

BIODIVERSITA – DEFINICE A VYSVĚTLENÍ ZÁKLADNÍCH POJMŮ

JAN VONDRÁČEK, PETRA LOVECKÁ,
ONDŘEJ UHLÍK, LUCIE MUSILOVÁ
a MARTINA MACKOVÁ

Ústav biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-
technologická v Praze, Technická 3, 166 28 Praha 6
loveckap@vscht.cz

Došlo 22.10.11, přijato 23.11.11.

Klíčová slova: diversita, gen 16S rRNA, taxonomie

Obsah

1. Biodiversita
 - 1.1. Strukturní diversita
 - 1.1.1. Druhová diversita
 - 1.1.2. Genetická diversita
 - 1.1.3. Ekosystémová diversita
 - 1.2. Funkční diversita
2. Druh
3. Taxonomie mikroorganismů
 - 3.1. Vývoj taxonomie mikroorganismů
 - 3.2. Gen 16S rRNA
 - 3.3. Další fylogenetické markery
 - 3.4. Role horizontálního přenosu
 - 3.5. Taxonomie současnosti
4. Závěr

1. Biodiversita

Biodiversita je definována jako různorodost života ve všech jeho formách a úrovních, ať už v rámci jednoho ekosystému, určitého biomu, či celé planety. Jde o variabilitu v rámci druhu i mezi různými druhy. Nelze ji sjednocovat s druhovou bohatostí, problematika biodiversity je mnohem komplexnější. Termín biologická diversita poprvé použil koncem 70. let 20. století Elliot R. Norse se svými kolegy, aby definoval diversitu na třech úrovních složitosti: genetická, druhová a ekologická diversita. Termín biologická diversita byl postupně zkrácen na dnes běžně používaný termín biodiversita. Tento termín byl širokou veřejností přijat až v 80. letech 20. století. Do této doby se používal termín „přírodní diversita“¹. Biodiversita se skládá ze dvou hlavních komponent. Jsou jimi strukturní diversita a funkční diversita.

Z pohledu mikrobiologie je obecně známo, že nejvíce mikroorganismů žijících na Zemi se vyskytuje v půdě. Mikroorganismy zde a obecně na celé planetě mají nezapustitelné role. Významně se podílí na koloběhu mnoha

prvků, zajišťují rozklad organických látek či fixaci plynného dusíku. I mezi mikroorganismy panují složité vztahy, které bez důkladného studia mikrobiálního života v reálném prostředí nelze pochopit. Celou situaci navíc komplikuje obrovská mikrobiální diversita.

1.1. Strukturní diversita

Pod tento pojem se řadí druhová, genetická a ekosystémová diversita.

1.1.1. Druhová diversita

Druhová diversita se zabývá celkovým počtem druhů a relativní hojností jednotlivých druhů. Kvantifikaci diversity se zabývalo mnoho vědců, vzniklo tedy několik vzorců, které se používají při měření druhové diversity¹.

Prvním je Simpsonův index diversity (SDI). Dle SDI (Simpson's diversity index/species diversity index) vyjadřuje, s jakou pravděpodobností bude náhodně vybraný druh totožný s jiným náhodně vybraným druhem. Počítá se dle rovnice (1), kde D je diversita, S je počet pozorovaných druhů, n je počet organismů patřících k jednotlivým druhům a N je počet všech organismů.

$$D = \frac{\sum_{i=1}^S n_i(n_i - 1)}{N(N - 1)}$$

SDI může nabývat hodnot v intervalu $(0,1>$, kde nižší hodnoty značí nekonečnou diversitu, zatímco $D = 1$ přítomnost jediného druhu. Čím větší hodnota je hodnota SDI, tím menší diversita. Úpravou rovnice (1) na rovnici (2) vznikne nejčastěji používaný tvar, kdy platí: čím větší je Simpsonův index, tím větší je diversita.

$$D = 1 - \frac{\sum_{i=1}^S n_i(n_i - 1)}{N(N - 1)}$$

Největší biodiversita se nachází v komunitě v případě přítomnosti mnoha druhů s relativně shodným zastoupením².

Dalším často používaným měřítkem diversity je Shannonův index (rovnice (3)), který roste s druhovým zastoupením i relativní hojností. Prakticky vyjadřuje entropii v komunitě. Proto platí: čím větší je entropie uvnitř komunity, tím větší je diversita.

$$H = - \sum_{i=1}^S \frac{n_i}{N} \ln \frac{n_i}{N}$$

S je počet pozorovaných druhů, n je počet organismů patřících k jednotlivým druhům a N je počet všech organismů.

