

Vnitrodruhová variabilita a křížení zevaru vzpřímeného

U velkého množství mokřadních a vodních rostlin nacházíme skupiny blízké příbuzných druhů s velmi podobným vzhledem. Příčinou těchto podobností bývá často značná morfologická plasticita listů a stonků způsobená reakcí rostlin na měnící se podmínky okolního prostředí. Určování druhů jen podle vegetativních částí tak bývá velice obtížné až nemožné. Do takové skupiny patří i zevary (*Sparganium*), rozlišitelné hlavně podle květenství a plodů. Na našem území se nyní vyskytují čtyři druhy tohoto rodu: zevar jednoduchý (*S. emersum*), z. nejmenší (*S. natans*), z. vzpřímený (*S. erectum*) a z. úzkolistý (*S. angustifolium*). V minulosti, ve snaze odlišit jednotlivé taxony, autoři připisovali uvedeným druhům různou taxonomickou významnost – od variet až po druhy. Nejproblematictějším druhem dodnes zůstává zevar vzpřímený, zahrnující další čtyři taxony na poddruhové úrovni, rozeznávané hlavně podle zralých nažek. Nalikol je odlišení jednotlivých poddruhů spolehlivé a dochází-li k jejich křížení, dokážeme studovat až v současné době pomocí molekulárních metod a průtokové cytometrie.

Rod zevar náleží do čeledi orobincovitých (*Typhaceae*) a je rozšířen po celém světě v mírných a chladnějších klimatických zónách převážně severní polokoule. Rozlišuje se kolem 14 druhů, ale jak bylo řečeno v úvodu článku, jejich přesný počet zůstává nejasný vzhledem k velké proměnlivosti rostlin a obtížné klasifikaci v některých sekcích rodu. Počet druhů, poddruhů a variet se tak liší s různými taxonomickými přístupy. Taxonomií zevarů se u nás zabýval již v 19. stol. Ladislav Josef Čelakovský a jednotlivé druhy rozlišoval podle znaků na nažkách, listech, okvětních lístcích a současně i podle doby kvetení a zralosti nažek. Znaků na vegetativních orgánech jsou však velmi variabilní a jedinými spolehlivými determinačními kritérii se zdají být ty na orgánech generativních.

Ačkoli velikost a šířka nažek nemohou pro odlišení taxonů sloužit samy o sobě pro svou proměnlivost, lze při určování použít jejich poměry. Vhodným znakem se ukázala být také jejich barva.

Poněkud složitější je však odlišit od sebe čtyři poddruhy zevaru vzpřímeného, mezi nimiž může docházet ke křížení. Vzhledem k podobným ekologickým nárokům se na stanovištích často potkávají a hybridní rostliny s přechodnými znaky jsou pak jen těžko zařaditelné. Nicméně poddruhy se různí i frekvencí výskytu. Pro studium vnitrodruhové morfologické a genetické variability zevaru vzpřímeného a ověření spolehlivosti determinačních znaků a předpokládané hybridizace jsme využili metody molekulární analýzy a průtokovou cytometrii (viz Živa 2005, 1: 46–48 a dále v textu).

Morfologické pojetí

Zevary jsou mokřadní nebo i vodní, jednodomé oddenkové vytrvalé rostliny se střídavými přímými listy s pochvatými báze. Jejich listy nemají palisty, bývají dvouřadé a nerozlišené na čepel a řapík, pro růst ve vodním prostředí jsou vybaveny aerenchymatickým pletivem. Lodyhy a listy mohou být vzpřímené nebo plovoucí. Nejzákladnější členění rozděluje zevary do dvou podrodů (*Sparganium* – velké druhy s listy vnořenými a *Xanthosparganium* – menší druhy s listy plovoucími). Avšak i rostliny s vnořenými listy mohou tvořit ponořené nebo částečně plovoucí listy, pokud rostou v hodně hluboké nebo rychle tekoucí vodě. Pro odlišování jednotlivých druhů a poddruhů se dnes používají spolehlivější určovací znaky – např. morfologické a anatomické charakteristiky na zralých nažkách, které se tolik nemění v závislosti na okolním prostředí.

