www.dnevnik.si

NEDELJSKI

Literarni natečaj

Zgodba Nedeljskega



Vsi imamo zgodbo, najboljša gre v Nedeljca!

Zgodba mora biti literarna in izmišljena. Lahko je romantična, humorna, satirična, pustolovska, znanstvenofantastična … Ne iščemo osebnih izpovedi, avtobiografskih zapisov ali resničnih življenjskih kronik. Lahko črpate iz lastnih občutij in izkušenj, a jih preoblikujte v fikcijo.

Dolžina besedila naj ne presega **6000 znakov** z vključenimi presledki. Rok za oddajo zgodb je **1. junij 2026.** Najboljše zgodbe po mnenju strokovne komisije bodo objavljene v Nedeljskem dnevniku. Za dodatne informacije in podrobnosti o natečaju nam lahko pišete na elektronski naslov: **natecaj@nedeljski.si**.

Opogumite se in nam pošljite svoj literarni izdelek.

Pravila in pogoji so objavljeni: dnevnik.si/pogoji

NEDELJSKI

Informacije in pošiljanje zgodb:

natecaj@nedeljski.si

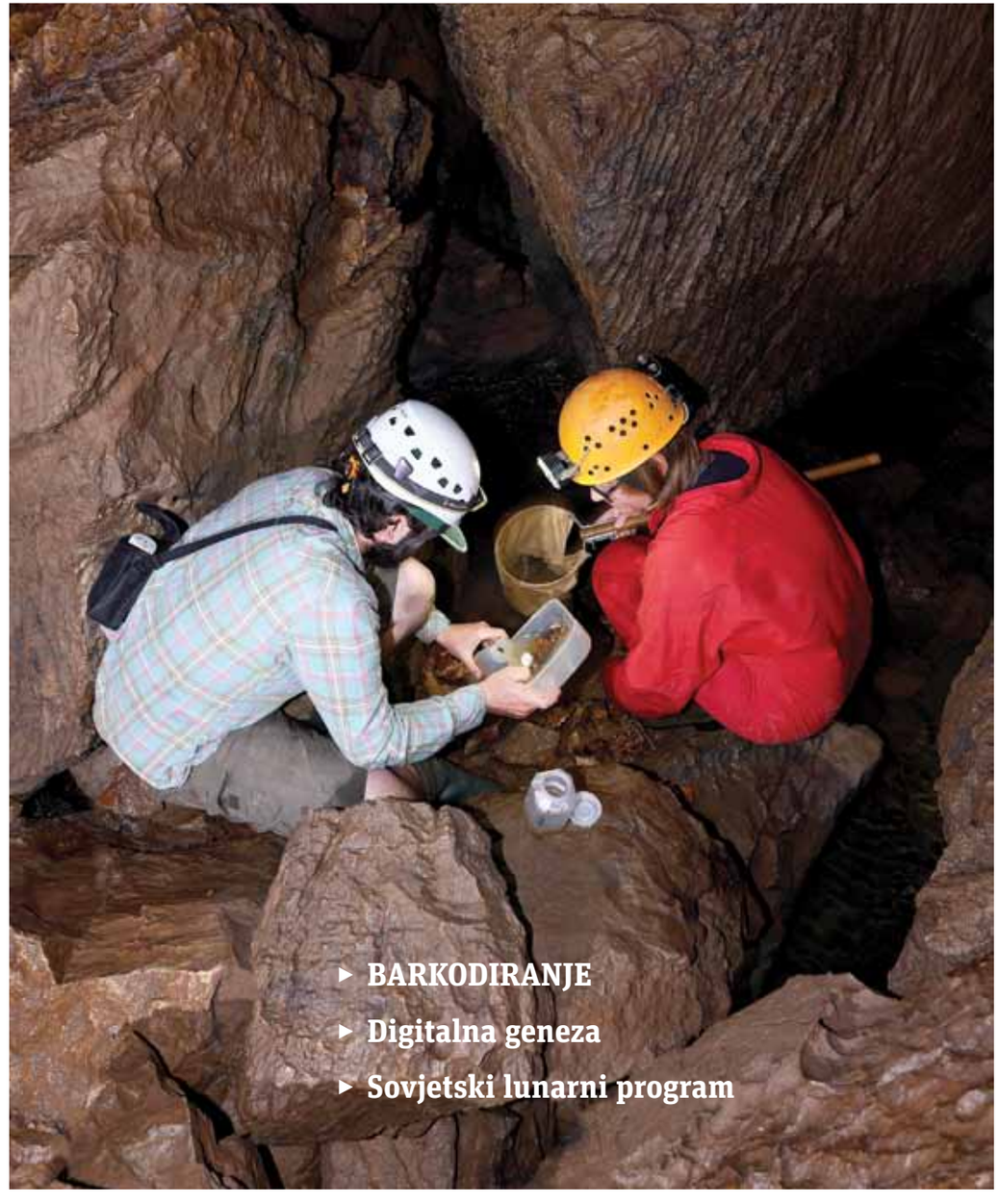
ŽIVLJENJE IN TEHNIKA ▸ APRIL 2026



9 770514 017009 04

življenjeintehnika

▸ Leto 2026, letnik LXXVII ▸ www.tzs.si
▸ Tehniška založba Slovenije, d. o. o. ▸ 6,20 €
▸ Poštnina plačana po pogodbi



- BARKODIRANJE
- Digitalna geneza
- Sovjetski lunarni program

BARKODIRANJE

