

Evoluce genomu hub v závislosti na jejich ekologii

Velikostí genomu, také označovanou jako C-value neboli C-hodnota, je myšleno celkové množství DNA obsažené v haploidní sadě chromozomů daného organismu, přičemž v rámci druhu se předpokládá C-hodnota stabilní. Běžně se vyjadřuje v hmotnostních jednotkách pikogramech (pg, 10^{-12} gramu). Na rozdíl od prokaryotních organismů se eukaryota značně liší velikostí genomu. Podle dat dostupných z elektronických databází se C-hodnota u živočichů pohybuje v rozmezí od 0,02 po 132,83 pg a u rostlin od 0,01 po 152,2 pg (průměr 6,09 pg; viz např. Živa 2015, 1: 4). Oproti rostlinám a živočichům mají houby relativně malý genom, s průměrnou velikostí jen 0,038 pg. Z hub, u nichž byl sekvenován celý genom, má největší genom rostlinný patogen *Zopfia rhizophila* (vřeckovýtrusné – Ascomycota: zdovkotvaré – Pleosporales) s hodnotou 0,156 pg a nejmenší *Encephalitozoon romaleae* (mikrosporidie – Microsporidia) 0,002 pg. V literatuře však najdeme i údaje o velikosti 5,93 pg, a to u zástupce rodu *Neottiella* (vřeckovýtrusné: kustřebkotvaré – Pezizales) parazitujícího na mechu (blíže také v článcích na str. 222 a 257 tohoto čísla Živy).

Záhy bylo objeveno, že velikost genomu nesouvisí s komplexitou (genovou výbavou) organismu a začalo se uvažovat nad důvody tak velkých rozdílů v C-hodnotě. Záhadou nazývaná C-value paradox byla rozluštěna zjištěním, že velká část DNA je nekódující a nenese žádnou genetickou informaci. Jak už bylo řečeno, houby mají relativně malý genom. Jeho zvětšení totiž bývá často způsobeno rozšířením repetitivních sekvencí napříč genomem, k tomu mají houby vyvinuté obranné mechanismy. Malý genom s nahuštěnými geny je ideální pro nízkou spotřebu energie. Organismy s malým genomem pro syntézu DNA, tedy i pro růst a rozmnožování potřebují méně živin než organismy s velkým genomem, což s sebou přináší jistou výhodu. Ne vždy se ale vyplatí mít právě malý genom.

Přechod od saprotrofa k parazitovi nebo mutualistovi

Velká část hub se živí saprotrofně, tedy rozkladem neživých organických tkání a pletiv. Avšak v mnoha evolučních liniích došlo ke změně výživy, kdy houba přichází do těsného kontaktu s živými organismy. Jde o patogenní houby, které musejí překonat obranyschopnost parazitovaného jedince (obr. 1 a 2), a o mutualisty, žijící v oboustranně prospěšném vztahu s jiným organismem (obr. 3), což s sebou přináší nutnost sladit vzájemnou komunikaci, rozpoznávání a metabolismus. Často je houba vystavena novým výzvám, kdy musí zdolat mechanické a chemické překážky, aby pronikla do nitra buněk cizího organismu, kde musí nadále být schopna růst, přijímat živiny a rozmnožovat se. Získání nových vlastností se pojí se změnou v genetické výbavě. Ta může být dosažena např. duplikací genů s následným rozrůzněním jejich funkcí prostřednictvím mutací, ztrátou nepotřebných nebo dokonce nevhodných genů, horizontálním přenosem genů (vnesení cizího genu do vlastního genomu), rozšířením genových rodin umožňujících nutnou adaptaci nebo rozšíření repetitivních sekvencí, dále se mohou uplatnit různé chromozomové nebo genomové přestavby, které zprostředkují rozsáhlé změny v genetické výbavě či genové expresi. Radikální řešení pak přináší zdvojení celého genomu, tedy změna ploidie, která jedinci otevírá nový prostor pro hledání adaptačních inovací prostřednictvím mutací jednoho z duplikovaných genů. V současné

1 a 2 Onemocnění ořešáku černého (*Juglans nigra*) nazývané anglicky thousand cankers disease (obr. 1) je způsobeno masivním žírem lýkožrouta *Pityophthorus juglandis* a patogenní houbou vyvolávající nekrózu *Geosmithia morbida* (2). Končí odumřením celého stromu.



době již máme k dispozici anotace genomů celé řady hub patřících do různých taxonomických skupin a zastávajících různé životní strategie. To umožňuje jejich srovnání a hledání obecných tendencí, které se uplatňují v evoluci hub.

