



OBEČNÁ MYKOLOGIE

(místy se zvláštním zřetelem k makromycetům)

- Vymezení pojmů „houby“ a „mykologie“ • Historický výskyt a teorie o původu hub
- Stavba houbové buňky (cytoplazma, organely, jádro a bun. cyklus, bun. stěna)
 - Výživa a obsahové látky hub • Vegetativní stélka hub (nemyceliální houby, hyfy, hyfové útvary, pletivné útvary, stélka lišejníků, růst houbové stélky)
 - Rozmnožování hub (vegetativní, nepohlavní, pohlavní) • **Genetika hub**
 - Plodnice hub (sporokarpy, askokarpy, bazidiokarpy, anatomie plodnic, hymenofor, hymeniální elementy) • Spory hub (typy a stavba, šíření a klíčení)

GENETIKA HUB

Na rozdíl od rostlin a živočichů mezi houbami nepřevažují diplobionti, ale haplobionti (případně haplo-dikaryonti) – ve vegetativním stadiu s jednou sadou chromosomů se tak genotyp bezprostředně projevuje ve fenotypu. Základní výměna genetického materiálu nastává v rámci různých typů pohlavního (nebo případně parasexuálního) procesu.

Při fúzi buněk je kromě jaderné DNA (jež nese stěžejní podíl genetické informace) přenášena též DNA v mitochondriích (lineární i kruhové genofory, mohou se sejít i v jedné mitochondrii), plazmidech (mohou nést specifické úlohy, např. u *Fusarium solani* určují hostitelskou specificitu) a může dojít i k přenosu virů (ovlivňují např. virulenci *Ceratocystis ulmi* nebo produkci toxinů některých kmenů kvasinek); aby to nebylo tak jednoduché, může dojít i ke vložení částí extrachromosomálního genomu do chromosomů jádra nebo mitochondrií. Zatímco jádra při fúzích hyf snadno přecházejí a i se dál pohybují tou druhou hyfou, obdobný přesun cytoplazmy a mitochondrií omezuje dosud neobjasněná bariéra.

HOMOTHALISMUS, HETEROHALISMUS

Homothalické houby jsou takové, u kterých mohou v rámci pohlavního procesu fúzovat jakákoli dvě jádra (u kvasinek v rámci splývání jednotlivých buněk, u myceliálních hub jde o buňky mycelia – třeba i z výběžků téže hyfy), není zde pohlavní rozrůznění (resp. rozrůznění párovacích typů, viz dále). Takových druhů je menšina (např. *Zygorhynchus*), většinou jsou houby heterothalické.

Primární homothalismus je případem hub, u kterých heterothalismus vůbec nebyl vyvinut.

Jako **sekundární homothalismus** je označován případ heterothalických hub, kdy po meiozi dojde ke vzniku spory (resp. spor) se 2 kompatibilními jádry => vyklíčí-li heterokaryotické mycelium obsahující takto odlišná jádra (ta se mohou mitoticky dělit nezávisle na sobě i putovat mezi kompartmenty), může následně dojít i k fúzi jako u homothalických druhů. (Fúzuje-li takováto heterokaryotická buňka s jinou, vždy obsahuje alespoň jedno jádro kompatibilní k jádru "partnera".)

V genomu některých hub najdeme též "spící" alely párovacího typu, které v případě potřeby mohou být využity – houba "přepne" na příslušný párovací typ a může dojít k úspěšnému párování.

Heterothalické houby jsou takové, u kterých je fúze jader možná jen jsou-li jádra odlišného **párovacího typu** (taková jádra se označují jako kompatibilní).

Bipolární heterothalismus – dimixe – znamená odlišnost v jednom genetickém faktoru; používá se označení A, a nebo A, α nebo +, –. Bipolární heterothalismus je běžný u druhů z oddělení *Chytridiomycota*, *Zygomycota*, *Ascomycota* a vzácný u odd. *Basidiomycota* (rzi a sněti, z *Agaricomycetes* např. *Coprinus comatus* nebo pěstovaný *Agaricus bisporus*).

U většiny heterothalických hub z oddělení *Basidiomycota* se vyskytuje složitější **tetrapolární heterothalismus** – diaformixe – spočívající v rozdílnosti ne jedné, ale dvou genetických faktorů, nesoucích označení A, B faktor. Haploidní kmeny musí být rozdílné v obou faktorech, aby jejich kontakt a všechny další stupně sexuální reprodukce byly možné a nedocházelo k defektům. A a B faktor nejsou jednotlivé geny, ale skupiny genů – určité oblasti chromosomu.

