

Biologický korespondenční seminář



Biozvěst

Ročník 3

Série 3

Milí přátelé,

v přírodě panuje zima, období klidu. Abyste netrpěli nedostatkem přírodovědné stimulace, zavedeme Vás do stále svěžích tropů za pestrými opeření, poté se ponoříme do pestrosti tvarů květů a abyste nevyšli z kondice, je pro Vás připraveno i drobné cvičení. A na závěr pro Vás máme i jednu ryze detektivní otázku.

Šíření moudrosti našich Biozvěstů podpořila Přírodovědecká fakulta UK mediální podporou v rámci projektu Přírodovědci.cz a finanční podporou 5 000 Kč na uspořádání terénní expedice v loňském roce.



Jak řešit

Veškeré pokyny k řešení semináře získáte na internetové stránce Biozvěstu

www.studiumbiologie.cz/biozvest

(nebo zadejte „Biozvěst“ do Google). Na stránce také naleznete přihlášku, kterou vyplňte. Úlohy Vám budeme zasílat automaticky na e-mail uvedený v přihlášce. Pokud budete chtít ukončit odběr novinek o Biozvěstu, napište nám e-mail.

Dále se k nám můžete připojit prostřednictvím Facebooku, skupina „Biozvěst“, kde je možná probírat aktuality diskutovat dle libosti.

<https://www.facebook.com/groups/175384482597684/>

Vaše řešení úloh nám pošlete na adresu:

biozvest@gmail.com

Nejpraktičtější formou řešení bude prostý text v e-mailu, ale přijímáme veškeré formáty příloh. Každou úlohu pište do samostatného e-mailu a v předmětu uveďte

Ročník-Série-Úloha-Jméno_Příjmení,

např. **3-1-2-Bioslav_Biomilný** v případě druhé úlohy první série aktuálního ročníku.

Uzávěrka 3. série: pondělí 21.3.2016 o půlnoci.

V případě opožděného odevzdání úloh se strhává za každý celý den jeden bod s výjimkou zvláště závažných a omluvených situací.

Nelekejte se, když Vám přijdou úlohy na první pohled příliš těžké, ponořte se do informačních zdrojů a uvidíte, že na vše lze někde nalézt odpověď. Dobré tipy k řešení naleznete také na stránce Biozvěstu v sekci „Návody“. Není nutné abyste kompletně vyřešili všechny úlohy a asi se to ani nikomu nepodaří, stačí odeslat libovolně velký fragment. Oceníme, pokud přiložíte jakékoliv připomínky (např. úloha byla příliš lehká/těžká, nesrozumitelná, nudná), úlohy se pokusíme tvořit k Vaší maximální spokojenosti.

Veškeré dotazy či připomínky směrujte na adresy

biozvest@gmail.com či vosolsob@natur.cuni.cz

Mnoho zdaru při řešení Vám za kolektiv autorů přeje

Stanislav Vosolsobě

Jazykovou korekturu textu provedla Jasna Simonová

Úloha 1: Papoušci

Autor: Jakub Hradečný

Počet bodů: 15

Papoušci. Všichni je určitě dobře znáte ze zoologických zahrad a obchodů s domácími mazlíčky. To bývá ale jen zlomek z cca 300 druhů vesměs pestrých a inteligentních ptáků z tropických a subtropických oblastí celého světa. Proto se v této otázce na tyto úžasné opeřence podíváme blíže a ukážeme si na nich několik zajímavostí.

