

Evoluce na stole v Petriho misce

Cílem je prakticky prokázat, zda mutace vznikají v organismu spontánně, nebo jako odpověď na vliv prostředí. Tedy způsobem přirozeného výběru popsáným Darwinem, nebo jak se domníval Lamarck, že se organismy přizpůsobují pouze díky okolnímu prostředí. Většina lidí, zvláště laičtí kritici Darwina, nechápou ani základní principy evoluce a oba přístupy směšují. Tímto experimentem je možno studenty naučit některým evolučním principům a nechat je vyzkoušet si jednoduchou práci s kultivací bakterií. Původní experiment provedli Max Delbrück a Salvador Luria v roce 1943, v roce 1969 získali Nobelovu cenu zčásti právě za tuto práci. Se studenty je možno provést jednodušší modifikaci, kterou provedl Newcombe v roce 1949 a publikoval v Nature, (Newcombe 1949). Studenti sami ověří, zda mutace vznikají cíleně, nebo náhodně.

Využité přístroje:

Automatické pipety nebo kapátka, termostat, Papinův hrnec

Cílová skupina/náročnost:

2. ročník SŠ a odpovídající ročníky gymnázií

Autor:

Mgr. Jaroslav Pavelka, Ph.D.

Všechny uvedené texty, obrázky a videa jsou vlastní, není-li uvedeno jinak. Autory Youtube embed videí lze nalézt při kliknutí na znak Youtube ve videu během přehrávání.

K plnohodnotnému využití této studijní opory je nutný přístup k on-line zdrojům a materiálům.

Tento materiál vznikl z finanční podpory Evropského sociálního fondu a státního rozpočtu České republiky v rámci projektu „Popularizace vědy a badatelsky orientované výuky“, reg .č. CZ.1.07/2.3.00/45.0007.

1 Evoluce na stole v Petriho misce

Anotace

Cílem je prakticky prokázat, zda mutace vznikají v organismu spontánně, nebo jako odpověď na vliv prostředí. Tedy způsobem přirozeného výběru popsaném Darwinem, nebo jak se domníval Lamarck, že se organismy přizpůsobují pouze díky okolnímu prostředí. Většina lidí, zvláště laičtí kritici Darwina, nechápou ani základní principy evoluce a oba přístupy směřují. Tímto experimentem je možno studenty naučit některým evolučním principům a nechat je vyzkoušet si jednoduchou práci s kultivací bakterií. Původní experiment provedli Max Delbrück a Salvador Luria v roce 1943 v roce 1969 získali Nobelovu cenu, zčásti právě za tuto práci. Se studenty je možno provést jednodušší modifikaci, kterou provedl Newcombe v roce 1949 a publikoval v Nature (Newcombe 1949). Studenti sami ověří, zda mutace vznikají cíleně, nebo náhodně.

Cíle a cílové výstupy

Cílem tématu je seznámit studenty pomocí praktické činnosti s evolučními principy, zejména se vznikem mutací a selekcí, ale vhodné je seznámit je také teoreticky s driftem nebo sexuální selekcí či evolučními trendy, vysvětlit základy darwinismu a lamarkismu a uvést i některé další teorie, zejména teorii přerušovaných rovnováh. V průběhu práce se studenti prakticky naučí kultivovat bakterie na agaru a vyzkouší si některé klasické postupy bakteriologie.

Výstupy by měly zahrnovat získání znalostí a být inspirací pro další studium bakteriologie a evoluční biologie a vést k zájmu o laboratorní práci. Ověření znalostí je možno provádět např. tak, že studenti samostatně vypracují protokol a pokusí se vlastní výsledky zpracovat dle literatury.

Cílová skupina

Cílovou skupinou by měli být studenti 1.-2. ročníku čtyřletého gymnázia nebo 5.-6. ročníku osmiletého gymnázia se zájmem o přírodní vědy, nicméně se základním vybavením lze úlohu provést v zjednodušené formě (především ohledně vyhodnocení) i na základních školách v rámci nepovinného předmětu i zájmových biologických kroužků.

