

Největší světová databáze výskytu arbuskulárních mykorhizních hub

GlobalAMFungi databáze je nejkomplexnější atlas globálního rozšíření arbuskulárních mykorhizních (AM) hub a nástroj (nejen) pro hodnocení jejich ekologických nik. Poskytuje detailní informace o složení společenstev arbuskulárních mykorhizních hub ve vzorcích půdy i kořenů ze všech kontinentů a představuje dosud nejobsáhlejší zdroj informací o výskytu jednotlivých druhů těchto významných rostlinných symbiontů.

Arbuskulární mykorhizní houby – jak vypadají a na základě čeho je lze určit
Tyto houby jsou klíčovými mutualistickými symbionty většiny rostlinných druhů a hrají zásadní roli v příjmu živin rostlinami a zmírňování biotického i abiotického stresu (více v Živě 2017, 5). Ačkoli jsou nepostradatelné pro fungování ekosystémů, doposud víme překvapivě málo o jejich biogeografii a zákonitostech, které ji určují.

AM houby se vyznačují tvorbou jednotlivých nepohlavních spor v půdě, někdy i v kořenech rostlin. Některé druhy vytvářejí shluky spor nebo sporokarpy. Půdu prorůstá jejich mycelium – houbová vlákna (hyfy), sloužící především k získávání živin z půdy. Uvnitř kořenů najdeme vlákna AM hub, která se rozrůstají mezi buňkami kořene a také uvnitř nich, a útvary jednak s funkcí zásobní, v podobě váčků zvaných vezikuly, jednak s funkcí výměny živin – bohatě větvené útvary zvané arbuskuly, někdy také smyčky a cívky hyf (obr. 1).

Pro popis jednotlivých druhů hub se od počátku mykorhizního výzkumu používala hlavně morfologie spor – jejich velikost, barva, stavba a tloušťka stěn, případně ornamentace na jednotlivých stěnách (obr. 2–5). Tyto znaky lze pozorovat jen pod kvalitním mikroskopem a morfologickou identifikaci ztěžuje i to, že spory z přírody často bývají již mrtvé, parazitované

i jinak poškozené a postrádají potřebné identifikační znaky. Spory jednotlivých druhů jsou pro nezkušeného pozorovatele velmi podobné a vzhled se navíc mění během ontogeneze, takže různé staré spory mohou mít různou velikost, barvu i stavbu. Druhovú identifikace AM hub proto ještě nedávno vyžadovala dlouholetou praxi a spoustu času stráveného u mikroskopu.

AM houby jsou obligátní symbionti, to znamená, že pro dokončení životního cyklu potřebují přítomnost hostitelské rostliny. Pokud chceme mít živou kulturu AM houby, většinou ji musíme pěstovat ve skleníku v nádobě s nějakou univerzální hostitelskou rostlinou, jako je např. kukuřice setá (*Zea mays*, obr. 6), širok obecný (*Sorghum bicolor*), pór zahradní (*Allium porum*) a jitrocel kopinatý (*Plantago lanceolata*). Ne všechny druhy AM hub ovšem v takových podmínkách ochotně rostou, některé potřebují pro úspěšný rozvoj více času nebo specifické podmínky. Celou řadu druhů nelze pěstovat vůbec.