Sodobno določanje raznolikosti vrst v okolju

▸ Davorin Tome in David Stanković



Številne biološke raziskave temeljijo na zmožnosti natančnega določanja različnih v posameznem okolju živečih bioloških vrst. Z malce poenostavljanja lahko vrste, ki živijo v določenem okolju, označimo tudi z izrazom biodiverziteta, torej raznolikost vrst. Taksonomi oz. strokovnjaki za določanje vrst večinoma prepoznavajo organizme po notranjih in zunanjih telesnih znakih, včasih pa tudi na podlagi oglašanja in vedenja.

Določanje vseh vrst talnih nevretenčarjev v takšnem vzorcu bi bilo z običajnimi metodami zelo zamudno, s pomočjo metabarkodiranja DNK pa ga opravimo v enem zamahu. (foto: Davorin Tome)

VSI BREZ TEŽAV ločimo npr. medveda od ježa, a po drugi strani je muh trepetavk samo v Sloveniji okoli 300 vrst. Večina ljudi jih ima za manjše čebele ali ose, saj razen peščice strokovnjakov za vrste te skupine vseh celo v svetovnem merilu ne prepozna nihče. Metuljev imamo v Sloveniji več kot 3600 vrst, vsak primerek pa v življenju štirikrat spremeni svojo zunanjo podobo (jajčece, gosenica, buba, metulj). Le dober strokovnjak za razvrščanje vrst oz. taksonomijo zna določiti vrsto metulja ne glede na njegovo trenutno razvojno fazo.