Časová náročnost

Časová náročnost se odvíjí podle toho, zda si budou studenti sami připravovat agar s kultivačním médiem, nebo ho škola zakoupí již hotový a kolik času vyučující zvolí nateoretický výklad. První část by mohla trvat dvě vyučovací hodiny, případně teoretická část dvě hodiny a praktická další dvě. Případně i více, podle představ vyučujícího o rozsahu výkladu o evoluci a bakteriologii. Následně další tři dny přeočkování cca po 15-30 minutách a další týden 1-2 hodiny na vyhodnocení. Pokud striktně vyjdeme z kitu, který pro tento pokus nabízí firma Carolina, (Evolution in Real Time: Bacteria and Antibiotic Resistance) (URL 1), příprava 30 – 90 min (1-2 vyučovací hodiny), 2-7 dnů příprava a práce v laboratoři 30 – 60 min, (1-2 vyučovací hodiny), závěr 60 – 90 min (1-3 vyučovací hodiny).

Pomůcky, přístroje a materiál

Bakterie *Escherichia coli*, antibiotikum (např. tetracyclin, ampicilin), kultivační médium (LB- Agar 10 g trypton, 5 g kvasničný extrakt, 10 g chlorid sodný, 15 g agar, pH 7,0 – možno zakoupit hotové). Sametová tkanina nebo obdobná (např. velur), která potahuje razítko odpovídající velikosti Petriho misce, vyrobené např. z molitanu, Petriho misky, Papinův hrnec, očkovací kličky, nebo prostě můžeme zakoupit od firmy Carolina kit pro tento experiment, který vše obsahuje v ceně 50 dolarů pro jednu skupinu 2-4 studentů, nebo za 105 dolarů pro 8 skupin po 2-4 lidech, musíme však připočítat poštovné z USA.

Automatické pipety nebo kapátka, termostat (nebo elektrickou troubu nastavitelnou od 30°C, nebo v topné sezóně, plech na ústředním topení a vhodný teploměr, kterým nastavíme teplotu topení na povrchu na cca 37 °C).

2 Úvod do tématu

Úvod dotématu

Pojem evoluce je velmi často užíván, ale obvykle jen na teoretické úrovni. V této úloze si mohou studenti vyzkoušet vznik mutací a selekci vlastníma rukama. Učitel i studenti mohou vycházet z klasických prací nositelů Nobelovy ceny a jejich pokračovatelů (viz Luria 1984, Luria a Delbrück 1943, Newcombe, H. B., 1949, Zheng 1999, Zheng 2010) a z naučné literatury, která se těchto klasických témat dotýká (Rosypal 1981), a také z nedávné diskuze a zpochybňování evoluce.

Luria-Delbrückův experiment jasně ukazuje, že v bakteriích vznikají genetické mutace samovolně i za nepřítomnosti vlivu prostředí a tedy selekce, spíše než jako odpověď organismu na prostředí. Z těchto experimentů bylo jasné, že náhodně vzniklé mutace podléhají Darwinově teorii přirozeného výběru a právě bakterie se ukázaly jako vhodný model, kde se tento fenomén dobře identifikovat. Tak vznikl tzv. flukтуаční test. Použili bakterie citlivé k bakteriofágu (bakteriálnímu viru) T1, které kapali na Petriho misky, které už na sobě měly tohoto bakteriofága. Pokud by mutace vznikaly bez jakéhokoliv vlivu vnějšího prostředí, pak by počet kolonií odolných buněk na miskách závisel pouze na tom, kdy během kultivace k mutaci v bakteriální kultuře došlo. Pokud platí Darwinova představa, neměla by na většině misek být žádná kolonie bakterií, protože mutace vznikají vzácně, ale na některých by nějaké kolonie byly a vzácněji i hodně kolonií, protože vhodná mutace byla už přítomna někdy na začátku pokusu, kdy došlo k vysetí bakterií. A přesně tomuto odpovídaly výsledky. Tedy darwinismu.