1.1.2. Genetická diversita

Genetická diversita se vztahuje k počtu všech genetických charakteristik v druhovém složení, tzn. ke všem možným variacím nukleotidů, genů, chromosomů nebo celých genomů. Přítomnost unikátních genetických charakteristik odlišuje členy různých populací. U velkých populací bývá obvykle větší diversita genů v porovnání s populacemi menšími. Tato diversita indikuje větší potenciál pro evoluci nových kombinací genů a větší kapacitu pro evoluční adaptaci na různé podmínky. V malých populacích jsou jednotlivci geneticky, anatomicky a fyziologicky více homogenní než jednotlivci ve velkých populacích. Hůře se proto adaptují na různé podmínky³.

1.1.3. Ekosystémová diversita

Ekosystémová diversita je pojem, který zahrnuje jak habitat, tak diversitu uvnitř komunity. Habitat je lokalita, ve které organismy žijí. Tento pojem zahrnuje i fyzikální podmínky v prostředí. Komunita se skládá z populací rostlin a živočichů, které žijí na určitém území a ovlivňují navzájem sebe i okolí. Ekosystém je unikátní kombinací rostlin, živočichů a mikrobiálních komunit a neživých fyzikálních vlastností, které spolu interagují jako funkční jednotka. Základem v ekosystémové diversitě jsou tedy jak živé, tak neživé složky, což je největší rozdíl oproti genetické a druhové diversitě¹.

1.2. Funkční diversita

Funkční diversita odkazuje na variabilitu biologických procesů, funkcí a charakteristik konkrétního ekosystému⁴.

2. Druh

Abychom mohli studovat biodiverzitu a testovat různé biologické teorie, je nutno nejprve vysvětlit pojem „druh“.

Konkrétních definicí pojmu „druh“ je mnoho. Obecně se jedná o z taxonomického hlediska nejnižší základní kategorii hierarchické klasifikace organismů. Lidé se od nepaměti zabývali systematickým uspořádáním druhů. Nicméně vytvořit takový koncept, který bude zahrnovat všechny jednotlivce a uspokojivě je roztrídí do oddělených, rozeznatelných, v přírodě se přirozeně vyskytujících skupin organismů, je velice složité. Do roku 1997 bylo formulováno 22 univerzálních konceptů⁵. Systematici se v podstatě shodují v tom, co by měl takový koncept skýtat, přesto se názory na konkrétní provedení často liší. Největší neshody vznikají v oblasti eukaryota vs. prokaryota. Je zřejmé, že pravidla a zkoumané vlastnosti budou pro zařazování do druhů v oblasti eukaryot a prokaryot odlišná. Proto je nemožné navzájem porovnávat diversitu mikroorganismů a vyšších živočichů. Nutno dodat, že většina doposud vymyšlených konceptů se zaměřuje na oblast eukaryot. Koncepty pro prokaryota jsou víceméně uniformní⁶.

Vědecké koncepty by měly splňovat tři základní kritéria. Měly by být univerzální, snadno aplikovatelné a mít

teoretické prvky. Poslední dvě kritéria bývají často v protikladu. Čím teoretičtější bývá koncept, tím je složitější ho aplikovat. Teoreticky založené koncepty vnímají druhy jako entity složené z organismů, které zachovávají svou identitu v čase i prostoru, mají svou historii a určitý směr vývoje⁷. Naopak někteří biologové preferují pragmaticky založené koncepty bez teoretických podkladů. Ty jsou často založené na podobnosti charakteristik, které nemusí být nutně univerzální mezi všemi členy určitého taxonu. Patří mezi ně zejména fenetický a polythetický koncept. Fenetický koncept se snaží zařadit organismy podle celkové podobnosti, odvozené především dle morfologie a jiných snadno porovnatelných znaků, bez ohledu na fylogenetický původ. Polythetický koncept je založen na předpokladu, že různé skupiny organismů nevzešly ze společného předka, a je opakem monothetického, který z existence společného předka vychází. Existence společného předka byla dlouho diskutována. Až objevy v první půlce 20. století ukázaly, že všechny formy života mají podobné biochemické procesy, což vzhledem ke komplexitě životních procesů a tudíž nepravděpodobnosti jejich nezávislého vývoje vylučuje polythetický koncept. Nakonec je nutno zmínit koncept biologických druhů BSC (biological species concept). BSC pojednává o skupinách přirozeně se křížících populací s jedinečným vývojovým původem a historií, které mohou být reprodukčně odděleny od podobných skupin. Tato definice je nesmyslná pro organismy postrádající pohlavní rozmnožování, tzn. bakterie. Problém je i u vyšlechtěných zdomácnělých a hospodářských zvířat, která bývají začleněna do samostatných druhů, přestože jsou schopna křížení se svými divokými předky. BSC byl vytvořen hlavně pro živočišné rody, úspěšně ho lze aplikovat na hmyz a většinu bezobratlých a obratlovců. Je však velice obtížné aplikovat jej na rostliny a partenogeneticky rozmnožující se živočichy⁷.