1. Řád Psittaciformes je rozdělen do tří čeledí. Napiš, o jaké čeledi se jedná, a u každé zjisti, v kterých částech světa se s ní můžeš setkat (v rámci tropů a subtropů, stačí např. Estrildidae – Afrika, Jižní a JV Asie a Austrálie, vč. části Oceánie).
2. Nyní se zaměříme na peří papoušků. U většiny druhů je možné najít alespoň malou plochu červeného peří. Najdi, jaká skupina látek tuto barvu způsobuje, a napiš alespoň tři důvody, proč je pro ně toto zbarvení výhodné.
3. V této otázce se budeme věnovat rozšíření papoušků. V první otázce jste zjistili, kde všude se papoušci vyskytují. Na různých místech je ale logicky různá druhová diverzita, takže například na severu Afriky a v Evropě jsou sice papoušci rozšířeni také, ale jedná se pouze o několik málo druhů, často uměle introdukovaných člověkem. Navíc jsou mnozí papoušci dobře přizpůsobiví, což spolu s dalšími faktory vedlo k tomu, že některé druhy figurují na Evropských seznamech invazních druhů. Napiš dva druhy papoušků, které můžeš potkat na území Evropy, popiš, kde se přirozeně vyskytují, a pokus se vysvětlit, jak se jim podařilo vytvořit v nehostinném evropském klimatu stabilní kolonie. Proč jsou považováni za škodnou?
4. Kromě těchto několika málo velmi úspěšných druhů existují ale také desítky druhů papoušků na pokraji vyhynutí. Jeden druh jihoamerického papouška se nicméně celkem zdárně podařilo „zachránit“, takže jeho populace stoupla z původních cca 50 jedinců na současných asi 100. Všichni jedinci se ale nacházejí v chovatelských zařízeních a v přírodě tento papoušek již zcela vyhynul. Zjisti, o jaký druh papouška se jedná. Napiš název tří největších chovatelských zařízení, které se snaží o jeho záchranu. Pokus se také popsat, jaká nová chovatelská metoda se nyní používá v boji proti inbreedingu, a z jakého důvodu velmi usnadňuje práci chovatelům.
5. Jako poslední úkol napiš úvahu na minimálně 1 A4 na téma: *Je snazší pokoušet se o záchranu papouška z páté otázky, nebo o záchranu pandy velké (Ailuropoda melanoleuca)?* Zkuste v této úvaze zohlednit nároky obou druhů, jejich životní způsoby, potravu atd. Hodnotit se nebude gramatika, ale pestrost a proveditelnost nápadů a také způsob argumentace.

Úloha 2: Kytičková

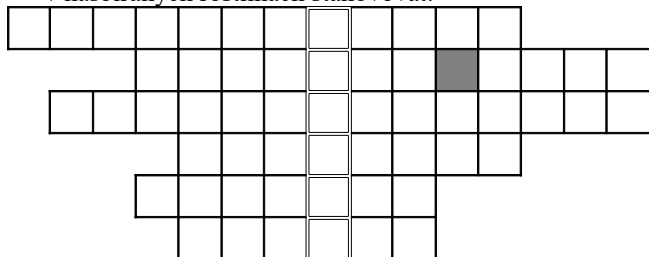
Autor: Anna-Marie Buková

Počet bodů: 12

Stejně jako spousta dalších, i Bioslav si na Nový rok dává předsevzetí. Loni na jaře si jednu dobu hodně četl

o rostlinné fyziologii a látkách, které rostliny obsahují. Jedna z nich ho velmi zaujala a proto se rozhodl, že ji zkouší z nějaké rostliny izolovat a zjistit, v jakém množství se obvykle v pletivech nachází. Bohužel mu na to už na jaře nezbyl čas, teď si však předsevzal, že se vrátí k původnímu záměru a látku v pletivech stanoví. Jeden z problémů, který se mu naskytl, totiž to, že venku leží sníh, hravě vyřešil tak, že pro nějaké vzorky rostlin vyrazil do skleníku. S druhým problémem si už tak sandno neporadil – zapomněl totiž název látky, která ho minulého jara tolik zaujala.

1. Vyluštěte následující křížovku a pomozte Bioslavovi vzpomenout si na název látky, jejíž obsah chce v nasbíraných rostlinách stanovit.