Trendy u houbových patogenů a mutualistů

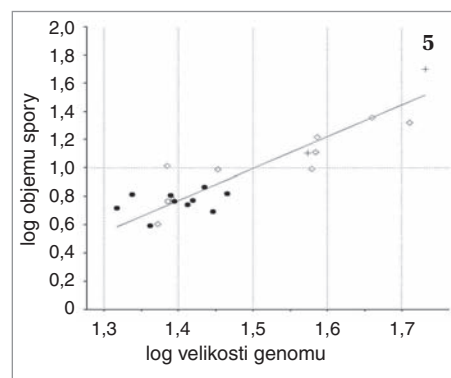
Přechod k parazitismu nebo mutualismu bývá spojován se zvětšením genomu. Není tedy divu, že u biotrofních parazitů z řádu rzi (stopkovýtrusné – Basidiomycota: Pucciniales) nacházíme v průměru mnohem větší genom (0,389 pg). Podobně je tomu u dalších biotrofních houbových patogenů, např. u druhů *Blumeria graminis* (parazit ječmene, ale i jiných obilovin a trav), *Golovinomyces orontii* (parazit huseničku rolního – *Arabidopsis thaliana*) a *Erysiphe pisi* (parazit hrachu setého – *Pisum sativum*) z řádu padlí (vřeckovýtrusné: Erysiphales), které dosahují velikosti genomu přes 0,1 pg. U všech těchto hub byla celogenomovou sekvenací odhalena ztráta genů typicky se vyskytujících u saprotrofních hub, nadbytečných u biotrofních parazitů. Jde např. o geny kódující enzymy anaerobního metabolismu (v podmínkách bez dostupného kyslíku), protože všechny tyto houby parazitují nadzemní orgány rostlin, takže se vždy nacházejí v prostředí s kyslíkem. Jejich genom je tedy relativně chudý na geny a naopak plný nekódujících mobilních genetických elementů (MGE). Ty mají zpravidla neutrální nebo negativní vliv na fitness organismu, jelikož mohou způsobovat mutace, inserce, nesprávné (ektopické) párování chromozomů atd., nicméně zároveň představují bohatý zdroj genetické variability. Elegantní způsob, jak obejít negativní vliv MGE a přitom těžit výhody, je lokalizovat MGE jen do určitých oblastí genomu, v nichž nemohou ohrozit funkci genů nutných pro přežití. Takové uspořádání genomu vedlo k návrhu modelu anglicky nazvanému two-speed genome. Oblasti bohaté na MGE vytvářejí prostor pro rychlou adaptivní evoluci svého nositele, která odráží potřebu patogenu reagovat na vyvíjející se obranu hostitele v neustálém evolučním „závodě ve zbrojení“. Není proto divu, že geny v oblasti bohaté na MGE jsou vysoce druhově specifické a kódují efektorové proteiny, sloužící jako faktory virulence. Efektory snižují obranyschopnost rostlin a mění jejich fyziologii tak, aby vyhovovala houbovému patogenu a zásobovala ho živinami. Obdobně velké množství MGE je zřejmě spojeno s vysokou diverzitou genů kódujících proteiny důležité pro komunikaci (tzv. small secreted proteins) mezi ekto-mycorhizními houbami lakovkou dvubarvou (*Laccaria bicolor*; stopkovýtrusné: pečárkotvaré – Agaricales) či *Cenococcum geophilum* (vřeckovýtrusné: Dothideomycetes) s jejich rostlinnými partnery.