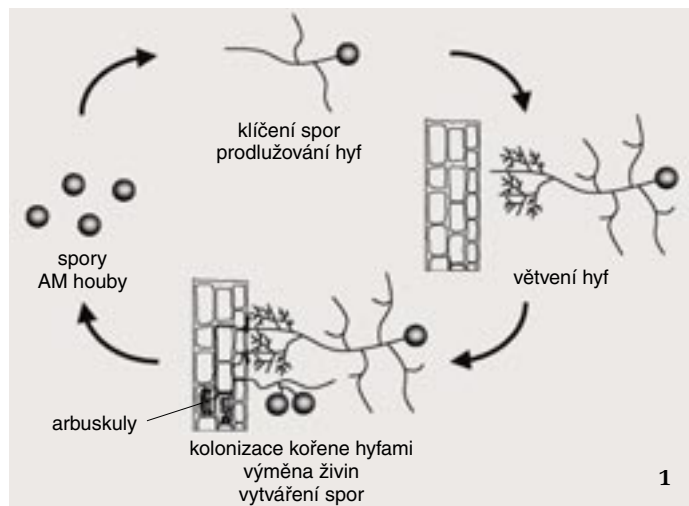
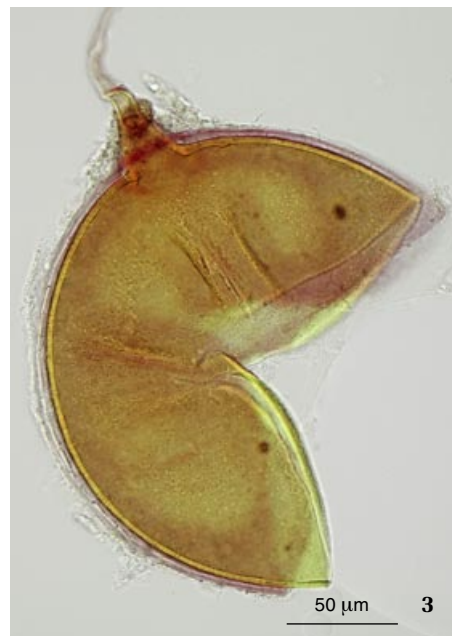
Velký rozvoj mykorhizního výzkumu přinesly molekulární metody, především sekvenování DNA. Amplifikace části ribozomální DNA pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) umožňuje identifikovat AM druhy, ať už jsou přítomné v podobě spor, nebo mycelia kolonizujícího kořeny a půdu. Tato metoda je přístupná pro každé

1 Životní cyklus arbuskulární mykorhizní (AM) houby. Ze spor vyrůstají houbová vlákna (hyfy), ta se mohou větvit, prorůstat půdou a vstupovat do kořenů hostitelské rostliny. Zde vlákna kolonizují mezibuněčné prostory, vstupují do buněk a vytvářejí vezikuly (v obr. nejsou zakresleny) nebo arbuskuly. Mycelium poté prorůstá ven do půdy, kde se na něm vytvářejí spory. Blíže v textu. Převzato z článku: K. Akiyama (2007), s laskavým svolením autora, legenda upravena

2 a 3 Spory AM hub se pro určení druhu rozmáčknou na podložním skle a barví specifickými činidly pro zvýraznění struktury jejich stěn. *Diversispora epigaea* (obr. 2) – na místě prasknutí spory lze pozorovat strukturu stěn a olejové kapénky, které původně sporu vyplňovaly. *Funneliformis mosseae* (3) – charakteristickým znakem tohoto rodu je nálevkovité připojení houbového vlákna ke spoře. Načervenalé zbarvení je reakce nejsvrchnější vrstvy spory na Melzerovo činidlo.

Foto M. N. Maraschalchi

ho výzkumníka, který disponuje molekulární laboratoří a příslušnými financemi, není tedy náročná na expertizu získanou dlouholetým studiem.