3. Taxonomie mikroorganismů

3.1. Vývoj taxonomie mikroorganismů

První definice bakteriálních druhů byly založeny na principu monothetických skupin. Takové skupiny byly rozeznávány podle unikátních souborů vhodných vlastností, které byly neměnné a nezbytné pro definici druhu⁸. Tento systém měl své nedostatky. Díky některým proměnlivým vlastnostem často nebyly mikroorganismy přiřazeny do již existujících taxonů, ale byly vytvářeny nové. Často také docházelo k zařazení stejného bakteriálního druhu pod různé názvy. Zařazování prokaryot obecně bylo a stále ještě je silně ovlivněno fenetikou tzn. morfologií. Nemůže však být na ní založeno. V současnosti je pouze jedna entita, pro kterou je feneticky založený koncept širokou vědeckou veřejností přijat. Jedná se o viry⁹.

Postupem času začal převažovat názor, že rozlišování pouze na základě morfologických znaků vede k nestálosti celého systému. Pro úspěšné zařazení je nutno zohlednit fylogenetický původ, čehož bylo dosaženo zavedením

molekulárně biologických metod¹⁰. V polovině 20. století došlo s vývojem numerické taxonomie k radikálním změnám v celé koncepci. Důležitá byla tendence opouštět monothetický koncept na úkor fenetického a polythetického, v nichž jsou druhy vymezeny na základě velkého souboru na sobě nezávislých znaků, z nichž každý se může objevit i mimo tuto konkrétní skupinu. Nejedná se tedy o žádnou exkluzivitu v rámci skupiny^{9,11}. Fenetické analýzy byly často založeny na biochemických vlastnostech studovaných prostřednictvím chemotaxonomických markerů např. profilů mastných kyselin, polyaminů a chinonů¹². Cílem bylo vytvoření skupin kmenů hierarchicky seříděných podle podobnosti. Organismy na každé taxonomické úrovni sdílí společné znaky a jsou vymezeny popisem, který odlišuje jejich členy od ostatních organismů jiných taxonomických skupin té samé úrovně¹³. Fenotypová data se dělí do dvou skupin podle toho, zda zahrnují popis jedné konkrétní vlastnosti, nebo vícera. Do první skupiny patří biochemické a fyziologické reakce (barvení, buněčná morfologie, produkce pigmentů) a popisují pouze část celkového bakteriálního fenotypu. Do druhé skupiny patří vlastnosti, které tvoří komplexní vzory (složení buněčné stěny, profily proteinů a mastných kyselin, DNA profily)¹⁴.

Pravou revolucí byl však objev DNA jakožto molekuly nesoucí genetickou informaci. Zařazení genetických vlastností do souboru vlastností používaných k vymezení druhu vyvolalo důležité změny a ovlivnilo definici druhu. Obzvláště důležité bylo zavedení hybridizace celých genomů¹⁵. Četné pokusy ukázaly, že existuje jistá spojitost mezi sekvenční podobností DNA a příbuzností odvozené z vyhodnocených fenotypových a chemotaxonomických dat⁸. Taxonomové v 80. letech na základě mnoha výpočtů určili numerické hranice, které limitují příbuznost k určitému druhu. Od té doby se do jednoho druhu řadí mikroorganismy, které vykazují fenotypovou podobnost, a jejichž DNA vykazuje minimálně 70% hybridizaci a teplota její denaturace se neliší o více než 5 °C. Experimenty však ukázaly, že tyto hranice nemohou být považovány za absolutní. V některých případech je nutno používat rozptýlenější hodnoty⁶. Využívání hybridizace jako primární metody bylo obecně kritizováno pro nedostatek publikovaných podkladů a nemožnost vytvoření souhrnné databáze¹⁶. Začala se hledat metoda, která by DNA hybridizaci plně nahradila. Zlomem bylo objevení genu 16S rRNA spolu se zavedením PCR a Sangerovy metody sekvenace. Prvními dvěma sekvenovanými bakteriální genomy byly *Haemophilus influenzae* a *Mycoplasma genitalium*. Předpokládalo se totiž, že znalosti genů patologických mikroorganismů mohou napomoci při boji s infekčními onemocněními¹⁷. Znalost celého genomu je velice důležitá. Nejen, že můžeme říct, které geny organismus má, ale také můžeme mluvit o genech, které naopak nemá.

Pro fylogenetické účely tehdy nebyla nutná znalost celého genomu, důležitá byla sekvence fylogenetických markerů. Nejpoužívanějším je gen 16S rRNA.