Objevily se však kritiky. Protože kritika darwinismu je populární téma u kreacionistů, věnujeme jí obsáhleji, ale zkusíme to na odbornější úrovni. Hlavní kritik flukтуаčního testu byl John Cairns se spolupracovníky (Cairns a kol. 1988, Storchová 1995), jeho námitky v populárním článku charakterizuje tak, že bakterie prostě vůbec neměly čas prokázat svou (potenciální) schopnost tvořit vhodné mutace. Luria i Delbrück si toho byli dobře vědomi a v diskusi ke svým výsledkům uvedli, že „zcela jiná situace by byla zřejmě v případě mutací genů energetického metabolismu“, při níž by bylo možno použít neletální selekci, takže bakterie by nezahynuly ihned. Jejich hlas zřejmě zanikl v radostných ovacích nad vyřešením problémů s mutacemi (Storchová 1995). Zrzavý a kol. (2003) Luria a Delbrückův pokus svým typickým způsobem popisují tak, že příště by bylo možno se stejným oprávněním zkoumat, zda se zajíc dokáže adaptovat na kulku v lebce a myš na páteř přeraženou sklápací pastí, a zjistit, že rovněž nikoli. T-bakteriofágy totiž buňky bakterií jednorázově zabíjejí a rozhodně jim nedávají čas na proběhnutí vůbec žádných evolučních procesů, a to ani procesů lamarckovských, které by měly být podstatně rychlejší než procesy darwinovské (Zrzavý a kol. 2003).

Cairns se spolupracovníky uspořádali pokus takto: pracovali s bakteriemi mutovanými v genu pro enzym β galaktozidázu. Tyto bakterie nejsou schopny využívat jako zdroj uhlíku a energie laktózu, nicméně vysejeme-li je na selektivní médium (médium, kde vytvoří kolonii jen buňky s určitou vlastností; v tomto případě médium s laktózou), nezahynou ihned, ale ještě několik dní celkem dobře přežívají – mají tedy čas ukázat, zda si dovedou se svízelnou situací poradit (viz Cairns a kol. 1988, Storchová 1995). Při tomto uspořádání Cairnsova skupina zjistila, že se na miskách s laktózou objeví asi po 2 dnech (tedy v době, kdy mají řádné bakteriální kolonie narůst) několik málo kolonií zřejmě spontánních mutantů a že ještě několik dalších dní přibývají kolonie nové. Tyto „opozděné“ kolonie vrostly zřejmě z buněk, které potřebnou mutaci získaly v době, kdy se už bakterie na misce nedělily (protože se dělit nemohly, nemají energie nazbyt). Cairns navíc prokázal, že se tyto pozdní mutace objevují skutečně pouze v přítomnosti laktózy a že jsou specifické, neboť se týkají jenom toho genu, jehož změna umožní buňce vyřešit kritickou situaci. Bakterie tedy zjistily, že by se jim ztraceně hodil gen pro β -galaktozidázu, a jelikož byl poškozený, opravily si jej (viz Cairns a kol. 1988, Storchová 1995).