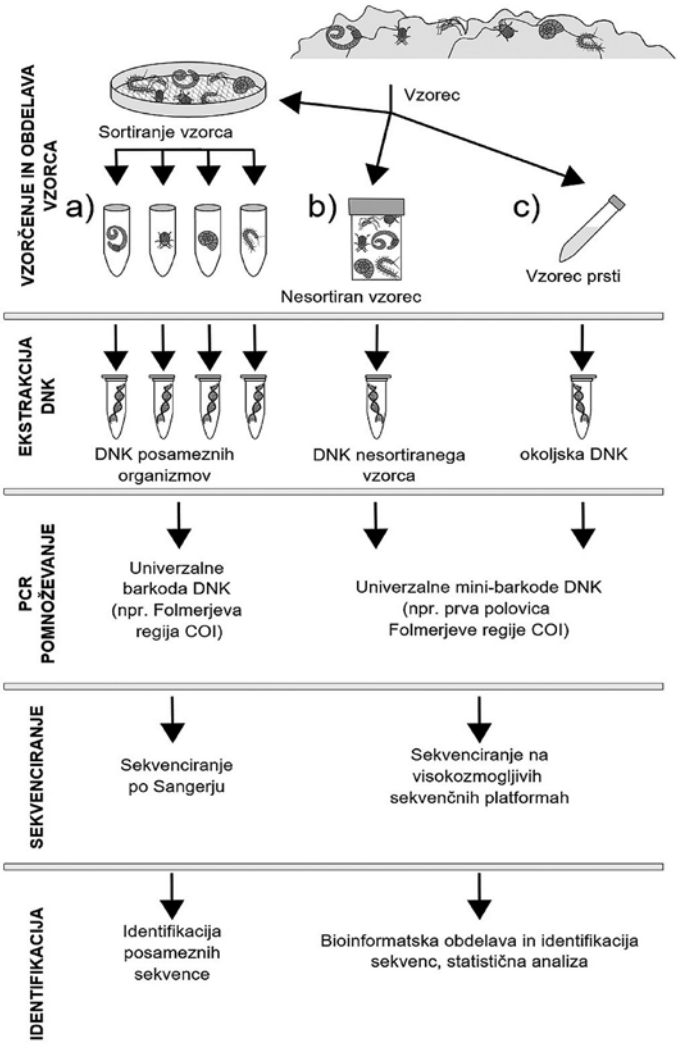
V Sloveniji je trenutno znanih več kot 25.000 vrst živali, če jim dodamo še glive in rastline, pa število preseže 30.000. Vsako leto jim prištejemo še nekaj sto na novo odkritih. V svetovnem merilu je trenutno znanih že skoraj dva milijona vrst. Skratka, ob takšni pestrosti življenja nihče ne bi mogel prepoznati vseh vrst ne v Sloveniji, kaj šele na svetu. Tudi vrhunski strokovnjaki so običajno 'doma' le pri vrstah ene ali dveh skupin, npr. pticah, hroščih, polžih itd.

Proučevanje raznolikosti vrst oz. biodiverzitete je pomembna naloga biologov. S seznamom vseh vrst na določenem območju lahko določimo prevladujoče razmere ter ocenimo ogroženost narave in izberemo morebitne ukrepe za varovanje okolja. Pri takšnih raziskavah mora sodelovati vsaj deset na samem področju živečih strokovnjakov. V Sloveniji, kjer vse skupine niti niso pokrite,

Muhe trepetavke

Za večino od nas so muhe trepetavke (na fotografiji vrsta *Sphaerophoria scripta*) zaradi mimikrije oz. varovalne podobnosti videti kot pomanjšane čebele ali ose, čeprav sodijo v povsem drugo skupino žuželk. V Sloveniji živi vsaj 300 vrst trepetavk in tudi strokovnjaki jih z običajnim načinom določanja, torej po morfoloških oz. telesnih znakih, le s težavo ločujejo. Muhe trepetavke so koristne, saj se prehranjujejo s cvetnim prahom in tako oprašujejo rastline. (foto: Davorin Tome)





Shematski prikaz primerjave postopkov pri analizi vzorcev talnega živalstva s pomočjo barkodiranja DNK (a), metabarkodiranja DNK (b) in okoljskega metabarkodiranja (c) (pripravil: David Stanković)

moramo včasih za pomoč prositi poznavalce iz tujine. Zaradi tega ni neobičajno, da raziskovanje življenjske raznolikosti kakšnega območja traja tudi več let.

V zadnjih desetletjih so za tovrstno raziskovanje razvili novo obetavno metodo, s katero bomo morda vse na določenem območju živeče vrste lahko določili v manj kot mesecu dni, to pa bo lahko, vsaj teoretično, opravil le en človek. Metoda temelji na določanju kratkih odsekov DNK določenega gena ali genov, značilnih za posamezne vrste, in se imenuje barkodiranje DNK (angl. *DNA barcoding*) (ŽIT 2021/10, str, 34). Ime se je prijelo, ker spominja na branje črtnih kod izdelkov v trgovini.