Jak jsme již uvedli, na území České republiky se vyskytují a rozlišují čtyři zástupci tohoto rodu. Některé rozdíly mezi jednotlivými druhy se projevují už ve fázi kvetení. Neobvyklé květenství skládající se ze samičích a samčích kulovitých hlávek je u zevaru jednoduchého, z. nejmenšího a z. úzkolistého nevětvené, jediné zevar vzpřímený má květenství větvené se samičími i samčími hlávkami také na vedlejších větvích (obr. 2–4 a na 2. str. obálky). Po opylení větrem se vytvářejí kulovitá plodenství, která se za zralosti rozpadají na jednotlivé nažky (obr. 5 a 6). Druhy se liší jak charakteristickým tvarem, tak barvou těchto plodů.

- Zevar jednoduchý poznáme podle listů v dolní části na rubu výrazně kýlnatých (trojhranných) a oddálených samčích hlávek (obr. 3). Charakteristické jsou pro něj větvenité plody mírně zaškrčené ve střední části, hnědé a lesklé, zužující se v horní části v dlouhou čnělku a v dolní části do obráceně kuželovité báze s dlouhou stopkou vzniklou sesycháním plodu (obr. 5f).

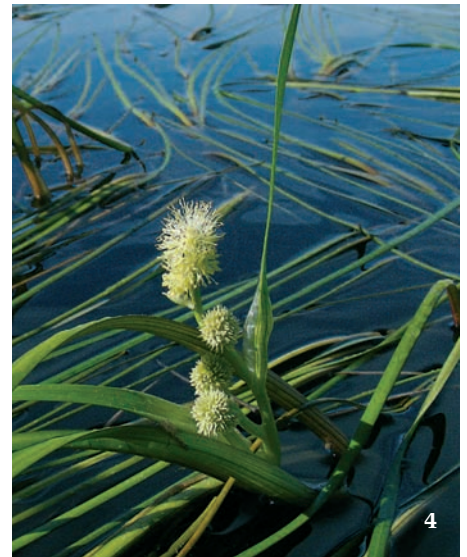
- Naproti tomu listy zevaru nejmenšího bývají ploché, jen někdy na bázi rozšířené. Květenství má chudé, skládá se pouze z jedné (vzácně dvou) samčích hlávek a několika samičích hlávek (také obr. na 2. str. obálky). Nažky elipsoidního až obejcovitě větvenitého tvaru mohou být ve střední části mírně zaškrčené, jsou matné a nazelenalé či nahnědlé zbarvené. V dolní části bývají často přisedlé nebo s velmi krátkou stopkou, v horní části kuželovité, náhle zúžené s ostrým vrcholkem a krátkou čnělkou (obr. 5g).

- Vzácný zevar úzkolistý (obr. 4) odlišíme podle typicky dlouhého nejdelšího podpůrného listenu, několikanásobně delšího než celé květenství, a listů, které nejsou ani na bázi kýlnaté. Elipsoidní až větvenité nažky jsou hnědavé, ve střední části mírně zaškrčené, zúžené v dolní části do obráceně kuželovité báze se stopkou a v horní části kuželovité s ostrým vrcholkem a delší čnělkou (obr. 5e).

- Zevar vzpřímený s výrazně kýlnatými listy a vždy vnořeným větveným květenstvím představuje komplex čtyř poddruhů s podobným rozšířením (viz oddíl o rozšíření jednotlivých poddruhů):

Poddruh zevar vzpřímený pravý (*S. erectum* subsp. *erectum*) lze dobře poznat po





1 Pomalu tekoucí řeky s bahnitým dnem jsou ideálním prostředím pro řadu vodních a mokřadních rostlin včetně zevaru vzpřímeného (*Sparganium erectum*). Řeka Cidlina u Libice nad Cidlinou

2 až 4 Květenství zevarů je složeno ze samčích a samičích hlávek, samčí se nacházejí ve vrcholové části květenství. Zevar vzpřímený (obr. 2), z. jednoduchý (*S. emersum*, 3; foto M. Ducháček) a z. úzkolistý (*S. angustifolium*, 4; foto P. Kolář). Podrobnější popis v textu