Cairns navrhl že nejenom replikace, ale i transkripce (přepis z DNA do RNA) může být mutagenní, takže každý organismus produkuje z jednoho genu různorodou sadu molekul mRNA. Náhodou přepsána molekula mRNA s takovou „chybou“, že jejím překladem vznikne bílkovina správná a buňka náhle získá ten jediný enzym, který potřebovala k růstu (stačí i jen několik málo molekul). Jakýsi (dosud neznámý) monitorovací systém zaregistruje onu správnou mRNA, zapamatuje si ji a udržuje v dohledu a ve vhodném okamžiku ji reverzní transkriptázou přepíše z RNA do DNA, takže vznikne příslušný správný gen. Buňka mezitím začne růst a replikovat DNA, takže potřebná mutace je natrvalo zaznamenána (viz Cairns a kol. 1988, Storchová 1995). Tahle hypotéza se dodnes do roku 2015 nepotvrdila a už v době vzniku zněla dost nevěrohodně. Nicméně výzkum pokračoval. Než se o něm zmíníme, nejdřív si uvědomme jednu zcela zásadní věc pro bakterie. Mají tzv. plazmidy, což jsou malé kruhové molekuly DNA v buňce, které jsou pro základní funkce nepotřebné, ale mohou nést další geny navíc, třeba právě pro rezistence k antibiotikům, nebo třeba gen pro β -galaktozidázu. A tyto plazmidy si buňky mohou vyměňovat a při výměnách dochází k replikaci DNA těchto molekul nastávají i častěji chyby, zvláště při hladovění, jako v případě Cairnsových pokusů, takže toto opožďení je možná vysvětlitelné i jinak než lamarckismem.

V posledních letech se pracuje na tzv. paramutacích a epigenetických fenoménech, nebudeme si všimnout jinak velmi důležitých metylací DNA, které se přenášejí do následující generace, ale podívejme se v rychlosti na malé RNA, aspoň na jeden příklad.

Otec myšák nese variantu na jednom chromozómu mutaci Kit^{tm1Alf} , která způsobuje, že má bílý ocas a nohy. U myši matky takový gen není. Polovina mláďat bude po otci. To je v souladu s Mendlem a obecnou genetikou. Jenže vidíme celé potomstvo s bílými ocasy a tlapkami, tedy i ty myšky, které mají jen nemutované geny (divoké) a udržuje se to několik generací. Jak je to možné? Původní otec s mutací Kit^{tm1Alf} vyrábí velké množství RNA, která se kopíruje z mutované DNA, a ta není odstraněna, jako je to běžné v jiných případech, ale přechází do spermií a do zárodku a tato RNA inhibuje činnost normálního nemutantního genu a ještě se někdy přenáší do následujících generací, i když jen do několika, než zvláštní fenomén vymizí (viz Rassoulzadegan et al. 2006, Cuzin and Rassoulzadegan 2010). Toto je možné u savců. Je tedy otázka, zda různé typy RNA nehrají i další úlohy u bakterií, o kterých zatím netušíme. Je to jev významný, nebo zcela okrajový? Problematika může být složitější, nicméně pro evoluci jsou zatím důkazy spíše darwinovské. I zvolený pokus tomu nasvědčuje. Pokud uspějeme, prokážeme náhodný vznik mutací, ne jejich vznik jako reakci na změny v prostředí.

V experimentu budeme postupovat jako Newcombe (1949), který Luriův a Delbrückův závěrověřoval jinak a pro naše úvahy možná zásadněji. Nejprve je nutno připravit v Petriho misce kolonie ve vhodném rozložení. Pak přiložit na kolonie v misce razítko vyrobené tak, aby se vešlo do misky, a je potřeba, aby bylo potažené saténem. Tyto kolonie přetiskneme na dvě další misky, přičemž jedna obsahuje antibiotikum. Tak získáme kolonie, přičemž každá má svou sesterskou. Na misce s antibiotikem přežije jen kolonie rezistentní. Podle polohy zjistíme sesterskou kolonii na misce bez antibiotika. Když tuto kolonii přeneseme na medium s antibiotikem, ve většině případů zjistíme, že jsou také odolné vůči antibiotiku, to znamená, že byly rezistentní už předtím, než se s antibiotikem setkaly. Můžeme proto říci, že k mutaci dochází náhodně, a teprve okolí tyto mutanty může zvýhodnit. Ale pokus lze provést tak, že postupně zvyšujeme koncentraci antibiotik a podobným způsobem přetiskujeme misky. Můžeme „vyšlechtit“ bakterie rezistentní k vysokým dávkám antibiotik, aniž se bakterie dostanou do přímého styku s antibiotikem.