Na základě morfologického popisu (a v řadě případů zároveň i pomocí sekvencí DNA) je v současné době vymezeno jen kolem 350 druhů AM hub. To je poměrně malé číslo i s ohledem na to, že AM houby asociují s mnohonásobně větším počtem rostlin – aktuálně se odhaduje přes 200 tisíc druhů hostitelských rostlin. Každoročně se daří kombinací morfologických a molekulárních metod popsat nové druhy AM hub (v počtu nižších desítek druhů), nicméně se zdá, že tytéž druhy mohou být rozšířené na různých stanovištích, často na několika světadílech a tvoří mykorrhizu s mnoha hostitelskými rostlinami. To znamená, že jejich specificita je nízká. Poměrně velké úsilí věnují výzkumné týmy molekulárním analýzám diverzity AM hub v nejrůznějších ekosystémech různých oblastí světa – často si kladou otázku, jak diverzita a složení společenstev AM hub souvisí s podmínkami prostředí, jako je spektrum hostitelských rostlin, teplota, srážky, množství živin v půdě, zemědělské postupy, změny klimatu apod. Zde se ukazuje, že u mnoha „molekulárních“ taxonů AM hub (vymezených pouze na základě podobnosti sekvencí DNA nebo definovaných při fylogenetické analýze jako samostatné větve) neznáme morfologický protějšek. Je tedy pravděpodobné, že diverzita AM hub v přírodě je zčásti skrytá a čeká nás objevování a popisování nových druhů; současně je ale možné, že se u řady druhů popsanych dosud jen na základě sekvencí DNA nalézt jejich spory nepodaří.

Databáze GlobalAMFungi

Žádný atlas nebo přehled globálního rozšíření druhů AM hub dosud nebyl vytvořen. Náš tým složený z vědců z Mikrobiologického a Botanického ústavu AV ČR a z Univerzity Tartu v Estonsku se rozhodl zaplnit tuto mezeru v poznání a atlas připravit. Výsledkem je volně přístupný soubor dat o globálním výskytu AM hub, nazvaný databáze GlobalAMFungi (podrobně viz Větrovský a kol. 2023). Databázi jsme založili na DNA sekvencích získaných pomocí High Throughput Sequencing (HTS) – velkokapacitního sekvenování, které umožňuje zpracovat mnoho vzorků najednou za poměrně rozumnou cenu. Databáze obsahuje téměř 50 milionů sekvencí AM hub z téměř 8 500 vzorků kořenů rostlin nebo půdy. Ke každému vzorku je známa zeměpisná poloha, klimatické údaje jako průměrná roční teplota či srážky, půdní charakteristiky jako pH a dostupné živiny, údaje



o hostitelských rostlinách a další data získaná ze stovky původních vědeckých studií. Databáze GlobalAMFungi je postavena na sekvenčních datech pocházejících ze tří oblastí ribozomální DNA, které se běžně používají pro specifickou detekci AM hub molekulárními metodami – jde o malou podjednotku (SSU), vnitřní prepisovaný mezerník (ITS) a velkou podjednotku ribozomální RNA (LSU).

Uživatelské rozhraní na webové adrese <https://globalamfungi.com> je dostupné odborníkům i laické veřejnosti a umožňuje uživateli přístup k souboru dat a jeho analýzu mnoha způsoby (obr. 7). Lze např. vyhledat konkrétní molekulární taxon nebo druh AM houby, druh hostitelské rostliny, vybrat typ molekulárního markeru nebo konkrétní vědeckou studii. Uživatel může také použít sekvence DNA z vlastního výzkumu a spustit BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) – hledání identických či podobných sekvencí v databázi. Vzorky, v nichž byl zjištěn taxon AM hub, který je předmětem zájmu, se dají rovněž třídit podle vybraných klimatických a půdních charakteristik a porovnat je s celým souborem dat GlobalAMFungi, aby bylo možné určit potenciální ekologické preference daného AM taxonu. Vyhodnotit můžeme i jeho četnost ve vzorcích a zobrazit na mapě, kde byly tyto vzorky odebrány. Též se dají najít vzorky a taxony AM hub pocházející z konkrétní geografické oblasti. Databázi tak lze využít ke studiu ekologie a biogeografie, např. k vyhledávání ohni-

4 a 5 *Rhizophagus manihotis* – vnější hyalinní stěna spory má granulární strukturu, proto snadno praská (obr. 4). U tohoto rodu se spory často tvoří i uvnitř kořenů (5). Foto M. N. Marascalchi

6 Sbírka čistých kultur AM hub ve skleníku Oddělení mykorrhizních symbióz Botanického ústavu AV ČR. AM houby nerostou bez kořenů hostitelských rostlin, proto je nutné je pěstovat s univerzálním hostitelem. V popředí kukuřice setá (*Zea mays*), vzadu stužkovce *Desmodium heterocarpon* subsp. *ovalifolium*. Foto D. Püschel