5 Morfologie nažek zevarů. Zevar vzpřímený pravý (*S. e.* subsp. *erectum*, obr. a), z. v. vejcoplodý (*S. e.* subsp. *oocarpum*, b), z. v. přehlížený (*S. e.* subsp. *neglectum*, c) a z. v. drobnoplodý (*S. e.* subsp. *microcarpum*, d), z. úzkolistý (e), z. jednoduchý (f) a z. nejmenší (*S. natans*, g). Blíže v textu

6 Plodenství zevaru vzpřímeného tvoří kulovité hlávky, rozpadající se za zralosti na jednotlivé nažky.

dle velkých obráceně kuželovitých nažek (délka 6–10 mm, šířka 4–6 mm), se zřetelným přechodem (hranou) mezi horní a dolní částí (obr. 5a). Dolní část bývá výrazně obráceně kuželovitá (3–6hranná na příčném řezu), zatímco horní část zploštělá a matná, světle až tmavě hnědá nebo načernalá, na vrcholu se pak náhle zužuje do krátké čnělky. Okvětní lístky má kratší než dolní část nažky, a tak je na rozdíl od ostatních poddruhů na zralých hlávkách nevidíme.

Zevar v. vejcoplodý (*S. e.* subsp. *oocarpum*) charakterizují lesklé, široce vejcovité až kulovité nažky, světle až středně hnědé barvy. Hrana mezi horní a dolní částí je nezřetelná. Horní část pod čnělkou bývá občas vrásčitá nebo zmačkaná (viz obr. 5b).

Vřetenovité až elipsoidní nažky zevaru v. přehlíženého (*S. e.* subsp. *neglectum*) jsou jednotně světle hnědé až slámové

s horní a dolní částí podobného tvaru, barvy i textury, bez rozlišených hran. Horní část bývá hladká a pozvolna se zužuje do dlouhé čnělky, jen u tohoto poddruhu dlouhé přes 2 mm (obr. 5c).

Zevar v. drobnoplodý (*S. e.* subsp. *microcarpum*) rozeznáme podle malých nažek (délka 6–7 mm, šířka 2–4 mm) s odlišnou horní a dolní částí a viditelným přechodem (hranou) mezi nimi. Dolní část je špičatě obráceně kuželovitá, 3–6hranná, světle hnědá až načervenalé hnědá; horní část pak kopulovitá a širší než dolní, s mírným zaškrcením pod hranou, hnědá až černá, matná, s nepravidelnými podélnými záhyby na bázi čnělky. Na rozdíl od ostatních poddruhů s přisedlými nažkami vytváří nažky stopkaté, s délkou stopky do 1,5 mm (obr. 5d).



Hybridizace a molekulární analýzy

Determinaci jednotlivých poddruhů ještě více znesnadňuje existence přechodných typů a směsných populací. Pravděpodobně dochází ke křížení mezi jednotlivými poddruhy, což je nejlépe patrné u zevaru vzpřímeného vejcoplodého. Na základě přechodné morfologie nažek a pozorované částečné sterility plodních hlávek jde nejspíše o hybridní poddruh. Po morfologické stránce jsou předpokládány rodičovskými poddruhy zevaru vzpřímený pravý a z. vzpřímený přehlížený. Kromě objasnění jeho hybridního původu jsme se při studiu vnitrodruhové variability zevaru vzpřímeného zaměřili také na odlišení jednotlivých poddruhů, zvláště pak dvou velmi podobných – zevaru v. přehlíženého a z. vzpřímeného drobnoplodého. Pro porovnání genetické a morfologické variability blízkých příbuzných poddruhů jsme využili metodu AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism – polymorfismus délek amplifikovaných fragmentů), která poskytuje genetickou informaci napříč celým genomem a umožňuje odhalit i hybridizaci (viz také Živa 2015, 4: 165–168). Výsledky molekulárních analýz dobře rozlišily jednotlivé poddruhy a potvrdily také hybridní původ zevaru vzpřímeného vejcoplodého včetně jeho předpokládaných rodičů. Rovněž se ukázalo, že se tento hybrid už dále zpětně nekříží (nebo jen vzácně) se svými rodičovskými poddruhy. Při snaze odlišit morfologicky podobné poddruhy zevar v. přehlíženého a z. v. drobnoplodý jsme zjistili velkou proměnlivost ve tvaru nažek, a to u hojného z. vzpřímeného drobnoplodého, která tak znesnadňuje určování obou poddruhů.