3 Podrobný popis aktivit

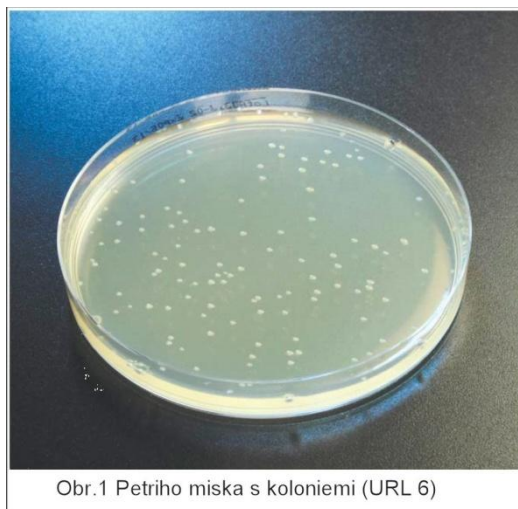
Podrobný popis aktivit

1) V první řadě je nutno si opatřit kulturu bakterií *E. coli*. Můžeme poprosit nějaké laboratoře, kde je rutinně používána, nebo zažádat v bance mikroorganismů Brno (URL 3), koupit ve firmě Carolina (URL 2). Dále je třeba opatřit Petriho misky a kultivační médium buď po jednotlivých komponentech, nebo hotové (URL 4) a další potřebné komponenty, případně koupit vše pohromadě jako kit (URL 1). Je nutno vyřešit kultivaci bakterií, ideální je termostat, ale samozřejmě i zde můžeme improvizovat. Některé moderní elektrické trouby lze precizně nastavit na nízké teploty, potřebujeme 37 stupňů Celsia. Nebo připevníme plech na ústřední topení během topné sezóny a pomocí teploměru, nejlépe s čidlem, je postupně vyladíme na teplotu asi 37 stupňů Celsia. I když je v nočních hodinách třeba topení centrálně omezeno, příliš to experiment nenaruší.

2) Nalijeme misky s agarem a živným médiem a misky, do kterých je navíc přidáno antibiotikum (živnou půdu před nalitím sterilizujeme převařením v Papinově hrnci). Podle typu antibiotika zvolíme koncentrace pro jednu sérii a jednoho studenta, např. sedm Petriho misek s živným médiem a sedm se zvyšující se koncentrací antibiotika. Musíme vycházet z toho, jaké máme k dispozici antibiotikum. Můžeme také každému studentovi doporučit jiné koncentrační řady téhož antibiotika (jeden postupně se zvyšující, další více skokové a třetí od začátku vysoké, které dále rostou), aby byl pokus zajímavější. A připravíme dalších deset misek pro stanovení vhodné koncentrace bakterií na misku, (nebo i více podle toho, jak budeme celý pokus koncipovat).

3) Stanovení koncentrační řady bakterií např. ve fyziologickém roztoku. Do 10 zkumavek napitujeme 10 ml sterilní fyz. roztoku (fyz. roztok převaříme dopředu s médiem v Papinově hrnci). Na pipetování použijeme skleněné či automatické pipety nebo kapátka nebo malý odměrný válec. V první zkumavce rozmícháme pomocí bakteriologické kličky kolonii nebo několik kolonií *E. coli*, rozmícháme, odebereme 1 ml a napitujeme ho do další zkumavky, rozmícháme a opět přeneseme 1 ml do další a tak postupujeme dál, až získáme 10 zkumavek s klesající koncentrací bakterií. Pak z každé napipetujeme 1 ml na živné médium a rozetřeme ho zakřivenou skelněnou tyčinkou – tzv. hokejkou. Necháme inkubovat přes noc v 37 °C. Misky pokládáme dnem nahoru, aby vysrážená voda nerozmazala kolonie.