7 Úvodní strana GlobalAMFungi (<https://globalamfungi.com>). Mapa ukazuje geografický původ všech vzorků, které jsou v současné době v databázi. Jednotlivé vzorky znázorněny barevnými kolečky

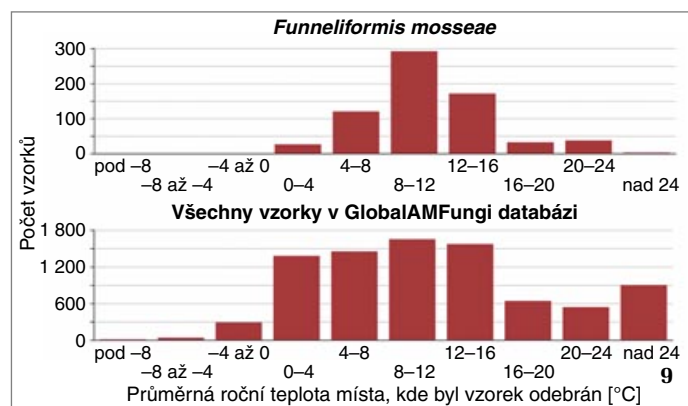
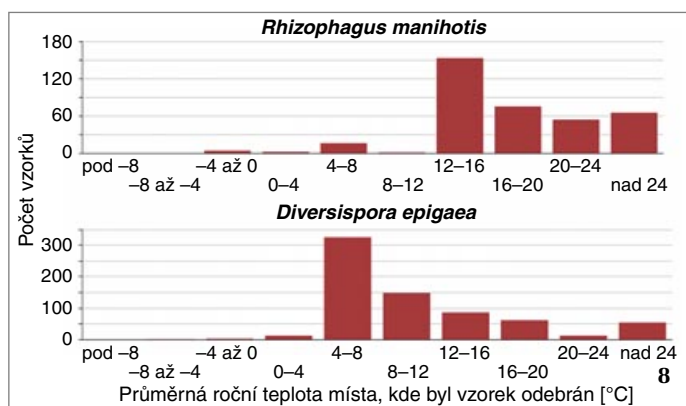
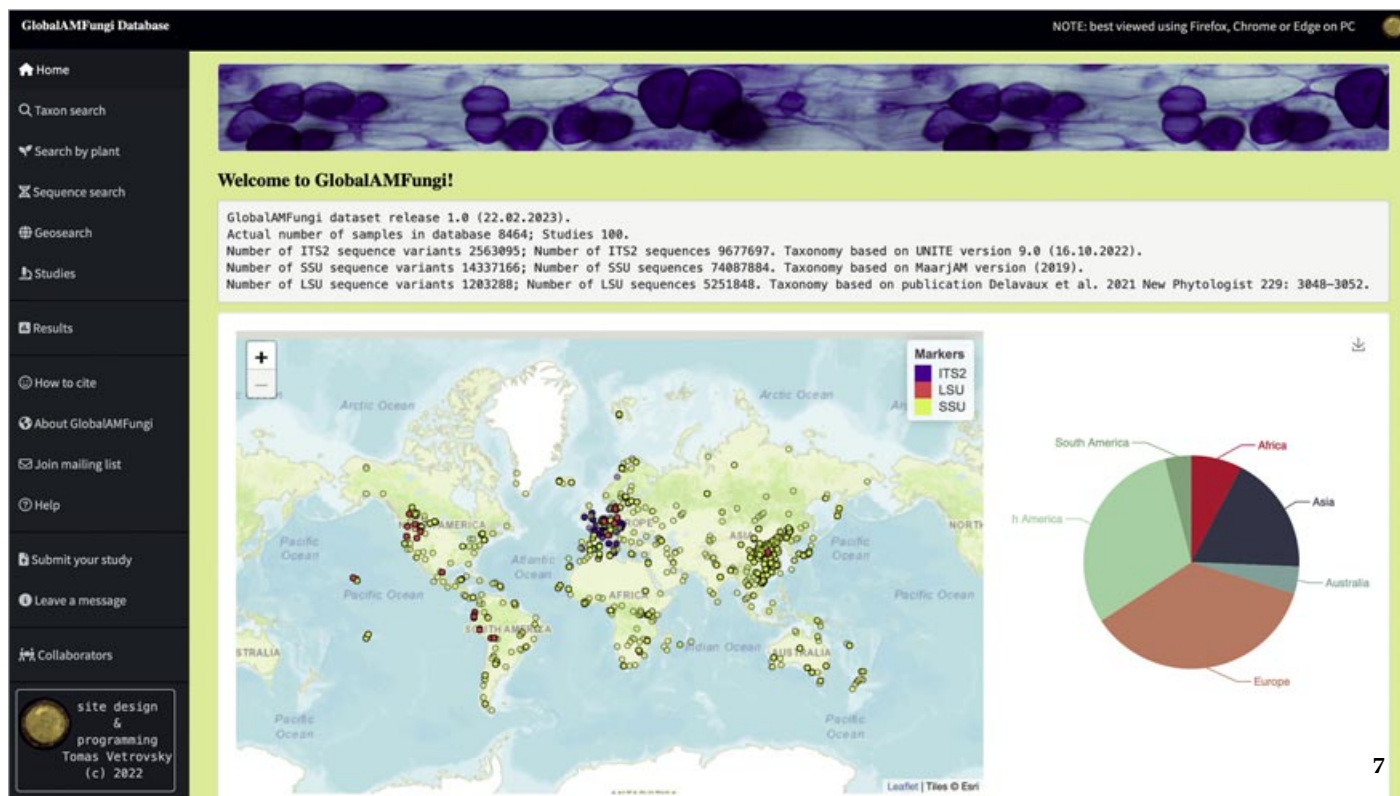
8 a 9 Grafy průměrné roční teploty stanovišť, na kterých byly odebrány vzorky s cílovým druhem AM houby.