Co prozradila velikost genomu?

Průtoková cytometrie, dnes už standardní, rychlá a nedestruktivní metoda, nám pomohla odhalit, že se jednotlivé druhy a poddruhy zevarů liší i ve velikosti jaderného genomu. Největší velikost genomu (2C hodnotu) jsme zaznamenali u z. úzkolistého, a to 1,26 pg (C-hodnota – velikost nereplikovaného haploidního genomu, udávaná v počtu párů bází nebo jako hmotnost DNA v pikogramech, tj. 10^{-12} g; viz např. Živa 2015, 1: 4). Dobře od něho můžeme odlišit i zevar jednoduchý s velikostí genomu 2C = 1,20 pg. Dokonce se ukázalo,

že se takto dají rozeznat některé poddruhy z. vzpřímeného (tab. 1). I zde nám rozložení hodnot velikostí genomu u tohoto druhu napovídá, že z. vzpřímený vejcoplodý mohl vzniknout křížením – velikost jeho genomu je mezi hodnotami uvažovaných rodičů. A morfologicky podobné poddruhy zevar v. přehlížený a z. v. drobnoploď se ve velikosti genomu také trochu odlišují. U z. nejmenšího jsme zjistili rovněž nejmenší velikost genomu, a to 0,84 pg.

Pro všechny druhy zevarů se uvádí stejný diploidní počet chromozomů ($2n = 30$), což naznačuje, že se druhy liší i ve velikosti chromozomů. Není tedy pravděpodobné, že by se na evoluci rodu nějak podílela polyploidie (zmnožení chromozomové sádky v buňkách).

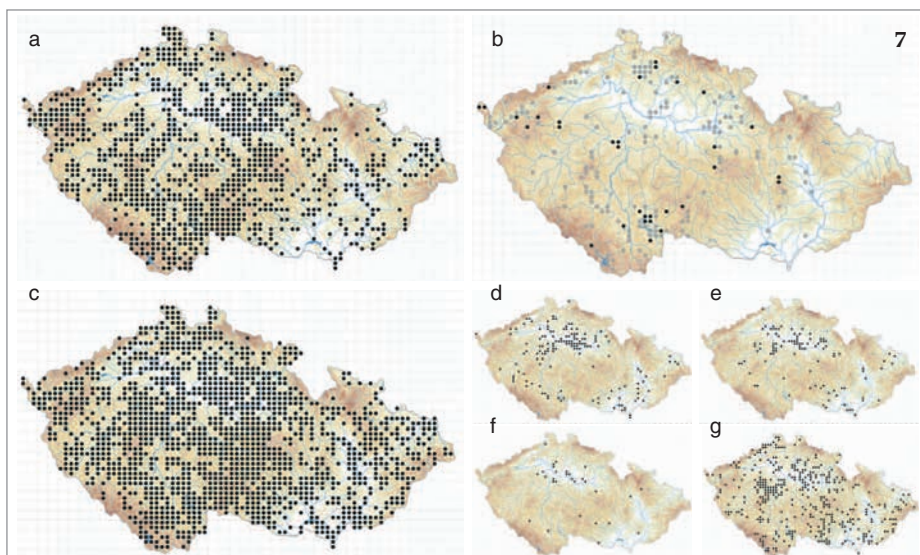
Ekologie a rozšíření

Převážná většina druhů zevarů se vyskytuje souvisle v severní boreální zóně, kde osídluje rozsáhlou škálu stálých nebo sezonních vodních stanovišť. Ačkoliv díky oddenkům mohou některé druhy obývat i bažiny nebo mokřiny bez stálé vody, ke klíčení nažek dochází jen při zaplavení. Semenáčky všech druhů se dále vyvíjejí ponořené ve vodě a jejich mladé listy netolerují vnoření nad hladinu. Během této juvenilní fáze však není možné rostliny určovat. Záleží pak na konkrétním druhu a místních ekologických podmínkách, zda listy zůstanou ponořené, nebo se později stanou plovoucími či vnořnými. Např. zevar úzkolistý kvete až po vytvoření pravých plovoucích listů s odlišenou svrchní a spodní stranou, na rozdíl od ostatních druhů, které kvetou i na obnaženém dně. Vnořené listy jsou zase typické pro zevar vzpřímený. Můžeme však pozorovat druhy jako z. jednoduchý – kvetoucí jak ve stadiu s plovoucími, tak s vnořnými listy.