3.2. Gen 16S rRNA

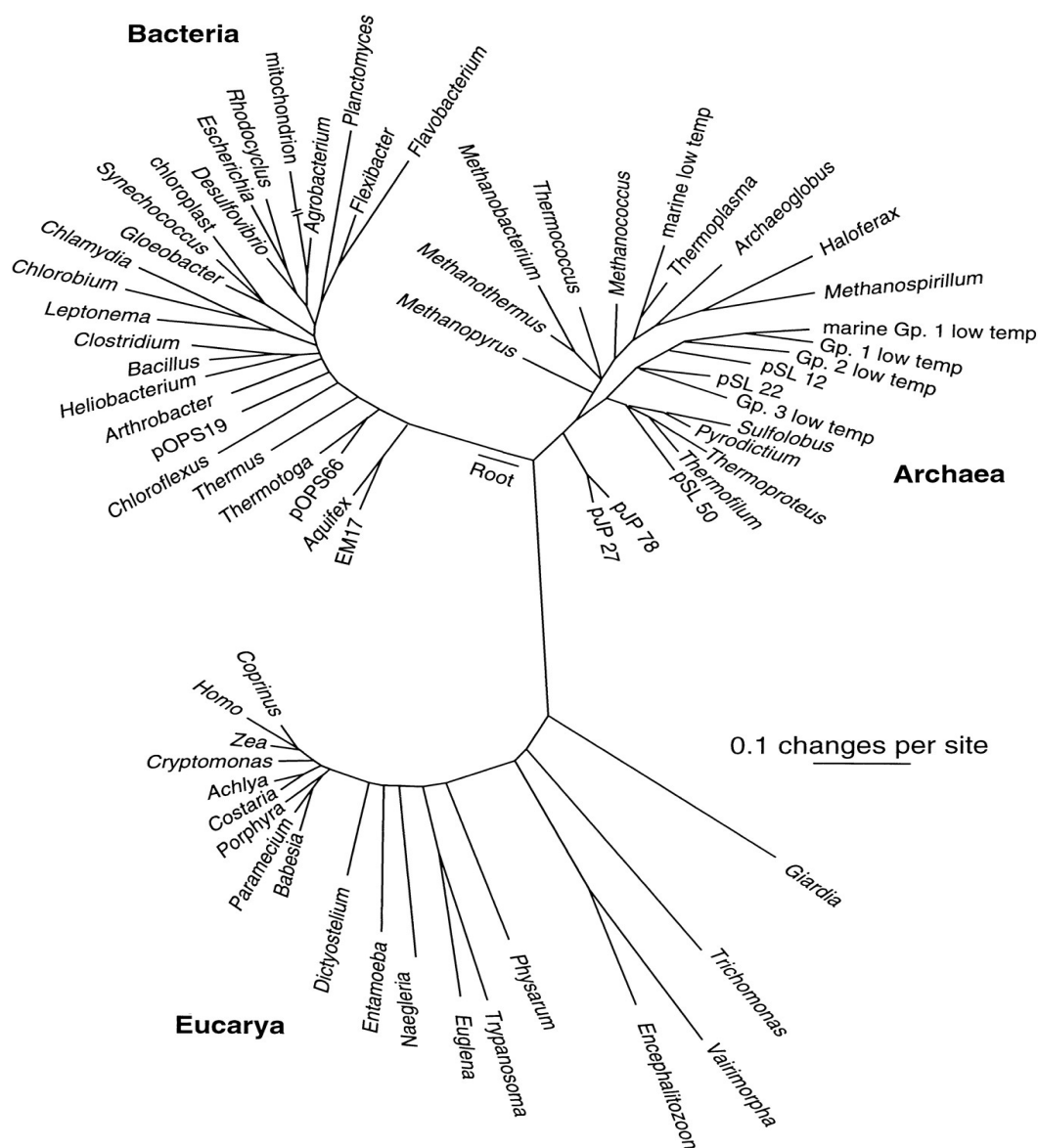
Mikroorganismy nezanechaly mnoho fosilních vzorků, proto je celá fylogenetika založena na nepřímých důkazech zprostředkovaných analýzou sekvencí genů, které vyjadřují rychlost genetické změny v závislosti na čase. Předpokládalo se, že z těchto dat je možné odvodit případné historické vztahy¹⁴. Ribozomální RNA je pro tyto účely ideální hned z několika důvodů. Je přítomna u všech organismů od bakterií až po zvířata a rostliny. Sekvence a sekundární struktura jsou složeny z konzervativních domén, které jsou společné všem organismům, a variabilních úseků, které mohou odlišit různé skupiny organismů. Stálost rRNA umožňuje navržení primerů, které budou interagovat s DNA všech organismů ve vzorku¹⁸.