▸ RAZVOJ METODE

Leta 2003 je izšel prelomen članek pri razvoju metode barkodiranja DNK, ki jo je Paul Herbert z University of Guelph v Kanadi s sodelavci opisal pod naslovom Določanje bioloških vrst s pomočjo DNK barkod (angl. *Biological identification through DNA barcodes*). Metoda temelji na predpostavki, da v vsaki vrsti obstaja edinstven del dednega zapisa, ki se razlikuje od zapisa vseh ostalih vrst. Z natančnim branjem in prepoznavanjem baznih parov v tem delu zapisa bi torej lahko zanesljivo določili, kateri vrsti pripada. Ko so analitične tehnike dosegle zadostno stopnjo razvoja za rutinsko branje dednega zapisa, je bilo treba le še najti ustrezen del DNK. Za živali so ga pisci članka našli v mitohondrijih, ki so v celicah med drugim zadolženi za dihanje. Gre za Folmerjevo regijo, t. j. 658 baznih parov dolg odsek DNK zapisa za gen citokrom c oksidazo, podenota I (*COI)*. Kasneje se je izkazalo, da si s tem genom vendarle ni mogoče pomagati pri prav vseh organizmih, saj predvsem pri barkodiranju rastlin in mikroorganizmov pridejo v poštev tudi drugi deli DNK in celo RNK.



Klasičen način nabiranja bioloških vzorcev na travnikih je *kečer* oz. lovljenje nevretenčarjev z gosto mrežo. Na ta način zajamemo veliko število zelo različnih vrst. (foto: Davorin Tome)

Tudi če gen preberemo v celoti, to za določanje vrste ne zadostuje. Rezultati se morajo ujemati z zbranimi podatki oz. z zapisi DNK različnih vrst v knjižnici referenčnih sekvenc. Dve največji takšni prosto dostopni knjižnici dednih zapisov sta *GenBank* in *BOLD*, ki trenutno vsebujeta zaporedja DNK za več kot 1,6 milijona vrst s celega sveta. Ko preberemo genski zapis primerka, ki nas zanima, ga enostavno primerjamo z zapisi v knjižnici. Če najdemo ujemajoč se zapis, smo določili tudi ime vrste. Takšna rešitev je zelo elegantna, saj nam prihrani dolgotrajno opazovanje skozi povečevalo in primerjavo morfoloških znakov oz. telesne zgradbe primerka, kar je bilo včasih edini način za določanje vrste.

▸ NADGRADNJA METODE

Barkodiranje je zelo uporabno, a njegove zmožnosti za hkratno do-

ločanje živalskih in rastlinskih vrst na posameznem področju so že presežene. Biologi pri zbiranju organizmov z mrežami in pastmi v enem samem vzorcu zajamemo nekaj deset ali celo več kot sto različnih vrst iz zelo raznolikih skupin. Kot nadgradnjo barkodiranja so zato raziskovalci razvili tehniko, s katero je mogoče prebrati in analizirati ključni odsek gena vseh vrst hkrati brez predhodnega razvrščanja vzorcev. Tako v enem koraku dobimo seznam vseh v vzorcu zajetih vrst. Novo tehniko so poimenovali metabarkodiranje DNK (angl. *DNA metabarcoding*).

Količina delcev in ostankov organizmov v okolju, torej v gozdovih, na travnikih, v jezerih, rekah, naseljih, podzemnih jamah in tudi v naših še tako skrbno očiščenih domovih je presenetljivo visoka. Ti delci, ki bodisi naravno odpadajo z živih organizmov ali pa se tvorijo ob razgradnji mrtvih, so včasih manjši od ene celice. Njihov dedni zapis se ohranja dlje časa, v izjemnih primerih še leta, včasih tudi stoletja ali tisočletja, kar omogoča določanje vrste, iz katere izvirajo. Tako lahko z metabarkodiranjem različne v okolju živeče vrste določimo iz vzorcev, ki ne vsebujejo živih ali prepoznavnih organizmov, pač pa le njihove mikroskopsko majhne ostanke. To metodo imenujemo analiza okoljske DNK (angl. *environmental DNA* ali *e-DNA*).