Velká plasticita tvarů listů umožňuje zevarům růst na místech vystavených rychlým změnám hladiny vody a přežít značné mechanické poškození. Relativně hluboké kořeny, oddenky a šlahouny poskytují velmi dobré ukotvení v substrátu a rostliny tak mohou odolávat i větším záplavám a přívalům vody.

Jednotlivé druhy se liší také rozšířením a ekologickými nároky. Se zevarom nejmenším se setkáme téměř v celé Evropě, na sever až k polárnímu kruhu, v severní Africe a zasahuje rovněž na východ až do střední Sibíře. U nás se vyskytuje v mělkých vodách, např. v chráněných zátokách, kanálech a tůních s rašelinovým substrátem. Nejhojněji roste v rybníčních oblastech, např. v Třeboňské pánvi v jižních Čechách a v severních na Dokesku (obr. 7b).

Zevar úzkolistý má cirkumboreální rozšíření a bývá častější v suboceánických oblastech. V Evropě a Severní Americe vykazuje arkoalpínské rozšíření, běžný je v severní Evropě, kde se dostal až za polární kruh, zatímco ve střední a jižní Evropě se omezuje na vyšší horské polohy. Osídluje kyselá oligotrofní vody chladných horských jezer a u nás se dříve vyskytoval ve dvou ledovcových jezerech na Šumavě (Černé a Plešné jezero). Z obou kvůli silnému okyselení vody po kyselých deštích vymizel (Živa 2013, 5: 224–229), v posledních letech se však díky zlepšující se kvalitě vody v Plešném jezeře znovu objevil.



7 Mapy rozšíření jednotlivých druhů zevarů: z. jednoduchý (obr. a), z. nejmenší (b), z. vzpřímený (c) – z. vzpřímený pravý (d), z. v. vejcoploď (e), z. v. přehlížený (f), z. v. drobnoploď (g). Orig. Z. Kaplan



8 Okraj rybníka Horní Jílovky nedaleko Lázní Bohdaneč, zarostlý zevarom vzpřímeným pravým

9 Obnažené dno Starovického rybníka u Starovic jižně od Brna slouží jako přechodné stanoviště mnoha mokřadním rostlinám. Snímky S. Píšové, pokud není uvedeno jinak

Zevar jednoduchý má holarktické rozšíření s hlavní oblastí výskytu v mírném pásu. Roste v nižších polohách napříč Evropou od polárního kruhu po submediteránní oblast. V Asii je rozšířen na východ přes Sibír až do Japonska a jižně do Turecka. Roste na široké škále vodních stanovišť, ve stojatých i tekoucích vodách, ale obvykle poblíž břehů. U nás ho nejčastěji najdeme v jižních Čechách a v Polabí (viz obr. 7a). Tento druh kořeně hluboce, a tak je vysoce odolný vůči disturbancím, jako např. záplavám. Ačkoliv roste i v hlubší vodě (kde může být jen v ponořené – submerzní formě), kvete pouze v menších hloubkách (do 50 cm).

Tab. 1 Velikost genomu (2C hodnota v pikogramech, 10^{-12} g) zevarů (*Spartanium*) vyskytujících se v ČR. Blíže v textu

Druh/poddrůh	Velikost genomu
zevar úzkolistý	1,26 pg
z. jednoduchý	1,20 pg
z. nejmenší	0,84 pg
z. vzpřímený pravý	1,16 pg
z. v. vejcoploď	1,08 pg
z. v. přehlížený	0,99 pg
z. v. drobnoploď	1,02 pg