Ribozomální RNA je obecně velmi konzervovaná (kolem 50 %), protože velké změny v sekvenci by způsobily narušení funkce ribozomu, a tím zastavení proteosyntézy, která je pro buňku životně důležitým procesem¹⁹. Přesto jsou geny 16S a 23S (nebo 18S a 28S u eukaryotních organismů) dostatečně dlouhé natolik, aby obsahovaly mnoho evolučních informací. Vůbec prvním genem používaným pro tento účel byl 5S rRNA. Kvůli malé velikosti (asi 120 nukleotidů) a tudíž nízkému obsahu informací byl nahrazen genem 16S rRNA (cit.¹⁷).

Díky pokroku v oblasti sekvenačních metod a polymerasové řetězové reakce (PCR), která umožnila jednoduše amplifikovat geny 16S rRNA a 23S rRNA, došlo k rozvoji fylogenetických studií. Tyto studie potvrdily monofyletický původ různých kmenů. Hlavně však přispěly k objevu archaí. Vzhledem k zavedenému dichotomnímu systému bylo pro mnohé biology těžké přijmout fakt, že kromě bakterií a eukaryot existuje ještě třetí skupina organismů. Na základě informací získaných z ribozomální RNA mnoha organismů došlo k vytvoření prvního fylogenetického „stromu života“ (obr. 1). Ten obsahoval 13 hlavních bakteriálních skupin monofyletického původu¹⁹. Tvořily je však pouze kultivovatelné bakterie. Dnes toto číslo přesáhlo 40 a předpokládá se, že existuje ještě mnoho skupin obsahujících převážně nekultivovatelné bakterie²⁰. Z tohoto důvodu je i současný „strom života“ stále dosti neúplný. Podstatná část bakteriální diversity na Zemi je tedy stále ještě neprostudována²¹.

Při studiu diversity někdy není nutné gen sekvenovat, pro monitorování změn mohou stačit poznatky získané z vlastností, jako je velikost genu či přítomnost restrikčních míst. Pro získání maxima informací a hlavně identifikaci je nutno získat jeho sekvenci. Sekvence genu izolovaného a následně amplifikovaného z čisté kultury je možná přímo, ze směsných vzorků bylo ještě donedávna nutno gen nejprve klonovat pomocí vektoru a ten pak po izolaci vektoru

z jednotlivých kolonií sekvenovat. Díky rozvoji pyrosekvenačních metod tento krok již není nutný, nicméně kvůli finanční náročnosti pyrosekvenační analýzy jde stále o běžně používaný postup. Získaná sekvence se porovnává se sekvencemi z různých databází. V roce 2001 bylo v RDP (Ribosomal Database Project) databázi přes 20 000

Obr. 1. Fylogenetický strom¹⁸

sekvencí genu 16S rRNA (cit.²²). V roce 2009 obsahovala databáze SILVA přes 400 000 ověřených sekvencí²³. RDP obsahuje v současnosti (28.3. 2011) přes 1 600 000 sekvencí.

Pro identifikaci většinou stačí úsek dlouhý 300 až 500 bp, přičemž hodnota podobnosti v rozmezí 99–100 % se považuje s vysokou pravděpodobností za výslednou identifikaci²⁴. Důležité je vybrat správný úsek genu. Nejlepší je zacílit studium na 500 bp v nejvariabilnější oblasti. Umístění této oblasti se u různých mikroorganismů liší. Např. pro identifikaci laktobacilů většinou postačí prvních 500 bp, někdy to však může být až 900 bp. Např. *Lacto-*

bacillus casei a *L. paracasei* jsou podle sekvence genu 16S rRNA velice těžko rozlišitelné²⁵. Jak již bylo zmíněno, k zařazení dvou mikroorganismů do jednoho druhu je nutná 70% hybridizace DNA, což odpovídá 95% shodě v sekvenci všech ortologních genů v celém genomu. Dále byla zjištěna minimálně 98,5% homologie v genu 16S rRNA u mikroorganismů patřících k jednomu druhu. Opačně to však nefunguje. 98,5% homologie genu 16S rRNA se může vyskytnout u fylogeneticky blízkých bakterií, které mají vysokou podobnost sekvence genu 16S rRNA, zbytek genomu se však liší²⁶. Z tohoto důvodu nemožno být zařazeny do jednoho druhu. Při identifikaci mikro-

organismů na základě sekvence genu 16S rRNA se proto nepoužívá termín druh, ale OTU (Operational Taxonomic Unit). Příkladem je *Bacillus subtilis* a *B. mojavensis*. Jejich geny 16S rRNA jsou identické, což dokazuje jejich teprve nedávné oddělení ve fylogenetickém stromu a vylučuje jejich rozlišení pomocí analýzy genu 16S rRNA (cit.²⁷). Dalším příkladem je *Escherichia coli*, kterou není možné na základě sekvence genu 16S rRNA spolehlivě rozeznat od *Shigella dysenteriae*²³.

Geny 16S rRNA se mění tak pomalu, že jsou vhodné pro studium evoluce²⁸. Při snaze o rozlišení fylogeneticky blízkých mikroorganismů se ale tato obrovská konzervace stává nevýhodou.