4) Druhý den vybereme misku nebo misky na pokus s antibiotikem. Jde o to, aby kolonie byly na miskách v desítkách a aby byly zřetelně odlišené a byla mezi nimi významná vzdálenost, ale nebylo jich zase příliš málo (viz obr 1). Použijeme sterilní razítko (je nutno na razítko vybrat takovou tkaninu s chloupky, aby vydržela sterilizaci, to je v dnešní době s umělými vlákny poněkud problém, v nejhorším použijeme 70% etanol – je lepší než 94% a necháme razítko řádně vyschnout). Otiskneme kultury na misku bez antibiotika a pak s antibiotikem.



Obr.1 Petriho miska s koloniemi (URL 6)

5) Další den vyhodnotíme pokus, kolik vyrostlo kolonií, zda vůbec nějaké, nebo zda naopak většina. Jedná se o biologický materiál a náhodnost vzniku mutací, výsledek není zcela předvídatelný. Také může být zvolena příliš nízká, nebo příliš vysoká koncentrace antibiotika. Zde můžeme pokus skončit a vyhodnotit, nebo postupovat dále.

6) Kolonie, které by měly být rezistentní a pochází z misky bez antibiotik, určíme podle polohy a odebereme pomocí kličky. Pak zopakujeme body 3 a 4, případně abychom ušetřili misky, určíme přibližně podle výsledků z předchozí ředící řady vhodnou koncentraci podle výsledku z bodu 3 a vysejeme z deseti zkumavek jen jednu nebo dvě s předpokládanou vhodnou koncentrací.

7) Pak narostlé kolonie opět přerazítujeme sterilním razítkem (připravíme si jich dopředu víc, nebo je vždy vysterilizujeme během čekání na nárůst další generace kolonií). Postupujeme jako v bodu 4, jen použijeme vyšší koncentraci antibiotik. Takto můžeme postupovat několikrát, třeba sedmkrát. Pokud se nám do pokusů vloudí víkend, Petriho misky dáme do chladničky na 4 stupně Celsia, tam vydrží a v pondělí postupujeme dál. Podobně v chladničce můžeme skladovat misky, které ještě chceme použít. Je nutné, aby s tím další uživatelé ledničky souhlasili!!! Jinak nám hrozí likvidace pokusu. Vzhledem k tomu, že se jedná o neškodnou bakterii, kterou má i tak každý z nás ve střevech, mohli by to další uživatelé pochopit, ale bohužel nemusí.

8) Na závěr bychom měli dostat jednu linii (nebo více linií) rezistentní k vysoké dávce antibiotika, kterou jsme získali, přestože se nikdy s antibiotikem nesetkala.

9) Provedeme vyhodnocení, stanovíme, z kolika kolonií byla nějaká rezistentní. V každé misce by to mělo být jinak. Někdy žádná, někdy více. Kdyby platila lamarckovská teorie evoluce, muselo by to být v každé misce přibližně stejně, navíc ale jen v Petriho miskách které přišly do kontaktu s antibiotikem. Pokud se pokus podaří, je v uvedené úloze možno vyšlechtit linii bakterií vysoce odolných k antibiotiku, aniž by na ně měla antibiotika nějaký vliv. To podporuje Darwinovu teorii. Učitel vysvětlí studentům, proč to tak je, a princip náhodnosti vzniku mutací.

Na výpočty mutační rychlosti se můžeme podívat i do anglické Wikipedie (URL 5). Ale spíš jen pro demonstraci studentům.

Konečný výpočet mutační rychlosti vychází z práce Newcomba (1949) a je uváděna i v současnější literatuře (Birge 2006). Baktérie na plotnách (Petriho miskách) je možno postříkat vodou a smýt v různých časech a testovat na přítomnost mutací. Tak se získají hodnoty o celkovém počtu buněk a změnách v počtu mutantních kolonií.