Zevar vzpřímený se vyskytuje v Evropě na sever až k polárnímu kruhu, v severní Africe a v mírném pásu Asie jeho areál sahá na jih po západní Himálaj, východně až do Japonska. Z pěti popsaných poddruhů jsou čtyři domovem v Evropě a také u nás. Ekologické nároky tohoto druhu jsou podobné jako u zevaru jednoduchého. Jestliže rostou pospolu, zevar vzpřímený osídluje mělké vody, nebo roste podél břehu. Jde o běžný druh kolem vodních toků, na okrajích rybníků, ve vodních kanálech a příkopech (obr. 8 a 9). Můžeme se s ním setkat po celé České republice, obzvláště běžný je v rybníčních oblastech a na dolních tocích řek.

Rozšíření jednotlivých poddruhů zevaru vzpřímeného bylo zpracováno v posledních letech v rámci projektu PLADIAS (Centrum analýzy a syntézy rostlinné diverzity). Mapy obsahují současné údaje doplněné o data jen z těch herbářových dokladů, které mohly být spolehlivě určeny podle zralých nažek (obr. 7c–g, Kaplan a kol. 2015). Zevar vzpřímený pravý u nás roste hlavně v Polabí a dále také v rybníčních v jižních Čechách a na dolních tocích řek na Moravě (obr. 7d). Předpokládáný hybridní poddruh z. vzpřímený vejcoploď má podobnou oblast rozšíření a setkáme se s ním především v Polabí (obr. 7e). Nejvzácnější z těchto čtyř poddruhů z. vzpřímený přehlížený najdeme ve středním Polabí, ve středních, jižních a východních Čechách a na Moravě (obr. 7f). Nejčastěji však narazíme na nejhojnější z. vzpřímený drobnoploď, známý ze všech oblastí, odkud je udáván i poddruhově blíže nerozlišený druh zevar vzpřímený, a který jako jediný obývá také horské oblasti (obr. 7g).



Na rozdíl od většiny druhů zevarů je zevar vzpřímený velmi tolerantní k disturbancím a dokáže přežít i značné poškození při povodních nebo vlivem vodní dopravy. Soliterní rostliny mají listy vějířovitě rozprostřené nad vodní hladinou, zatímco v hustém porostu tvoří listy téměř přímé. Zevar vzpřímený se vyskytuje ve vodách kyselých i brakických, ale zvládne růst dokonce v silně znečištěných kanalizačních vodách. Ideální podmínky pro tento druh poskytují mezotrofní až eutrofní vody

s pravidelným narušováním (záplavy, kolísání vodní hladiny). V pomalu proudících řekách a kanálech, kde se hromadí bahno a zanášejí se toky, se stává obtížným druhem (obr. 1).

Cestování po vodních tocích

Nažky zevarů jsou pokryté hydrofobní vrstvou a mohou plavat na vodní hladině déle než rok. Šíří se tak po vodních tocích na vzdálenost i několika desítek kilometrů. Obvykle však mráz v průběhu zimy naruší

vnější vrstvu oplodí. Na jaře se pak mokrá houbovitá střední vrstva oplodí rozloží a uvolní semeno, které klesá ke dnu, kde začne klíčit. Semenačky však za nepříznivých podmínek (zastínění, přítomnost řas) hynou; větší příležitosti k přežití mají při osídlování nových nezarostlých stanovišť. Zevary se také šíří vegetativně prostřednictvím oddenků odtržených od mateřské rostliny, ale tento případ není tak častý. Přenos diaspor probíhá vodním proudem, ptactvem nebo lodní dopravou. Nejčastěji se šíří jednosměrně po vodních tocích pomocí proudu, což vede ke zvyšování genetické diverzity v dolních částech řek. Nažky navíc slouží jako potrava pro vodní ptactvo, které zevarům umožňuje rozšířit se proti proudu a mezi řekami (blíže např. Živa 2013, 1: 11–14).

Ačkoliv jsme potvrdili současné rozlišování jednotlivých poddruhů zevaru vzpřímeného, rádi bychom pokračovali v našem výzkumu i s dalšími druhy zevarů.