3.3. Další fylogenetické markery

K porovnání takto blízkých organismů je potřeba použít méně konzervativní geny. Proto se objektem zájmu mnohých studií staly funkční geny. Ty se mění mnohem rychleji a jejich diversita je tedy vyšší. Přesto studie jednoho funkčního genu opět podceňují mikrobiální diversitu, protože organismy, které mají identické sekvence DNA na jednom lokusu, mohou mít různé sekvence na těch ostatních. Pro vypovídající studium genetické diversity je potřeba charakterizovat každý genom přítomný v komunitě²⁹.

Mezi používané markery patří např. σ gen *rpoB* (RNA polymerasa), který se vyskytuje vždy v jedné kopii a umožňuje tedy lepší rozlišení mezi druhy³⁰. Mezi další geny pro amoniakmonooxygenasu (*amoA*), methanmonooxygenasu (*pmoA*)³¹, α a β podjednotky ATP synthasy a elongační faktory EF-G and EF-Tu (cit.²³).

3.4. Role horizontálního přenosu DNA

Problémem při tvorbě fylogenetických stromů je horizontální přenos DNA, který hraje obrovskou roli v evolučním vývoji. Tento děj byl znám už hodně dlouho, speciální pozornost mu byla věnována vzhledem k zodpovědnosti za šíření rezistence k antibiotikům³². Původně se předpokládalo, že vliv horizontálního přenosu na určování fylogenetického vývoje je malý, a proto se ignoroval. Opak je pravdou, v extrémních případech se mohou geny dvou organismů patřících ke stejnému druhu lišit až o 20 % (cit.³³). Experimenty dokonce prokázaly horizontální přenos DNA mezi bakteriemi a archaei³⁴. Proto mnoho vědců začalo zpochybňovat celý fylogenetický koncept založený na studiu rRNA. Tvrdili, že již není možné určit genetickou informaci prapředka, protože byla smazána. Čím později budeme studovat určitou bakteriální linii, tím více genů bude narušeno horizontálním přenosem a tím méně je genů, které sdílí společnou historii. Proto je otázka, zda je vůbec smysluplné hovořit o fylogenetických stromech založených na genových sekvencích, když jen minimum genů sdílí společnou historii. Dvojnásob to platí pro fylogenetické stromy popisující fylogenetický vývoj organismů, které jsou z nich odvozeny. Konkrétní geny v nich vlastně reprezentují organismus jako celek. Tyto dva stromy se nemusí shodovat, protože organismy se

neliší pouze evolučními změnami jednotlivých molekul, ale i jejich zastoupením a složením. Čím více se vracíme v čase a blížíme k počátku fylogenetického stromu, tím více vyplývají najevo nedostatky a dochází k významným odlišnostem. Nesrovnalosti se objevují i při porovnání dvou fylogenetických stromů založených na rozdílných molekulách. Porovnáme-li určitou část fylogenetického stromu založeného na genu 16S rRNA s homologickou částí fylogenetického stromu odvozeného od proteinů, zjistíme, že si odporují. Proto když se provádí fylogenetická analýza určitého genu přítomného v různých organismech, závěry z analýzy vyvozené by se měly aplikovat pouze pro tento jeden konkrétní gen, nikoliv pro ostatní geny nebo dokonce celý organismus²³. Současné poznatky však ukazují, že k horizontálnímu přenosu genů u fylogenetických markerů dochází jen mezi velice blízké příbuznými mikroorganismy, fylogenetický strom odvozený od genu 16S rRNA tedy pravděpodobně horizontálním přenosem DNA významně ovlivněn není.

Již od 50. let 20. století víme, že i přes prakticky stejnou strukturu molekuly proteinu se jeho sekvence u různých druhů významně liší. Rychlost změny může být taková, že odpovídající molekula proteinu u dvou velice příbuzných druhů má naprosto odlišnou strukturu. Z toho vyplývá, že tyto změny postihují oblasti, které nesouvisejí s její funkcí. Druhým extrémem jsou molekuly, které jsou velice neměnné, těch je však menšina. Jen malá část genů byla schopna „odolat“ horizontálnímu přenosu genů po dobu několika miliard let. Evoluce je tedy výsledkem souhry vertikálního a horizontálního přenosu. Jakou mírou se oba typy na výsledné změně genetické informace podílí, závisí na prostředí, stavu organismu, typu selekčního tlaku a celkové buněčné organizaci. Samozřejmě dochází k častější výměně genetické informace mezi organismy, které mají sklon k životu ve stejném prostředí. Organismy, které jsou ve stresu, adaptují se na nové životní prostředí, ochotněji přijímají cizí geny než organismy, které jsou k životu v jejich životním prostředí perfektně přizpůsobeny. Organismy s jednoduchou stavbou budou častěji využívat cizí genetické informace než jejich precizně stavěné protějšky. V poslední řadě, čím příbuznější jsou si organismy, tím širší je paleta genů, které mohou být přeneseny¹⁷.