Voda v kozarcu, ki smo jo zajeli v reki ali jezeru, je na videz sicer povsem prozorna in čista, vendar vsebuje številne organske delce tam živečih vrst. Iz takšnih vzorcev je mogoče natančno določiti vrste rib, rakov in nevretenčarjev, ki plavajo v teh vodah. Tudi na cvetovih ostane velika količina drobnih organskih delcev, ki so se nabrali pri opraševanju. Za določanje seznama vrst opraševalcev tako ni več potrebno večdnevno čemenje na travnikih in ročno beleženje vrst žuželk in drugih organizmov, ki letajo od cveta do cveta in gomazijo po njih. Nekateri raziskovalci poskušajo skrajšati tudi čas vzorčenja vrst na terenu in namesto lovljenja žuželk z mrežami preprosto poiščejo in naberejo pajčevine ter iz njih določajo DNK vrst, ki so se ujele vanje.

Metoda barkodiranja omogoča celo vpogled v pradavno raznolikost vrst. Z najsodobnejšimi pristopi pri pripravi vzorcev in njegove analize je možno določili vrste iz organskih ostankov, ujetih v kar dva milijona let starih nanosih oz. sedimentih. Z raziskavami so tako med drugim potrdili, da je bila Grenlandija pred zadnjo ledeno dobo poraščena z gozdom, določili pa tudi tam prevladujoče drevesne in živalske vrste. No, poustvarjanja fantazijskega filma Jurski park si zaenkrat tudi s temi metodami ne moremo obetati. Dinozavri so izumrli pred 65 milijoni let, to pa je predolgo za še tako trdoživ dedni zapis.



Laboratorijska analiza vzorcev za metabarkodiranje DNK poteka v kar najčistejših prostorih in zahteva visoko natančnost. (foto: Davorin Tome)

▸ OPIS METODE

Postopek metabarkodiranja običajno vključuje vzorčenje, laboratorijski del (izolacija oz. izločanje DNK, priprava sekvenčnih knjižnic, sekvenciranje oz. določanje zaporedja) ter bioinformacijsko obdelavo. Vzorčenje poteka podobno kot pri običajnih preiskavah; primerke na določenem območju živečih vrst vzorčimo s pastmi ali ročno z mrežami. Ključna razlika je v shranjevanju vzorcev. Pri morfoloških preiskavah uporabljamo fiksative, torej sredstva, ki čim bolje ohranijo obliko in barvo živali, pri molekularno-genetskih analizah pa je najpomembnejši kar najbolje ohranjen genetski material. V praksi vzorce najpogosteje hranimo v etanolu. Da ustavimo celične procese in omejimo delovanje mikroorganizmov, mora biti končna koncentracija etanola vsaj 70-odstotna. To praviloma dosežemo tako, da ocenjeni prostornini biološkega vzorca dodamo približno tri- do štirikratno količino 96-odstotnega etanola. Tega po nekaj dneh v celoti zamenjamo.