Zajímavý postřeh přineslo srovnání genomů tří fytopatogenních druhů rodu *Fusarium* (vřeckovýtrusné: masenkotvaré – Hypocreales), jež vykazují buď úzké (*F. graminearum*, *F. verticillioides*), nebo široké (*F. oxysporum*) spektrum hostitelských rostlin. Druh *F. oxysporum* má v porovnání s nimi mnohem větší genom (0,06 pg proti 0,04 pg) s řádově vyšším procentuál-



ním zastoupením MGE (20 % proti nejvýše 0,5 %). Zároveň jsou u něj MGE společně s geny uplatňujícími se při patogeně lokalizovány na tzv. přídatné neboli nadbytečné chromozomy. Mezi kmeny *F. oxysporum* navíc snadno dochází k rozšíření přenosu celých těchto chromozomů, které tak zřejmě zodpovídají za vysokou genovou diverzitu mezi izoláty a rychlou adaptační schopnost v koevoluci s hostitelem. Vznikají tak zcela nové patogenní linie a rozšiřuje se spektrum hostitelů.

Zvětšení genomu může vycházet nejen z rozšíření mobilních genetických elementů, ale také z duplikace některých chromozomů (aneuploidie) nebo změny ploidie. Zatímco u rostlin se předpokládá, že genomy fylogeneticky odvozenějších druhů vznikly několikanásobným zdvojením genomu ancestrálních linií, u hub byla dlouho taková možnost přehlížena. Nejlépe popsanou je celogenomová duplikace u kvasinek, kde následně proběhla postupná haploidizace genomu a náhodné ztráty či mutace duplikovaných genů, což vedlo ke vzniku nových druhů. Nejde však o ojedinělý případ. Recentní i dávné polyploidní události se uskutečnily ve všech hlavních skupinách hub. Vzácný není ani vznik polyploidů při mezidruhovém křížení (alopolyploidie) – příkladem může být mnohonásobný vznik nových druhů endofytních symbiontů trav v rodech *Epiclloë* (masenkotvaré) nebo *Melampsora* (rzi). Ukázalo se, že polyploidie u hub může znamenat adaptaci na okolní stresující



podmínky, kdy polyploidní/aneuploidní jedinci vykazují větší odolnost – např. adaptivní odolnost vůči antimykotikům a toleranci k vyšším teplotám (příklady druhů kolonizujících jedno nebo více extrémních stanovišť v článku na str. 208) u patogenní kvasinky *Candida albicans* (vřeckovýtrusné: kvasinkotvaré – Saccharomycetales) nebo u druhu *Cryptococcus neoformans* (stopkovýtrusné: Filobasidiales), a mají větší enzymatický potenciál než jejich haploidní/diploidní předci.

Co s sebou přináší změna ve velikosti genomu?

V předchozích kapitolách jsme si ukázali, že zvětšení genomu, ať už šířením MGE, nebo duplikacemi genomu nebo jeho částí, může být adaptační odpovědí houby na její životní strategii. Tím však příběh nekončí. Nový pohled na evoluci genomu přinesla myšlenka, že DNA neovlivňuje

3 Chodbičky ambróziového brouka rodu *Microcorthyus* s masivním bílým porostem ambróziové houby *Geosmithia microcorthyli*. Brouk houbě umožňuje přenos spor na nový substrát vhodný k růstu a houba broukovi slouží jako výhradní zdroj potravy.

4 Fenotyp ambróziových hub ukázaný na druhu *Geosmithia eupagioceri* (vlevo) v porovnání s druhem *Geosmithia* sp. asociovaným s lýkožravým kůrovcem (vpravo). Je patrné, že ambróziové houby vytvářejí velké, převážně solitérní kulovité spory, zatímco houby asociované s lýkožravými kůrovci produkují velké množství malých eliptických spor spojených do řetízků. Snímky M. Kolaříka, pokud není uvedeno jinak