- Obecný název stimulačního mechanismu, na kterém je založena jarovizace (vernalizace).
 - Několikabuněčná vrstva na rozhraní řapíku a čepele, řapíku a stonku nebo plodu a stopky.
 - Orientace rostliny ve směru gravitace.
 - Klidové období ve vývoji organismu.
 - Opad listů či plodů.
 - Prvek, který se (jako iont) uplatňuje při zavírání průduchů.
- Jaký je současný název látky, která se ukrývá v tajence? A jak souvisí s pojmy v jednotlivých řádcích křížovky?
 - Látka se vyskytuje ve formě čtyř izomerů, pouze jeden z nich má však požadovanou fyziologickou aktivitu. Nakreslete a systematicky pojmenujte tento izomer.
 - Jak se souhrnně (z hlediska funkce v rostlině) nazývá skupina látek, mezi které sloučenina patří? Jmenujte další látky náležící do této skupiny. Jedna z podskupin těchto látek se proslavila díky svému vlivu na buněčné dělení. O jakou podskupinu se jedná? V jaké fázi buněčného dělení se uplatňuje a jakým mechanismem působí?
 - Ilustrujte obrázkem chemickou strukturu nejúčinnější přirozené sloučeniny z této podskupiny a pojmenujte ji (triviálně i systematicky). Dále uveďte strukturu primárního produktu biosyntézy dané sloučeniny, její zásobní a deaktivovanou formu.
- Po nasbírání Bioslav rostlinný materiál homogenizoval. K vlastní analýze se rozhodl využít metodu HPLC/MS. Věděl, že než ji bude moci provést, je třeba látku z pletiv extrahovat a extrakt následně purifikovat. Po tomto kroku bude vzorek obsahovat pouze látky, které patří do stejné skupiny, jako látka hledaná. Bioslav má k dispozici Bieleškého činidlo a extrakt, který jím získá, rozdělí pomocí separační kolony. Tu nejdříve propláchne roztokem A, aby izoloval první frakci obsahující látky s kyselým charakterem a poté ji propláchne roztokem B a izoluje druhou frakci, ve které budou látky chovající se jako báze.
- V jaké frakci má Bioslav hledat látku, kvůli které analýzu provádí? Které další látky patřící taktéž do skupiny diskutované v otázce 4 budou součástí

získaných frakcí?

- Zkuste řádově odhadnout množství látky, které Bioslav z pletiv izoluje, víte-li, že vycházel z gramu živé hmotnosti rostliny.

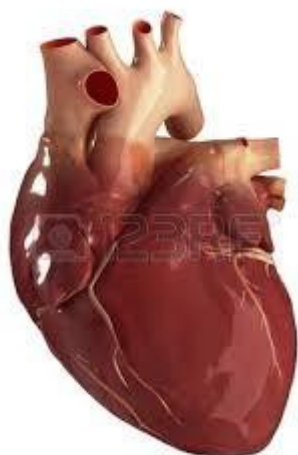
Úloha 3: Květy zla

Autor: Radek Vítek

Počet bodů: 26

Květ je jistě jedním z nejkrásnějších výtvarů přírody. Kvetoucí rostliny najdeme jak na poušti, tak i v polárních oblastech, pod vodou i na jiných kvetoucích rostlinách. Květy jsou opylovány nejen živly, ale také spoustou různých, někdy až nečekaných živočichů. Pojďme se spolu podívat na to, jak jsou květy uzpůsobené různým opylovačům.