Pri metabarkodiranju dednega zapisa ne izoliramo iz posameznih osebkov. Namesto tega vzorec z vsemi vrstami temeljito homogeniziramo (razbijemo), nato pa izoliramo DNK neposredno iz mešanega homogenata. Za razliko od običajnega barkodiranja temelji metakarboniranje, zaradi tehnoloških omejitev visokozmogljivih sekvenčnih platform, na krajših odsekih DNK oz. mini-barkodah. Pri živalih najpogosteje analiziramo začetni del Folmerjeve regije gena *COI* ali eno izmed hipervariabilnih regij gena ribosomalne RNK (*18S* rRNK), odvisno od ciljne skupine in želenega



Iz zajetega vzorca vode lahko z metodo okoljske analize DNK določimo, katere vrste živijo v posameznem delu jezera ali reke. (foto: Davorin Tome)

ravnovesja med splošno pokritostjo in zmožnostjo ločevanja med vrstami. Izbrani odsek pomnožimo v verižni reakciji s polimeraze (*PCR*), nato pa ga primerjamo z zapisi v knjižnici referenčnih sekvenc. Ker je z visoko zmogljivimi platformami mogoče hkrati primerjati zaporedja več milijonov odsekov DNK, lahko z eno analizo obdelamo več sto vzorcev. Da jih med seboj ločimo, posameznim vzorcem pripnemo kratka, le zanje značilna oligonukleotidna zaporedja oz. indekse, s pomočjo katerih jih ločimo med kasnejšo obdelavo.

Razen kvalitativnega določanja, torej seznama zajetih vrst v vzorcu, je mogoče rezultate metabarkodiranja ob upoštevanju nekaterih omejitev uporabiti tudi za kvantitativno interpretacijo oz. določanje deležev posameznih vrst v tem življenjskem okolju. Količina izmerjene DNK je praviloma sorazmerna količini biološkega materiala (biomasi), vendar na to razmerje vplivajo številni dejavniki, med drugim velikost genoma oz. dednine, število kopij tarčnega označevalca (markerja), učinkovitost ekstrakcije in pristranskosti pri PCR (pomnoževanje DNK

nekaterih zaporedij je bolj učinkovito od drugih). Zato metabarkodiranje praviloma omogoča le oceno sorazmerne količine oz. deleža posameznih vrst v vzorcu (angl. *relative abundance*), medtem ko je sklepanje na absolutne vrednosti zahtevnejše. Za takšne približke moramo pri izolaciji vzorca dodati npr. znano količino sintetične DNK ali organizme z znano maso, ki se v proučevanih življenjskih okoljih ne pojavljajo. Pri tem je ključna tudi globina sekvenciranja, ki jo običajno izražamo s številom odčitkov (sekvenčnih branj) na vzorec. Tipične vrednosti so približno od 60.000 do 100.000 odčitkov, kar je odvisno od raznolikosti (kompleksnosti) vzorca.

Delež napak pri visokozmogljivih platformah dosega približno 1 % napačno vgrajenih osnovnih gradnikov DNK in RNK (nukleotidov). To je v primerjavi z medvrstno gensko variabilnostjo razmeroma veliko (geni mitohondrijske DNK se med sorodnimi vrstami okvirno razlikujejo od enega do treh odstotkov). Vpliv napak zelo zmanjšamo z ustrezno globino sekvenciranja in skrbno obdelavo, pri kateri je ključno odstranjevanje manj kakovostnih odčitkov. V nadaljevanju odčitke razdružimo po vzorcih na podlagi indeksov, združimo identične oz. zelo podobna zaporedja (kar je odvisno od izbranega pristopa) in jih taksonomsko določimo na podlagi ujemanja z referenčnimi sekvenčnimi bazami oz. primerjalnimi podatkovnimi zbirkami zaporedij. Končni rezultat je tabela z zaznanimi taksoni (pogosto na ravni vrst, kadar to omogočajo označevalci oz. markerji in podatkovne zbirke) ter njihov sorazmerni delež.