3.5. Taxonomie v současnosti

Obecně se v současnosti při zařazování prokaryot zohledňují jak fenotypické, tak fylogenetické vlastnosti⁸. Pro adekvátní zařazení mikroorganismů do příslušných druhů je nutno prostudovat celou vnitřní diversitu taxonů co nejširší paletou metod, které studují mikroorganismy na základě obou nejdůležitějších zdrojů informací: genomické parametry a fenotypové vlastnosti. Jedná se o tzv. polyfázový přístup. Genomické parametry jsou získány přímo sekvenací genů nebo z dat získaných z celé škály metod (T-RFLP, DDGE, TTGE, SIP)³⁵. Fenotypové vlastnosti vznikají expresí genomu. Řadí se mezi ně různé viditelné (tvar, inkluzní tělíska, bičíky) nebo jinak měřitelné fyzikální a biochemické (teplotní rozmezí růstu, koncentrace solí,

rezistence k antimikrobiálním agens, enzymatická aktivita, metabolismus různých substrátů) vlastností organismu. Svůj význam mají i chemotaxonomické markery. Patří sem analýza složení buněčné stěny, mastných kyselin, isoprenoidních chinonů, polyaminů atd. Dalšími technikami jsou tvorby různých elektroforetických profilů (buněčné proteiny, lipopolysacharidy) a spektroskopie (infračervená spektroskopie spojená s Fourierovou transformací, Ramanova spektroskopie)¹.

4. Závěr

Půdní mikroorganismy hrají důležitou roli v ekosystémech. Podílejí se na rozkladu organické hmoty, recyklaci živin, koloběhu prvků, slouží jako potrava na nejnižších úrovních potravního řetězce. Mikroorganismy jsou také schopny detoxifikovat nebo degradovat různé polutanty a dekontaminovat tak zamořené ekosystémy. Jsou různě enzymaticky vybaveny, každý má v přírodě svou roli a dohromady tvoří téměř dokonalý nástroj na odbourání čehokoliv. Účinnost biodegradace závisí na složení bakteriální populace, která se může měnit v závislosti na přírodních podmínkách. Některé chemické sloučeniny, nebo produkty jejich degradace, mohou být toxické a vytvářet silný selekční tlak, kterému odolá jen pár druhů. Tyto změny ve složení mikrobiálních společenstev mohou vážně narušit mnohé funkce ekosystému. Na druhou stranu jsou tyto přeživší druhy k životu v těchto podmínkách adekvátně přizpůsobeny, jsou proto nejlepšími potenciálními kmeny se schopností specifické degradace. Všechny tyto děje jsou přímo závislé na složení bakteriální komunity, která na základě rozvoje molekulárně-biologických metod je stále častěji předmětem studia.

Autoři děkují za finanční podporu grantům MINO-TAURUS (FP7-KBBE-2010-4/265946) a GA 525/09/1058.