- V jakém období se oddělily kvetoucí rostliny od ostatních semenných rostlin a která skupina organismů v té době také radiovala? Jaký je hlavní rozdíl mezi květem a šišticí.
- Jednotlivé květní části se mohou po opylení modifikovat na různé funkční orgány. Napište ke každé květní části (kalich, koruna, pestík, tyčinky, květní lůžko) nějakou formu přeměny a její význam.
- Primární funkce květu je nalákat opylovače. Jaké přizpůsobení k tomu slouží, jmenujte minimálně dvě, které našimi smysly nevnímáme a minimálně tři které ano. Popište čtyři způsoby, jak rostlina pomáhá opylovači udržet se na květu aby ji mohl řádně opylit
- Je mnoho různých skupin opylovačů, napište vždy jeden druh z vyjmenovaných skupin a příklad rostliny kterou opyluje. Popište, jak jsou rostlina a hmyz vzájemně přizpůsobeny. Diskutujte barvu, tvary, velikost, ... Aves, Hexapoda, Gastropoda, Mammalia, Reptilia
- Která čeleď rostlin dokáže zahřát svůj květ na teplotu až o několik desítek stupňů vyšší než je teplota okolí? Jaké dva hlavní důvody to má? Květy rostlin této čeledi také vytvářejí jakousi květní past. Popište její princip.
- Jedna rostlina z čeledi *Orchideaceae* se stala slavnou hlavně pro to, že byla předpovězena existence pro ni specifického opylovače, který byl v té době zatím neznámý (a posléze se slovo „předpovězený“ dostalo i do jeho vědeckého názvu). Rostlina pochází z afrického tropického ostrova, kde ji objevil a popsal známý přírodovědec. Zvláštností je, že má téměř 30 cm ostruhu, která donutila opylovače k jisté specializaci.
 - Jak se jmenuje rostlina a její opylovač?
 - Kdo rostlinu objevil a podle čeho předpověděl opylovače? Jak je přenášen pyl této rostliny?
 - Jaké další rostliny zaujaly podobnou opylovací strategií? Vyjmenujte minimálně 3 druhy z různých čeledí.
- Květy mnoha rostlin působí, jako by byly kopií věcí, zvířat či předmětů. Zařaďte následující rostliny do čeledí, ke každému květu naleznete příklad co nejpodobnější rostliny, která má ještě konvenční květ (ideálně s nesrostlými pravidelně uspořádanými květními lístky) a popište, jak se květní části metamorfovaly při vzniku těchto květů. Jakou funkci tyto přeměny mají při opylování květů?

a) *Psychotria elata*d) druhy z rodu *Cypripedium*b) *Dracula simia*c) *Dicentra spectabilis*

Úloha 4 (praktická): Mučírna

Autor: Kristýna Minářová

Počet bodů: 18

Během posledního století dochází vlivem rozvoje civilizace k výraznému poklesu fyzické kondice lidí. V porovnání s počátkem minulého století má většina lidské populace sedavé zaměstnání a v důsledku rozvoje moderních komunikačních technologií lze již i řadu věcí vyřídit přes internet, takže ani obíháním úřadů se již fyzická zdatnost neuntužuje tolik, jako před dvaceti lety. Na druhou stranu je ovšem vyvíjen tlak na vrcholové sportovce, aby překonávali rekordy, které byly na hranici lidských sil již před mnoha lety. Když pomíneme doping, ke kterému se stále odborné asociace sportovců alespoň oficiálně staví odmítavě, neustále jsou zdokonalovány pomůcky, které jim mají pomáhat být rychlejší, házet dále a vyskočit výše. Nicméně základem úspěchu je stále dokonalá fyzická kondice sportovce, k jejíž „výrobě“ se přistupuje stejně, jako k výrobě lyží nebo neoprenu. Jedná se o přesně definovaný tréninkový program podpořený téměř laboratorně připravenou stravou. A jako každý výrobek, i fyzická kondice sportovce musí být testována zátěžovými testy.

V této úloze si zkuste, jaké to je být testovaným sportovcem a zjistěte, jak jste na tom se svou fyzickou kondicí. Představím vám jednoduché funkční zkoušky a jeden terénní test. Vyzkoušejte všechny tři metody, porovnejte je mezi sebou a sepište protokol o tom, co jste při testování zjistili. Napište, jaké si myslíte, že jsou výhody jednotlivých testů a jaké jsou jejich nedostatky. Při provádění jednotlivých testů si nechte dostatečný čas na odpočinek, abyste omezili chybu měření. Pro všechny testy je důležité naučit se správně měřit tepovou frekvenci (TF). Změříte ji tak, že uchopíte pravou rukou zápěstí levé ruky (pokud jste praváci) tak, že dlaní objímáte vnější stranu zápěstí a prsty přiložíte na vnitřní stranu zápěstí. Lehce stisknete prsty, více prostředníkem. Pozor, palec směřuje ven, nikdy neměříte TF palcem (cítili byste pulsace palce, nikoliv radiální tepny).