▸ V KORAK S ČASOM

V Sloveniji s pomočjo metabarkodiranja že vrsto let proučujemo najrazličnejše živalske, rastlinske, glivne bakterijske združbe in tako gozdne, travniške, vodne, jamske kot morske. Slovenski raziskovalci smo bili med prvimi pri razvoju in uporabi teh pristopov, zlasti pri proučevanju

Priprava vzorcev



Maxwell RSC 48 je samodejna naprava za prečiščevanje in izločanje nukleinskih kislin (DNK in RNK) iz različnih vrst vzorcev, tudi tistih, ki vsebujejo različne vrste nevretenčarjev. Analize tečejo hitro, saj lahko z napravo hkrati obdelamo tudi 48 vzorcev in v le nekaj urah pridobimo DNK visoke kvalitete. To je ključno za zanesljivost rezultatov pri metabarkodiranju, še posebej pri vrednotenju tudi v kvantitativnem smislu. (foto: Davorin Tome)

morskega živalskega planktona. V sodelovanju z italijanskimi raziskovalnimi ustanovami smo z metabarkodiranjem nadgradili razumevanje raznolikosti in razporejenosti (biodiverzitete in biogeografije) jadranskega živalskega planktona. Pri tem se je pokazalo, da je ta metoda uporabna tudi za pregled drstitvenih območij tržno pomembnih ribjih vrst ter za zaznavanje tujerodnih vrst v živalskem planktonu.

Tudi na Nacionalnem inštitutu za biologijo uspešno sledimo in razvijamo nove metode določanja vrst. Kljub temu, da si pri določanju vrst še vedno pomagamo tudi s starejšimi metodami, torej po telesnih značilnostih primerkov, vse pogosteje posegamo tudi po barkodiranju. V okviru sodelovanja Slovenije in Hrvaške v projektu *CarEx* evropskega sklada *Interreg* proučujemo suhe travnike in iščemo načine gospodarjenja, s katerimi bi ob neokrnjeni donosnosti travinja ohranjali tam živeče rastlinske in živalske vrste. Pri tem je pomemben dejavnik izbira najboljšega časa košnje. Če travnik pokosimo prepozno, je krma manj hranljiva za domače živali, prezgodnja košnja pa negativno vpliva na tam živeče vrste. Če bi za določanje vrst uporabljali le klasično metodo, torej na morfologiji oz. telesnih znakih temelječo analizo nevretenčarjev na travnikih, bi v omejenem časovnem okviru projekta lahko določili le prisotnost vrst posamezne skupine, npr. metuljev ali kobilic. Metoda metabarkodiranja DNK pa omogoča popoln pregled nad vsemi tam živečimi vrstami in to tako pred košnjo kot takoj po njej, pa tudi mesec ali dva kasneje, ko se travniki že obnavljajo.



V okviru projekta *CarEx* na Nacionalnem inštitutu za biologijo z metodo metabarkodiranja DNK določamo združbe travniških nevretenčarjev na bogato cvetočih travnikih Kozjanskega parka. (foto: Davorin Tome)

VIRI IN LITERATURA

- Hebert P. D., Cywinska A., Ball S. L., deWaard J. R.: Biological identifications through DNA barcodes; Proceedings of the Royal society of London, februar 2003
- Kjær K. H., Winther Pedersen M., De Sanctis B. s sodelavci: A 2-million-year-old ecosystem in Greenland uncovered by environmental DNA; revija Nature, 7. december 2022
- La Torre M., Cussigh A., Crobe V., Spiga M., Ferrari A., Cariani A., Piattoni F., Costantini F., Franzellitti S., Pallavicini A., Stanković D., Stefanni S.: Environmental DNA metabarcoding of cephalopod diversity in the Tyrrhenian deep sea; Journal of marine science and engineering (2024)
- Stefanni S., Stanković D., Borme D., de Olazabal A., Juretić T., Pallavicini .A in Tirelli V: Multi-marker metabarcoding approach to study mesozooplankton at basin scale; Scientific reports (2018)

SPLETNI NASLOVI

- https://tinyurl.com/2k878evk *GenBank*
- https://www.boldsystems.org/ kratka prestavitev barkodiranja
- https://tinyurl.com/ayemnvsj Oddelek za raziskave organizmov in ekosistemov, NIB
- https://tinyurl.com/47msjexy metabarkodiranje
- https://tinyurl.com/jsczmc99 o okoljski DNK