Studium bylo podpořeno výzkumným záměrem Ministerstva školství mládeže a tělovýchovy (MSM0021620828) a projektem 14-36079G Centrum excellence PLADIAS a probíhá ve spolupráci s Botanickým ústavem AV ČR, v. v. i. (projekt RVO 67985939, výzkumný záměr AV0Z60050516).

Seznam použité literatury najdete na webové stránce Živy.

Hana Šimková

Nové poznatky v genetice rostlin V. Genomy obilovin (téměř) dočteny

Žijeme v převratné době, tedy alespoň z pohledu genomiky. V dubnu 2017 byla v časopise Nature publikována referenční sekvence genomu ječmene o velikosti téměř pět miliard párů bází. Projekt sekvenování byl zahájen před 12 lety a sekvence byla dokončena v r. 2015. Obdobný projekt pro genom pšenice o velikosti třikrát větší odstartoval v témže roce a v lednu 2017 bylo oznámeno dokončení sekvence, kterou lze v genomické terminologii označit za zlatý standard. Projekt sekvenování genomu žita o velikosti 8 miliard párů bází začal letos a v tomto roce by měl být také dokončen. Ne, není to omyl. Žijeme totiž v převratné době.

Jak se čtou velké genomy

Na počátku třetího tisíciletí, po dokončení celogenomové sekvence člověka (blíže viz Živa 2016, 5: 203–206), se projekty sekvenování nejrůznějších organismů rozjely rychlým tempem. Mezi prvními dokončenými se objevily malé genomy obilovin, jako jsou rýže setá (*Oryza sativa*, 466 Mb; Mb – milion párů bází) nebo čirok obecný (*Sorghum bicolor*, 770 Mb), o několik let později je následovala kukuřice setá (*Zea mays*) s genomem již přesahujícím dvě miliardy párů bází (2 Gb) a v r. 2012 také

proso seté (*Panicum miliaceum*, 1 Gb). Velké genomy našich nejvýznamnějších obilovin, jimiž jsou pšenice setá (*Triticum aestivum*) a ječmen setý (*Hordeum vulgare*), dlouho odolávaly, a tak se na jejich konečné podobě podepsala řada strategií a technologií.

Sekvenování velkých genomů, dosahujících velikosti v řádech miliard párů bází, bylo v minulosti spojeno s využitím přístupu klon po klonu (clone-by-clone sequencing; Živa 2012, 4: 155–157). Tato strategie, použitá např. pro získání celogenomové

sekvence člověka, ale i huseničku rolního (*Arabidopsis thaliana*), rýže nebo kukuřice, zahrnuje fragmentaci genomu na úseky o velikosti 100–200 tisíc párů bází (kb, kilobází – tisíc párů bází), jejich klonování v umělém bakteriálním chromozomu (Bacterial Artificial Chromosome, BAC), uspořádání klonovaných úseků do tzv. fyzické mapy rekonstruující jednotlivé chromozomy, sekvenování jednotlivých klonů a konečné sestavení a ověření celogenomové sekvence (obr. 1). Jak lze tušit z uvedeného (a ne zcela úplného) výčtu jednotlivých kroků, šlo o proceduru velmi pracnou a zdoluhavou. Odměnou za náročnou fázi předcházející sekvenování bylo relativně snadné sestavení získaných sekvenačních dat do podoby celogenomové sekvence. Alternativní strategie pro získání úplné genomové sekvence byla anglicky nazývána shotgun sekvenování, protože začínala rozbitím genomu na malé části, což připomínalo spoušť vyvolanou výstřelem z brokovnice. Krátké úseky DNA o délce několika kilobází se pak klonovaly v bakteriálních plazmidech a bez dalšího uspořádávání sekvenovaly. Ze získaných krátkých fragmentů přečtené DNA (anglicky reads) se bezprostředně sestavovala genomová sekvence. Po nástupu sekvenačních technologií nové generace (Next Generation Sequencing – NGS, viz Živa 2016, 2: 61–63 a také články na str. 118–120 a LXXIX–LXXXII tohoto čísla) bylo možné vypustit z celé procedury klonování v bakteriích a nahradit ho činností enzymů, s jejichž pomocí se DNA namnožila a opatřila adaptéry nutnými pro sekvenování. Tento neuspořádaný přístup se však jevil jako nevhodný pro velké genomy