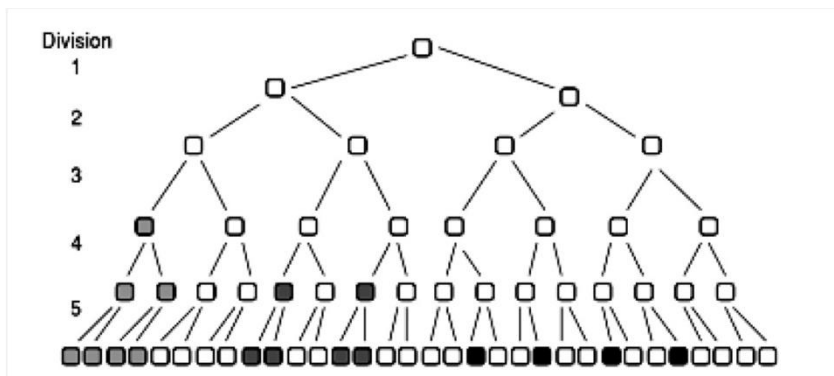
Mutační rychlost je pak :

$$d = \frac{\text{změna v počtu rezistentních kolonií}}{\text{změny v celkovém počtu buněk}} \cdot \ln 2$$

Mutační rychlost je např. 5.8×10^{-8} mutace na buňku.

Protože asi v jednoduchých podmínkách nebudeme počítat celkový počet buněk, vyjdeme z literatury (přestože by měl být výsev na Petriho misky takový, že každá kolonie pochází z jedné buňky). V odborné literatuře se uvádí, že u bakterií je mutační rychlost na genom během replikace poměrně konstantní, v hodnotě asi 0.003, přičemž relativní mutační rychlost na bázi je nepřímo úměrná velikosti genomu (Birge 2006).

Můžeme zvolit a navrhnout nějaký jednoduchý matematický model, kterým vyjádříme, kolik mutací vzniklo, a budeme vycházet z celkového počtu kolonií. Můžeme také uvažovat více generací (viz obr2).



Obr. 2 Ve velké populaci vzniká poměrně konstantní počet mutantů. Pokud už odpovídající mutace vzniknou, dá se očekávat, že při každém dělení zdvojnásobí svůj počet. Na obrázku jsou nemutační buňky znázorněny nevybarvené a mutantní tmavými čtverečky. Na schématu je tedy patrné, že žádná mutace nevznikla při dělení 1 a 2, jedna při dělení 3 (světle vybarvená). V dělení 4 jsou dvě další mutace (tmavší stínování). V dělení 5 došlo ke vzniku dalších nových čtyř mutací (černé čtverečky). V poslední populaci (na obrázku č.5) jsou z každého kola vzniku mutací čtyři mutantní buňky. Všimněte si, že celkový podíl mutovaných buněk v populaci roste, protože možnost zpětných mutací se v tomto schématu zanedbává (Birge 2006).

4 Literatura

Birge E.A. 2006 Bacterial and Bacteriophage Genetics. Springer New York. ISBN 978-0-387- 31489-1

Cairns, J., Overbaugh, J., Miller, S. 1988 The Origin of Mutants. Nature 335 (6186): 142–145.

Luria, S. E.; Delbrück, M. 1943 Mutations of Bacteria from Virus Sensitivity to Virus Resistance. Genetics 28 (6): 491–511.

Luria S.E. 1984 A slot machine, a broken test tube: An autobiography. Harper & Row

Newcombe , H. B.. 1949 Origin of bacterial variants. Nature, roč. 164, čís. 4160, s. 150. [ISSN 0028-0836](#).

Rosypal S. 1981 Obecná bakteriologie: SPN - Státní pedagogické nakladatelství [Storchová Z.](#) 1995

Zpráva o usměrněných mutacích. Vesmír 74, 605, [1995/11](#)

Zheng, Q. 1999 Progress of a half century in the study of the Luria–Delbrück distribution. Mathematical Biosciences 162 (1–2): 1–32. [doi:10.1016/S0025-5564\(99\)00045-0](#). PMID 10616278.

Zheng, Q. 2010 The Luria-Delbrück distribution: early statistical thinking about evolution. Chance 23: 15–18. [doi:10.1007/s00144-010-0017-y](#).

