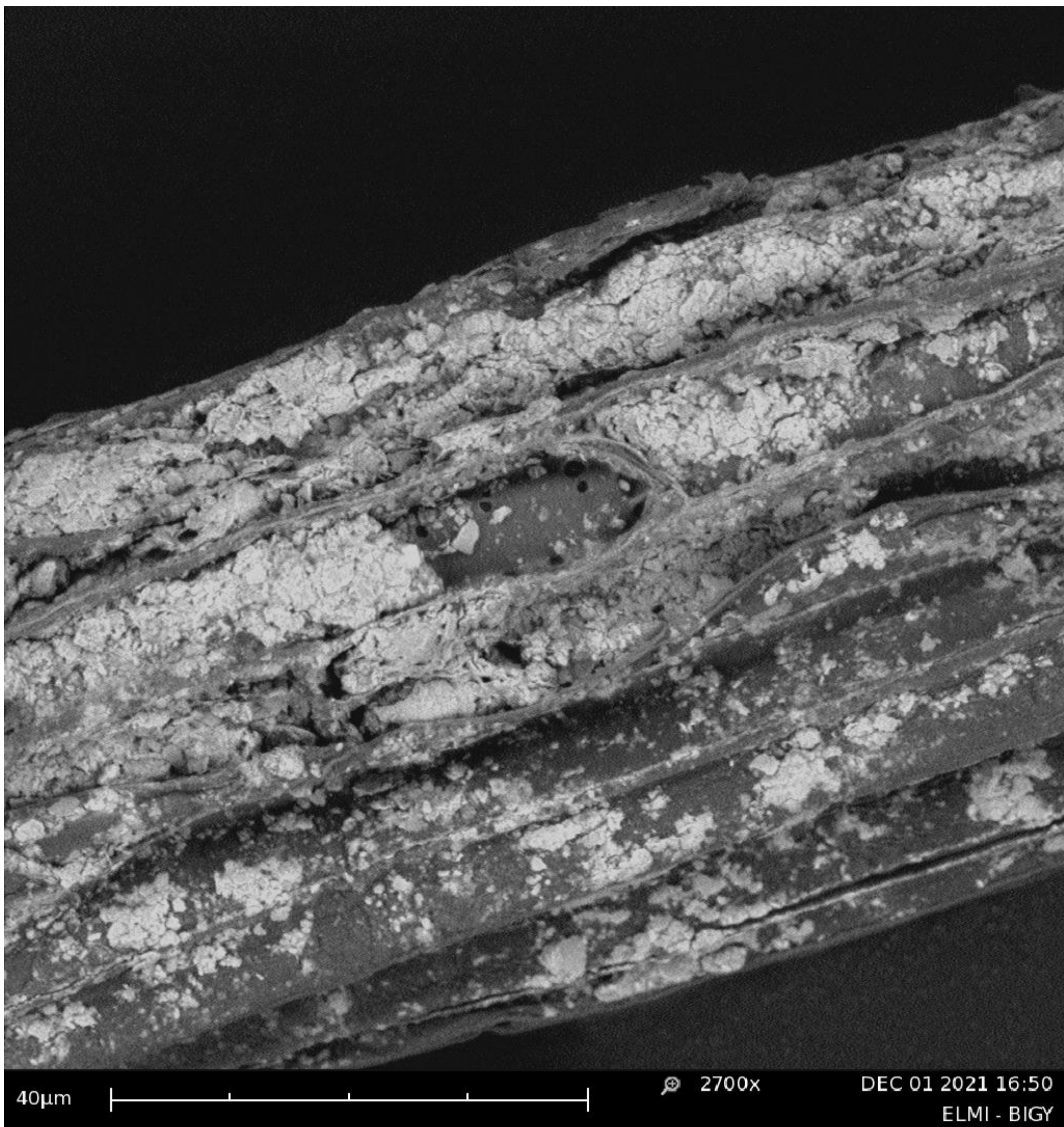
**A takto vypadal tentýž chlup z jezevce po koupeli v 10 % HCl po dobu asi 5 minut. Je vidět, že krystalky z chlupu zmizely. Podobně jako u chlupu mamutiho. Myslíme si, že povrchové znečištění chlupů v obou případech, je téhož původu.**



**Mezi chlupy z mamuta jsme našli i objekty, které jsme zařadili do rostlinné říše. Čeho by to mohly být zbytky, jsme ale netušili. Po delším hledání a zkoušení jsme na optickém mikroskopu získali snímky (viz malý obrázek), které připomínaly strukturu z mikroskopu elektronového. Jednalo se o epidermis ze stébla trávy. Navíc podobný snímek jsme našli v jedné odborné práci, která pojednávala o analýze zbytků potravy ze žaludku mamuta. Tím se i potvrdila naše představa, že se jedná o zbytky trav.**



**Nakonec jsme našli i původní stéblo, které bylo „rozšlápnuté“ a povrchová epidermis vyvrácená. Snímek nám ukazuje vnitřní stranu epidermis, která bývá pokryta průsvitnou blánou. Proto jsme takové obrazce nenacházeli na vzorcích z čerstvé trávy. Tato blána se zřejmě na vzorku z dávné minulosti už rozložila. Můžeme tedy říci, že mezi chlupy z mamuta se nachází zbytky trav, které tvořili výraznou část potravy mamutů v dobách před desítkami tisíc let. V té době měla sibiřská tundra spíše charakter stepi.**



**Poslední snímek ukazuje rovněž nějaké rostlinné vlákno. Zřetelně jsou vidět obrysy buněk. Povrch je silně znečištěn zřejmě podobně jako chlupy mamuta. V jedné z buněk v místě, kde vypadla křusta nečistot, se objevily ve stěně buňky malé otvory. Jakou mají tyto otvory funkci v rostlinných pletivech a o jaké vlákno může jít, bohužel nevíme.**