Z porovnání s grafem pro všechny vzorky v GlobalAMFungi databázi vidíme, že *Rhizophagus manihotis* byl nalezen na teplejších místech, naopak *Diversispora epigaea* na místech chladnějších. *Funneliformis mosseae* nevyskytuje zřejmě teplotní preference. Orig. Z. Kolaříková

sek diverzity AM hub, identifikaci nedostatečně prostudovaných zeměpisných oblastí i k vyhodnocení případných preferencí druhů, rodů a čeledí pro různé biomy. Další možností je porovnání přednostního výskytu různých AM hub v půdě či kořenech, tedy převažující investice do mimo-kořenového mycelia a spor, nebo naopak do vnitřního kořenového mycelia.

Příklady využití GlobalAMFungi

● **Chceme znát taxony AM hub detekované ve vzorcích z České republiky.** Označíme pomocí funkce geosearch pouze oblast ČR a vidíme, že zde máme k dispozici data z pěti studií z úctyhodných 637 vzorků rozestřených víceméně po celé republice (viz obr. na webu Živy), ovšem naprostá většina pochází pouze z jednoho typu ekosystému, a to z luk. V těchto vzorcích byli nalezeni zástupci všech 9 hlavních čeledí AM hub: Claroideoglomeraceae, Paraglomeraceae, Diversisporaceae, Acaulosporaceae, Archaeosporaceae, Ambisporaceae, Perretaceae, Glomeraceae a Gigasporaceae. Do druhu šlo určit 55 taxonů AM hub, ale mnoho dalších známe jen z molekulárních dat. I tak můžeme konstatovat, že naše území je, pokud jde o AM houby, nebývale dobře