LITERATURA

1. Bull A. T.: *Microbial Diversity and Bioprospecting*. ASM Press, Washington DC 2004.
2. Huston M. A.: *Biological Diversity: The Coexistence of Species on Changing Landscapes*. Cambridge University Press, Cambridge 1994.
3. Andayani N., Morales J. C., Forstner M. R. J., Supriatna J., Melnick D. J.: *Conserv. Biol.* 15, 1545 (2001).
4. Tilman D., Lehman C.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98, 5433 (2001).
5. Mayden R. L.: *Species: The Units of Biodiversity* (Claridge M. F., Dawah H. A., Wilson M. R., ed.), kap. 5. Chapman & Hall, London 1997.
6. Rosselló-Mora R., Amann R.: *FEMS Microbiol. Rev.* 25, 39 (2001).
7. Hull D. L.: *Species: The Units of Biodiversity* (Claridge M. F., Dawah H. A., Wilson M. R., ed.), kap. 12. Chapman & Hall, London 1997.
8. Goodfellow M., Manfio G. P., Chun J.: *Species: The Units of Biodiversity* (Claridge M. F., Dawah H. A., Wilson M. R., ed.), kap. 3. Chapman & Hall, London 1997.
9. Van Regenmortel M. H. V.: *Species: The Units of Biodiversity* (Claridge M. F., Dawah H. A., Wilson M. R., ed.), kap. 2. Chapman & Hall, London 1997.
10. Perkins S. L.: *Proc. R. Soc. London, Ser. B* 267, 2345 (2000).
11. Sneath P. H. A., Sokal R. R.: *Numerical Taxonomy*. Freeman, San Francisco 1973.
12. Goodfellow M., Minnikin D. E.: *Chemical Methods in Bacterial Systematics*. Academic press, London 1985.
13. Colwell R. R., Clayton R. A., Ortiz-Conde B. A., Jacobs D., Russek-Cohen E.: *Microbial Diversity and Ecosystems Function* (Allsopp D., Colwell R. R., Hawksworth D. L., ed.), kap. 1. CAB International, Oxon 1995.
14. Young J. M.: *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51, 945 (2001).
15. Grimont P. A.: *Can. J. Microbiol.* 34, 541 (1988).
16. Stackebrandt E., Frederiksen W., Garrity G. M., Grimont P. A. D., Maiden M. C. J., Nesme X., Swings J., Rosselló-Mora R., Vauterin L., Ward A. C., Whitman W. B.: *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 52, 1043 (2002).
17. Staley J. T., Reysenbach A. T.: *Biodiversity of Microbial Life*. Willey-Liss, New York 2002.
18. Pace N. R.: *Science* 276, 734 (1997).
19. Woese C. R.: *Microbiol. Rev.* 51, 221 (1987).
20. DeLong E. F., Pace N. R.: *Syst. Biol.* 50, 1 (2001).
21. Hugenholtz P., Goebel B. M., Pace N. R.: *J. Bacteriol.* 180, 4765 (1998).
22. Maidak B. L., Cole J. R., Lilburn T. G., Parker C. T. J., Saxman P. R., Farris P. J.: *Nucleic Acids Res.* 29, 82 (2001).
23. Pace N. R.: *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 73, 565 (2009).
24. Valente P., Ramos J., Leoncini O.: *Can. J. Microbiol.* 45, 949 (1999).
25. Simpson K. L., Pettersson B., Priest F. G.: *Microbiology* 147, 1007 (2001).
26. Cole J. R., Konstantinidis K., Farris R. J., Tiedje J. M.: *Environmental Molecular Microbiology* (Liu W. T., Jansson J. K., ed.), kap. 1. Caister Academic Press, Norfolk 2010.
27. Roberts M. S., Nakamura L. K., Cohan F. M.: *Int. J. Syst. Bacteriol.* 44, 256 (1994).
28. Uhlík O., Ječná K., Macková M., Leigh M. B., Demnerová K., Macek T.: *Chem. Listy* 102, 474 (2008).
29. Rondon M. R., August P. R., Betterman A. D., Brady S. F., Grossman T. H., Liles M. R.: *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 2541 (2000).
30. Dahllöf I., Baillie H., Kjelleberg S.: *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 3376 (2000).
31. Liesack W., Dunfield P. F.: *Encyclopedia of Environmental Microbiology* (Bitton G., ed.), kap. 12. J. Wiley, New York 2002.
32. Veal D. A., Stokes H. W., Daggard G.: *Advances in*

- Microbial Ecology* (Marshall K. C., ed.), kap. 13. Plenum Press, New York 1992.
33. Boucher Y., Nesbø C. L., Doolittle W. F.: *Curr. Opin. Microbiol.* 4, 285 (2001).
 34. Christoserdova L., Vorholt J. A., Thauer R. K., Lidstrom M. E.: *Science* 281, 99 (1998).
 35. Kotrba P., Uhlík O., Ječná K., Macková M., Macek T.: *Chem. Listy* 102, 960 (2008).

J. Vondráček, P. Lovecká, O. Uhlík, L. Musilová, and M. Macková (*Department of Biochemistry and Microbiology, Institute of Chemical Technology, Prague*): **Diversity – Definition and Clarification of Key Concepts**

Biological diversity is of fundamental importance for the functioning of all natural and human-engineered ecosystems and, by extension, for the ecosystem services that Nature provides, free of charge, for human society. Biodiversity is most frequently quantified as the number of species. Microbial diversity has driven the evolution of all life on Earth as well as the nutrient cycles, which are key for the operation of the biosphere. The review explains basic concepts of diversity studies such as structural, generic, genetic or functional diversity and describes evolution of taxonomy.

Ústav lékařské chemie a biochemie Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci vypisuje konkurs na přijetí do doktorského studia v oboru **Lékařská chemie a biochemie**.

Výzkumné zaměření:

- chemoprotektivní účinky přírodních látek
- biologické účinky nanočástic a nové materiály v medicíně
- studium metabolismu a úloha lidského mikrobiomu v metabolismu cizorodých látek
- elektrochemické senzory a membránové separace v experimentální medicíně
- studium angiogeneze *in vitro*

Konkrétní Ph.D. témata lze dohledat na <http://www.medchem.upol.cz>

Termín pro podání přihlášky: **20.5.2012**

Kontakt: Prof. RNDr. Jitka Ulrichová, CSc., Hněvotínská 3, 775 15 Olomouc, Tel: 585 632 302, e-mail: medchem@tunw.upol.cz