Zrzavý J., Storch D, Mihulka S. Jak se dělá evoluce. Paseka 2003.

Internetové odkazy

URL1 - <http://www.carolina.com/evolution/evolution-in-real-time-bacteria-and-antibiotic-resistance-1-station-kit-with-perishables/171205P.pr?question=tetracycline+medium>

<http://www.carolina.com/evolution/evolution-in-real-time-bacteria-and-antibiotic-resistance-8-station-kit-with-prepaid-coupon/171206.pr?question=tetracycline+medium>

http://www.carolina.com/evolution/evolution-in-real-time%3A-bacteria-and-antibiotic-resistance-kit/FAM_171206.pr?catId=&mCat=&sCat=&ssCat=&question=Evolution+in+Real+Time

URL2 - <http://www.carolina.com/bacteria/escherichia-coli-living-tube/155065.pr?question=escherichia+coli+b>

URL 3 <http://www.sci.muni.cz/ccm/>

URL4 - <http://www.p-lab.cz/katalog.pl?akce=polozka&id=3233&sekce=175&from=obsah>

URL 5 - http://en.wikipedia.org/wiki/Luria%E2%80%93Delbr%C3%BCck_experiment

URL 6 - <http://www.carolina.com/teacher-resources/Document/evolution-in-real-time-bacteria-and-antibiotic-resistance-sample-teachers-manual/tr30122.tr?question=tetracycline%20medium>

5 Videa k tématu

Luriův – Delbrückův experiment popis (indická angličtina)

(video viz. on-line kurz)

Animace rezistence mikroorganismů (angl.)

(video viz. on-line kurz)

O bakteriích (angl.)

(video viz. on-line kurz)

Příprava agarů a Petriho misek (angl.)

(video viz. on-line kurz)

6 Pracovní protokol a otázky k přemýšlení

Vzorprotokolu

Karel Kreacionista

Datum: XXXXX

Gymnázium Beagle

Téma:

Evoluce na stole v Petriho misce (flukтуаční test neboli Luriaův – Delbrückův experiment ve variantě replikovacího testu - Newcombeův pokus)

Úvod:

Teorie a princip úlohy (popsat velmi stručně problematiku teorií evoluce a obtíže při jejich praktického testování. Dále stručně popsat výhody bakterií jako modelového organismu pro experimenty a možnosti kultivace bakterií v Petriho miskách. K tématu by se hodilo vysvětlit působení antibiotika jako způsobu přírodní selekce.)

Materiál a pomůcky:

Seznam věcí nutných k provedení experimentu.

Provedení:

1. Vybavení laboratoře, a pokud není k dispozici termostat, výběr vhodného náhradního řešení.
2. Kultivace bakterií a výběr vhodného ředění při očkování na Petriho misky.
3. Pracovní postup: Zaznamenání konkrétního pracovního postupu a popis použité koncentrace bakterií v pokusu a koncentrace antibiotik.

Výsledky:

Dokumentace výsledku – počet kolonií, zaznamenání jejich poloh, fotografie. Výpočet mutační rychlosti.

Diskuse:

V této části je nutno vyhodnotit získané výsledky a uvést předchozí práce, které se vztahují k tomuto tématu. Je možno vhodně využít hledání na internetu, např. Google Scholar. Vlastní výsledky je nutno popsat, zdůvodnit, proč k nim zřejmě došlo a pokud možno porovnat s podobnými údaji, které už byly popsány, nebo je porovnat s výsledky dalších členů skupiny.

Závěr:

Krátce shrnout hlavní výsledky pokusu.

Sada otázek na přemýšlení

Je teorie o skokových evolučních změnách v rozporu s Darwinovou teorií?

Je podmínkou evoluce variabilita ve znacích?

V pokusu jsme zkoušeli vliv selekce. Znáte ještě nějaké jiné evoluční mechanismy?

Může evoluce probíhat spíše v malých populacích, nebo velkých, nebo je to jedno?