1. Prvním testem je Step-test. Jedná se o jednoduchý test fyzické zdatnosti, při kterém potřebujete stupátko, hodinky a asistenta, který vám bude měřit čas. Asistenta

Lze využít i jako modelový subjekt v případě lenosti examinátora ☺. Stupátko by mělo být vysoké pro muže 50 cm, pro ženu 40 cm a pro dítě 30 cm. V případě že by někdo z vás měl pocit, že když ve svých 17 letech a 180 centimetrech stále chodí k pediatrovi, a proto spadá do kategorie „dítě“, nebo naopak má stěží 150 cm, kterých dosahuje pouze na společensky přijatelných chůdách zvaných podpatky, ale přitom mu již bylo 18 let, a proto musí mít stupátko vysoké, tak vězte, že ideální výška stupátka je do výšky drsnatiny holenní kosti. Tu zjistíte tak, že ohnete koleno a nahmatáte vrcholek holenní kosti. Následně budete po dobu 5 -ti minut střídavě vystupovat a sestupovat na stupátko, přičemž vždy jedna noha zůstává na bedýnce. Ideální frekvence výstupů je 30/min. Po skončení výstupů se posadíte a změříte si tepovou frekvenci (TF) v čase 1 minuty (TF1), 2. minuty (TF2) a 3. minuty (TF3) po zátěži. Vždy měříte po dobu 30 sekund. Poté dosadíte do následujícího vzorce a získáte index zdatnosti.

$$\text{Index zdatnosti} = \frac{\text{Doba vystupování (s)} \times 100}{2 \times (\text{TF1} + \text{TF2} + \text{TF3})}$$

Výsledek vyhodnotíte dle následující tabulky:

Index zdatnosti	Zdatnost
< 90	Podprůměrná
90-110	Průměrná
>110	Nadprůměrná

2. Dalším testem je Ruffierova zkouška. Napřed si změřte tepovou frekvenci v klidu po dobu 15 sekund. (TF1). Udělejte 30 dřepů za 30 sekund, ideálně použijte metronom, nebo asistenta, který vám bude udávat tempo. Bezprostředně po zátěži se posadte a opět si změřte tepovou frekvenci, opět po dobu 15 sekund (TF2), patnáctisekundové měření frekvence zopakujte přesně jednu minutu od ukončení testu (TF3). Výsledek dosadte do vzorce:

$$\text{Index zdatnosti} = \frac{4 \times (\text{TF1} + \text{TF2} + \text{TF3}) - 200}{10}$$

Svůj výsledek opět porovnejte s tabulkou:

Index zdatnosti	Zdatnost
<0	Výborná
0,1- 5	Dobrá
5,1-10	Průměrná
10,1- 15	Podprůměrná
>15,1	Nedostatečná

3. A na závěr jeden terénní test. Pokuste se ujít co nejrychleji 2 kilometry konstantní rychlostí, ale pozor, nesmíte přitom běžet. Vaše cesta by měla vést po rovině. Celkem by vám to mělo trvat 12-16 minut. V cíli si bezprostředně změřte tepovou frekvenci (TF) po dobu 1 minuty a změřte dobu trvání vašeho testu v minutách (45 s = 0,75 min). Pro další výpočet budete potřebovat znát váš věk a BMI (body mass index. Ten zjistíte z následujícího vzorce:

$$\text{BMI} = \frac{\text{hmotnost (kg)}}{\text{výška (m)}^2}$$

Pro další výpočty to sice není podstatné, ale pro úplnost uvádím stupeň výživy, který BMI představuje:

BMI pro muže	BMI pro ženu	Stupeň výživy
<20	<19	Podváha
20-25	19-24	Normální hmotnost
25-30	24-29	Nadváha
>30	>29	Obesita

Index zdatnosti vypočítáte podle následujícího vzorce, zvlášť pro muže, zvlášť pro ženu

$$\text{Muž} = 434 - 11,6 \times \text{trvání} - 0,56 \times \text{TF} - 2,6 \times \text{BMI} + 0,2 \times \text{věk}$$

$$\text{Žena} = 431 - 11,6 \times \text{trvání} - 0,56 \times \text{TF} - 2,6 \times \text{BMI} + 0,2 \times \text{věk}$$