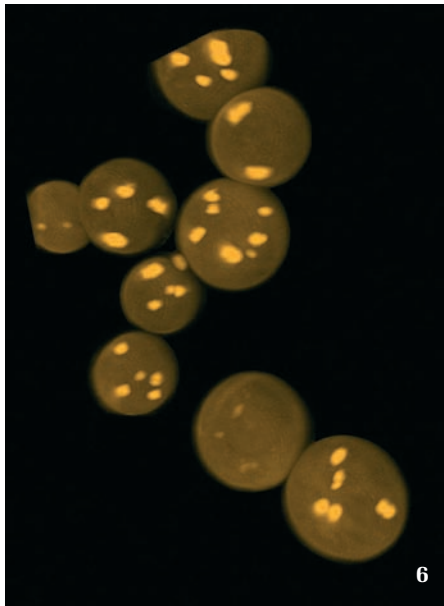
5 Korelace objemu spor a velikosti genomu v rodě *Geosmithia* v závislosti na jeho ekologii. Kruh – fakultativní symbionti, kosočtverec – druhy s dlouhou koevolucí s kůrovcem, křížek – ambróziové houby. Blíže v textu

6 Mnohohaderné spory ambróziové houby *G. eupagioceri*. Jádra jsou značená fluorescenční barvou propidium jodidem a skenována konfokálním mikroskopem. Foto T. Veselská

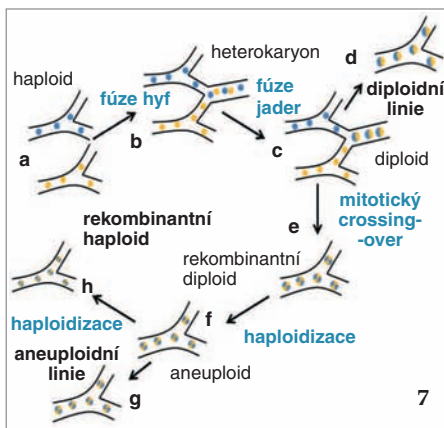
7 Schéma vzniku diploidních nebo aneuploidních linií z haploidních předků a pozměnění genetické výbavy vnitro- a mezidruhovým křížením u hub; a – haploidní mycelia, $1n$ (n – haploidní počet chromozomů, x – základní chromozomové číslo); b – fúze mycelií se vznikem heterokaryonu, $1n + 1n$ (přítomnost geneticky odlišných haploidních jader v hyfách); c – jaderná fúze a vznik diploidních jader ($2n$); d – vznik diploidní linie, křížením uvnitř druhu (autopolyploidie) nebo mezi odlišnými druhy (alopolyploidie); e – rekombinace genetické informace při mitotických děleních (crossing-over); f – haploidizace, náhodné ztráty chromozomů během následných mitotických dělení; g – vznik aneuploidních linií, $1n + x$ (některé chromozomy zůstávají duplikované); h – haploidní linie s pozměněnou genetickou výbavou (kombinace genů rodičovských jader). Orig. T. Veselská (obr. 5 a 7)

vývoj organismu pouze přítomnými geny (genotypem), ale i svým celkovým množstvím, označeným jako nukleotyp. Od té doby objevujeme stále více korelací mezi velikostí genomu a fyziologií, morfologií i ekologií celé řady organismů.

Nejčastější korelací nacházenou napříč vzdálenými druhy organismů je závislost mezi velikostí genomu a buňky. Čím větší genom, tím větší je buňka, která ho nese. Velikost genomu pozitivně koreluje také s velikostí jádra, i když zde bývá závislost složitější, protože velikost jádra je ovlivněna celkovou kondenzací DNA, která se může v čase měnit. Další významnou závislost představuje negativní korelace s rychlostí jaderného mitotického a meiotického dělení. V souhrnu tedy lze říci, že větší genom budou obsahovat větší buňky s pomalým buněčným cyklem. Jelikož velikost a rychlost růstu jsou významným aspektem ve vývoji jedince, velikost genomu silně ovlivňuje i ekologii organismu.