prosbírané, bylo by však zajímavé přidat i vzorky z jiných než lučních ekosystémů. ● **Chceme stanovit realizované ekologické niky vybraných druhů AM hub.** Realizovaná nika je ekologický termín, který popisuje skutečný rozsah podmínek prostředí, v nichž daný organismus žije a prospívá. Je ovlivněna abiotickými faktory prostředí (např. dostupností živin, teplotou, pH), ale i biotickými interakcemi s jinými organismy (konkurencí, predací). Použijeme funkci taxon search pro vyhledání cílových druhů AM hub a následné zjištění jejich četnosti v jednotlivých vzorcích. Záznamy o výskytu vybraných druhů v databázi lze použít i ke zjištění zeměpisných souřadnic lokalit, kde byly zaznamenány. Pak můžeme pro tyto souřadnice získat data o klimatických (např. průměrná roční teplota, roční úhrn srážek) a edafických faktorech (pH půdy, obsah organické hmoty, obsah dusíku atd.) z veřejně dostupných databází (např. WorldClim, SoilGrids). Klimatická a edafická data jsou také součástí údajů k většině vzorků obsažených v databázi GlobalAMFungi. Tato tzv. metadata pohodlně stáhneme přímo z hlavního rozhraní v záložce metadata. Pomocí vícerozměrných statistických metod lze určit klíčové faktory prostředí, které ovlivňují distribuci studovaných druhů

AM hub. Z dosud dostupných výsledků víme, že je to hlavně teplota a pH (Davison a kol. 2021). Jako poslední krok stačí získaná data využít k výpočtu realizované ekologické niky. Analýzu tohoto typu samozřejmě zkusíme, až budou do databáze přibývat další studie a vzorky – zatím máme pro řadu AM taxonů vzorků příliš málo, takže případné závěry by mohly být nepodložené. ● **Hledáme druhy AM hub, které by mohly mít preferenci pro určitou teplotu,** tedy prospívat lépe buď v chladnějších, nebo teplejších místech. Opět volíme funkci taxon search, vybíráme postupně jednotlivé taxony AM hub a pro všechny vzorky, v nichž byl daný taxon nalezen, necháme zobrazit záložku MAT MAP. Zde vidíme pod sebou porovnání klimatických podmínek míst, kde byl detekován hledaný AM taxon, s těmi, odkud pocházejí všechny vzorky v databázi. Snadno tak zjistíme, že např. *Rhizophagus manihotis* nebo *Gigaspora rosea* preferují teplejší stanoviště, zatímco např. *Diversispora epigaea* nebo *Claroideoglossum etunicatum* spíše stanoviště chladnější (obr. 8). Jiné druhy AM hub, jako např. *Funneliformis mosseae* nebo *Rhizophagus irregularis*, naopak nevykazují zjevné teplotní preference a vyskytují se na stanovištích s celou škálou teplotních

podmínek (obr. 9). Podobně jako u druhého příkladu, i zde platí, že analýza tohoto typu se zpřesní s přibývajícím počtem studií a vzorků v databázi.

Závěrem

Databáze GlobalAMFungi je vědecká iniciativa splňující principy FAIR dat, jež jsou nalezitelná (Findable), dostupná (Accessible), interoperabilní, tedy integrovatelná s jinými datovými sady (Interoperable) a opětovně využitelná (Reusable). Je koncipována jako trvalý počín, který bude průběžně aktualizován doplňováním sekvencí a dat z dalších, v mezidobě zveřejněných studií. Údaje z databáze přispívají k určení faktorů rozhodujících o výskytu jednotlivých druhů AM hub. Výstupy následně pomohou zodpovědět důležité otázky, např. jak mění klima ovlivní rozšíření jednotlivých druhů AM hub a s nimi i růst a prosperitu symbiotických rostlin, včetně významných plodin.

Výzkum podpořila Grantová agentura ČR (projekty č. 22-06936S a 21-17749S).

Použitá literatura uvedena na webu Živy. K dalšímu čtení např. Živa 2017, 5: 233–236 a 237–240; 2021, 3: 125–131.