Výsledek vyhodnotíte dle následující tabulky:

Index zdatnosti	Zdatnost
<70	Slabá
71- 89	Podprůměrná
90-110	Průměrná
111- 130	Dobrá
>131	Výborná

Úloha 5: Návštěva ve světě moderní biologie: Environmentální sekvenování

Autor: Stanislav Vosolsobě

Počet bodů: 10

V novém díle našeho seriálu se podíváme na využití moderních sekvenačních metod v jiných oborech, než je čistá genetik. Sekvenování je totiž v současné době zcela převažující metodou, jak je možné identifikovat mikroskopické organismy, například bakterie, houby a prvoky. V minulosti se tyto organismy určovaly velmi obtížně. U bakterií prakticky nemůžeme využít morfologické přístupy (určení podle vzhledu) kvůli jejich malé velikosti (nanejvýše lze v mikroskopu rozlišit kokální a vláknité formy, případně detekovat přítomnost buněčné stěny u gram-positivních bakterií). Využívá se místo toho kultivačních postupů, kdy se vzorek z přírody (třeba z půdy či z infikované sliznice) přenesou na živné médium v dostatečném zředění, kdy teoreticky z jedné bakterie vyroste jedna kolonie. U kolonií můžeme již rozlišovat morfologické znaky (zejména barvu), ale přesné určení se provede pomocí testu, kdy se z každé kolonie vysévají bakterie na sérii živných půd, ve kterých jsou obsaženy různé zdroje živin (např. různé sacharidy), jsou vynechány určité vitamíny či aminokyseliny, případně přidány látky, které mohou být bakteriemi metabolisovány v barevné produkty, nebo půdy obsahují různé toxické látky (antibiotika). Bakterie se pak určí podle toho, zda roste či neroste na daném médiu, či podle toho, že při růstu vzniká určitá barevná změna. Takové testy lze koupit připravené v destičkách s jamkami, kam jen nakapeme trochu bakteriální suspence. U hub a prvoků je taktéž základem určování kultivace z materiálu, ale máme k dispozici více znaků, morfologických (tvary spor u hub), i chemických (přítomnost pigmentů u řas,...).

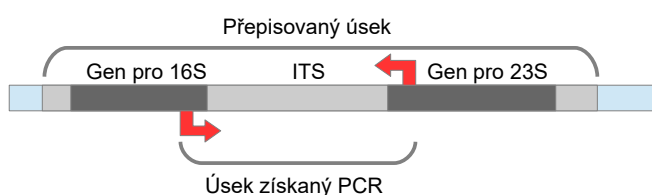
Nicméně v každém případě určování komplikují dva

základní problémy: Za prvé organismus musí být schopen růst na kultivačním médiu. Ale například jen těm nejnudnějším bakteriím chutnají běžná živná agarová média. Už pár centimetrů pod povrchem půdy je mnoho bakterií, které nesnášejí kyslík (jsou anaerobní) a mohou mít natolik zvláštní metabolismus, že nám vyrostou až ve speciálních podmínkách, nebo vůbec. Za druhé nemůžeme těmito metodami rozlišit velmi blízké druhy, protože používané znaky mohou být příliš hrubé. Například pokud jednu houbu najdeme jako parazita u různých druhů kytek, nemusí se jednat o izoláty vůbec lišit morfologicky, a přitom se jedná o specializované druhy.

Tímto se také dostáváme k otázce, jak druh definovat u mikroorganismů. U zvířat a rostlin se snažíme druhy popisovat tak, jak to vnímají organismy samotné, tedy podle toho, že se v rámci populace popsané jako jeden konkrétní druh vnímají jedinci jako potenciální partneři pro rozmnožování (či by alespoň mohlo být rozmnožování teoreticky možné) a mohou mít plodné potomky. U organismů, které se pohlavně nerozmnožují (bakterie), či je rozmnožování velmi skryté (řada prvoků), se výše zmíněný koncept aplikuje složitě. A právě sekvenační informace nám umožňuje definovat druhy na základě rozdílnosti jejich DNA, což je univerzální způsob pro všechny organismy a mimo to je v DNA ukryto tolik informace, že nám umožní odlišit i blízké příbuzné druhy.