U hub je doposud vliv velikosti genomu na ekofyziologii studován jen sporadicky, ale i z těchto vzácných studií vyplývá, že také u hub se uplatňuje pozitivní vztah mezi velikostí genomu a buňky. Častěji nalezneme spíše studie zkoumající vliv abiotických podmínek a klimatických změn na fenotyp (velikost spor a plodnic) a druhové složení společenstev. U rostlin a živočichů pozorujeme volbu mezi produkci často většího počtu malých, nebo investici do obvykle nižšího počtu větších potomků. Větší potomci mívají vyšší životaschopnost, nicméně na jejich tvorbu se spotřebuje více energie. U hub není tato závislost tak přímočará, jelikož spory hub se většinou šíří větrem. Tím pádem jsou jejich velikost a tvar omezeny. S velikostí spor klesá potenciální vzdálenost jejich přenosu a stoupá pravděpodobnost, že budou zachyceny překážkami. Přibližně 75 % studovaných anemochorních hub tak vykazovalo pouze nízkou (do 1 %) odchylku od předpokládaného optimálního elipsoidního tvaru spory pro šíření větrem. Naproti tomu houby, které se vzduchem nešíří, např. symbionti hmyzu nebo houby s podzemními plodnicemi, umíky tak aerodynamickému omezení a mohou si dovolit produkovat velké jedno- i vícebuněčné spory různých tvarů. Velké spory v sobě nesou více živin a vody nutných ke klíčení a jsou odolnější vůči stresujícím podmínkám, např. vyšším teplotám nebo nižšímu množství srážek, což rozšiřuje časově i prostorově jejich potenciální niku. Do jaké



míry u těchto druhů zvětšení spor doprovází zvětšení genomu, zatím nevíme.

Co se skrývá za fenotypem ambróziových hub

Na provázanost ekologie, velikosti spor a genomu jsme narazili při zkoumání evoluční ekologie hub asociovaných s podkorním hmyzem, konkrétně patřících do rodu *Geosmithia* (masenkotvaré; Živa 2004, 2: 73–75). Tyto houby roznášejí kůrovci (brouci – Coleoptera: Scolytinae) do lýka dřevin, kde brouk vytváří chodbičky, žije se lýkem a částečně i myceliem asociované houby. Mezi partnery můžeme rozlišit různou sílu asociace od víceméně fakultativní symbiocy u lýkožravých kůrovců až po obligátní symbiózu, kterou známe mezi dřevokaznými brouky (tzv. ambróziovými brouky) a jejich symbiotickými ambróziovými houbami (obr. 3). V tomto partnerství se houba pro brouka stává jeho jediným zdrojem živin a brouk naopak jediným prostředkem šíření houby na nový substrát. Soužití hub s ambróziovými brouky vzniklo v evoluci nezávisle v několika houbových řádech, tím spíše je až zarážející jejich fenotypová podobnost projevující se především tvorbou velkých solitérních kulatých spor (viz obr. 4), které broukovi slouží jako zdroj živin. Tento výrazný fenotyp ambróziových hub a všudypřítomná závislost mezi velikostí buňky a genomu nás vedla k hypotéze, jestli právě tímto mechanismem nebyla utvářena evoluce fenotypu ambróziových hub. Zjistili jsme výraznou pozitivní korelaci mezi objemem spor a velikostí genomu, která byla dále silně ovlivněna ekologií jednotlivých druhů (obr. 5). Míra selekce, a tedy i posunu znaků, souvisela se vzájemnou provázaností partnerů a vedla až k dvojnásobné změně ve velikosti genomu, případně znásobení jader v rámci spory (obr. 6) u obligátních ambróziových symbiontů. Selektce a následný posun znaků vedoucí ke zvětšení spor těchto užších symbiontů byl umožněn vyproštěním se z aerodynamického omezení, a zároveň skutečností, že větší spory poskytují broukovi lepší zdroj živin – mají výhodnější poměr stravitelné složky (buněčného obsahu) vůči nestavitelné (buněčná stěna). Zatím čeká na rozluštění, zda k nárůstu velikosti genomu u ambróziových druhů rodu *Geosmithia* došlo polyploidizací, nebo rozšířením repetitivních sekvencí, a zda se stejný fenomén podílí i na evoluci fenotypu dalších druhů ambróziových hub.

Je změna velikosti genomu adaptací?

Houbový genom je značně plastický a jeho přestavami houba může účinně reagovat na své prostředí, ať jde o komunikaci s jiným organismem v průběhu patogeneze, nebo ustanovení mutualistické symbiocy. Nesmíme také zapomínat na efekt velikosti genomu jako takové, která ovlivňuje fyziologii a ekologii daného organismu. Snad další výzkum ukáže, do jaké míry může být velikost genomu sama o sobě pokládána za adaptační znak při studiu ekologie hub.

Seznam doporučené literatury uvádíme na webové stránce Živy.