A nyní se již dostáváme k podstatě environmentálního sekvenování. To totiž řeší i problém s kultivací. Jak funguje? Stačí izolovat všechnu DNA, která je obsažena ve vzorku (vezmeme hrst půdy, rozdrtíme ji a extrahujeme směs DNA od bakterií až třeba po krtky). Následně můžeme použít různě moderní strategie analýzy extraktu:

Klasický postup: Zvolíme si markerový úsek DNA, podle kterého budeme druhy určovat, a izolujeme ho ze vzorku pomocí PCR. Nejčastěji se jako marker používá ITS sekvence. V genomu je kódována ribosomální rRNA několika geny pro jednotlivé ribosomální podjednotky. Geny pro 16S a 23S rRNA leží u bakterií na chromosomu hned vedle sebe (viz obrázek) a jsou přepisovány zároveň jako jeden dlouhý úsek, který se potom nastříhá. Sekvence, která geny odděluje, se nazývá ITS (internal transcribed spacer) a zatímco vlastní geny jsou extrémně konzervované (i mezi vzdálenými druhy je v nich minimum mutací), ITS je celkem variabilní, neboť nic nekóduje, rychle mutuje a tudíž poskytuje dostatek informace pro určení druhu. Její poloha mezi konzervovanými geny je vynikající pro PCR, podle konzervovaných genů se totiž dají vytvořit primery (červené šipky), které budou fungovat velmi obecně (např. pro celé kmeny bakterií) a s jejich pomocí namnožíme v PCR úsek ITS sekvence.



U eukaryot to funguje podobně, akorát gen pro 23S je rozdělený na dva další ITS úsekem a geny kódují poněkud větší rRNA, takže je struktura celého úseku 18S – ITS1 – 5,8S – ITS2 – 28S. Produktem PCR z environmentálního

vzorku je směs ITS úseků ze všech organismů, na které fungovaly primery. Když chceme druhy určovat sekvenací, postupuje se klasickým postupem tak, že všechny fragmenty ligujeme do plasmidů a ty pak transformujeme do bakterií (stejný postup, jako když vytváříme DNA knihovnu, viz první díl seriálu). Bakterie potom vyséváme na misky tak, aby z každé bakterie vyrostla jedna kolonie. Potom z jednotlivých kolonií izolujeme plasmidovou DNA obsahující ITS fragmenty a sekvenujeme. Počet sekvenovaných kolonií závisí na našem rozpočtu a trpělivosti. Pokud jich sekvenujeme sto náhodně vybraných (to přijde asi na 10 000 Kč), získáme stovku ITS sekvencí, které potom určíme do druhu podle databáze sekvenovaných organismů (viz seriál v nultém ročníku) a podle zastoupení sekvencí z jednotlivých druhů můžeme i zhruba odhadnout, zda-li ve společenstvu převažuje jeden druh a nebo je tam mnoho vzácných. Mimo ITS můžeme použít mnoho dalších sekvencí, například intronů (které jsou velmi variabilní) uvnitř genů s konzervovanou sekvencí (například v genu kódující základní protein mikrotubulů, tubulin, v genech pro proteiny zajišťující translaci či transkripci a podobně).

Moderní postup: Nevýhoda předchozího postupu spočívá zejména v pracnosti sekvenování jednotlivých kolonií a strmě rostoucích nákladech při větších experimentech. Zcela nových obzorů však můžete dosáhnout při použití next-generation sekvenování (viz minulý seriál). Produkt PCR nemusíte ligovat do bakterií a sekvenovat jednotlivé klony, ale rovnou ho analyzujete například systémem Illumina, kterým získáte naráz sekvence prakticky všech ITS fragmentů, které jste získali PCR. Sice cena jednoho sekvenačního běhu dosahuje několika desítek tisíc korun, ale vytežíte miliony sekvencí, díky čemuž vám neuniknou ani vzácné druhy a získáte přesnější odhad druhového zastoupení.

Postmoderní postup: I předchozí přístup má svůj nedostatek. Při PCR se nemusí sekvence ze všech druhů stejně dobře kopírovat kvůli variabilitě, která se může vyskytnout v sekvencích rRNA genů, kde mají nasedat primery. Tak nám mohou unikat i celé skupiny organismů, které by měly více mutované geny pro rRNA. Avšak next-generation sekvenování je natolik citlivé, že není třeba provádět PCR krok a lze přímo sekvenovat celkovou izolovanou DNA! Získáte tak sekvence prakticky **všech** genů ze **všech** organismů, které se v prostředí vyskytly. Na základě těchto dat získáte přesnou informaci o přítomných druzích a jejich zastoupení, ale také z nich můžete rekonstruovat metabolickou síť zkoumaného ekosystému, protože máte sekvence i všech genů kódujících metabolické enzymy, které opět můžete určit dle podobnosti s databází a zjistit, jaké substráty zpracovávají. Toho se využívá u bakteriálních společenství v extrémních prostředích, jakými jsou rudné doly, termální prameny a podobně. Tento přístup se nazývá metagenomikou (genomika zkoumá celou genetickou informaci najednou a předpona meta- značí, že pracujeme napříč celým spektrem genomů). Metagenomika je skutečnou revolucí (zejména posledních pěti let) ve výzkumu mikroorganismálních společenství a v krátké době nám jistě přinese úplně nový náhled například na ekologii půdy, na funkci mykorhizní symbiosy, či na způsoby obživy

bakterií v nejextrémnějších prostředích a objeví mnoho zcela nových druhů (i skupin) mikroorganismů, o kterých se ani netušilo, že existují.

1. Metagenomickým přístupem bylo zjištěno, že nejhojnějšími organismy na Zemi jsou zástupci skupiny SAR11. Vypátrejte, kam tyto organismy patří. SAR11 byl pracovní název, jak se jmenuje typický zástupce?
2. Ve kterém biotopu, podle kterého i nese název, tento typický zástupce žije?
3. Organismus není snadno kultivovatelný, protože je adaptován na extrémně oligotrofní podmínky. Proč je jeho biotop tak oligotrofní a čeho je tam největší nedostatek?
4. Bioslavovi kamarádi se rádi baví tím, že mu přinášejí neznámé vzorky a on je s radostí určuje. Nyní obdržel epinku s tmavým amorfním obsahem. Shodou okolností mu Ježíšek přinesl zánovní přístroj Illumina a tak neváhal ani na chvíli, izoloval DNA a pustil ji do sekvenátoru. Zkuste za pomoci níže uvedených sekvencí a programu Blastn (viz seriál v nultém ročníku) vydedukovat, odkud asi vzorek pocházel (co nejpřesněji) a co předcházelo jeho vzniku! Představivosti se meze nekladou! Hodnotit se bude zejména logické odůvodnění provedené dedukce.

>HS2000-1005_88:6:2104:15214:172380

```
tggcagtcaccagtagaatatccctacatcattatcgccaaatagcctcaatt  
ctatatttctcattatcctagctttcctgccaattgcaggaatg
```

>HS2000-1005_88:6:2104:26584:148360

```
tcgcgatcagaggcgcaagatggctctagagaatccagaatgcgaaactcagag  
atcagcaagcagctgggataccagtggaatgcttactgaagcc
```

>HS2000-1005_88:6:2104:39573:254951

```
ttatctgtttataacggttgtgctatattgtacaatgatctccaactctttca  
aaattttataaatatctaaaaatagcactagcattggcattg
```

>HS2000-1005_88:6:2104:22764:653123

```
gagcggcaactcaaggaaatccctaaaagctcgctcccgttttagcgaataatga  
tctgtttaaaaaggctcgccaggccattatgaaattaaacaag
```

>HS2000-1005_88:6:2104:33432:142267

```
ccacttttaacagaaaggtagtgacgacaataactctattctttaacaaaa  
gaattgaaggaatgaacggaactacatagttttgtgaaagcaat
```