(U klanolístky (*Schizophyllum*), což je nejběžnější modelový organismus z řad stopkovýtrusných hub, dokonce nejde o jednu oblast, ale dvě – označované A $_{\alpha}$, A $_{\beta}$, B $_{\alpha}$ a B $_{\beta}$ oblast; nesprávně je používáno označení α -alela, β -alela A nebo B genu. Jsou to komplexní regulační oblasti ovládající asi 17 dalších genů řídících projevy sexuální morfogeneze; mezi těmito oblastmi je možná rekombinace, časté jsou i mutace.)

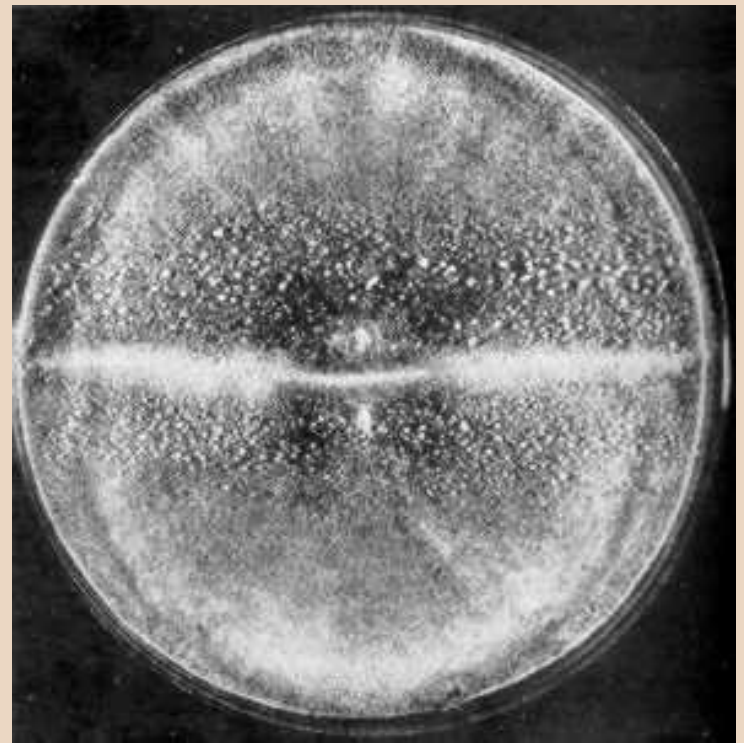
Jak již bylo řečeno, neshoda v obou faktorech u fúzujících jader vede k legitimnímu párování. V případě shody v jednom z faktorů (případně v obou) obvykle nedojde ke spojení; pokud ke spojení přece jen dojde, výsledné mycelium vykazuje defekty (např. *Coprinus*: na jednom lokusu je kódováno rozpuštění septa při napojení přezky a na druhém lokusu splynutí obsahu přezky s obsahem buňky – při neshodě v jednom z faktorů se přezka správně nevytvoří nebo dojde ke vzniku falešné přezky, v níž jedno z dceřiných jader zůstane uzavřeno).

Zda máme k dispozici kompatibilní kmeny, můžeme prakticky ověřit při pěstování kultur: naočkujeme a "vypustíme proti sobě" na Petriho misce mycelia dvou kmenů => v případě neshody v obou faktorech jsou mycelia kompatibilní a splynou; v opačném případě jsou inkompatibilní => dorostou k sobě a na styku vytvoří obvykle "hráz".

„Hráz“ jako výsledek vegetativní inkompatibility na styku mycelií dvou kmenů *Ophiostoma novo-ulmi*.

Foto C.M. Brasier.

In: M.J. Carlile et S.C. Watkinson: The Fungi. Academic Press, London, 1994.



GENETICKÁ ANALÝZA

Ve srovnání s vyššími rostlinami je analýza hub snadnější, mají menší genom a jsou ve vegetativním stavu haploidní. Pro zjištění pozice různých genů může být použita analýza jednotlivých tetrad vznikajících meiotickým dělením – **tetrádová analýza**.

Nejjednodušší je zkoumání vřeckatých hub se sporami lineárně uspořádanými ve vřecku, kde všechny spory jsou produktem meiotického dělení jednoho jádra. Meiotickým dělením vznikají 4 jádra => následuje ještě 1 mitóza => 8 jader (přesto se tomu říká tetrádová analýza, protože ta následná mitóza již nemá vliv na rozložení genetické informace v jednotlivých sporách). Jestliže se jádra ve vřecku rozestupují jen v podélném směru, poloha dělicího vřeténka je neměnná => rozhodující je výsledné pořadí spor ve vřecku.

Lze sledovat například pozici lokusu genu na chromosomu, která u každého genu závisí na frekvenci crossing-overů mezi lokusem a centromerou – procento crossing-overů odpovídá relativní vzdálenosti lokusu od centromery:

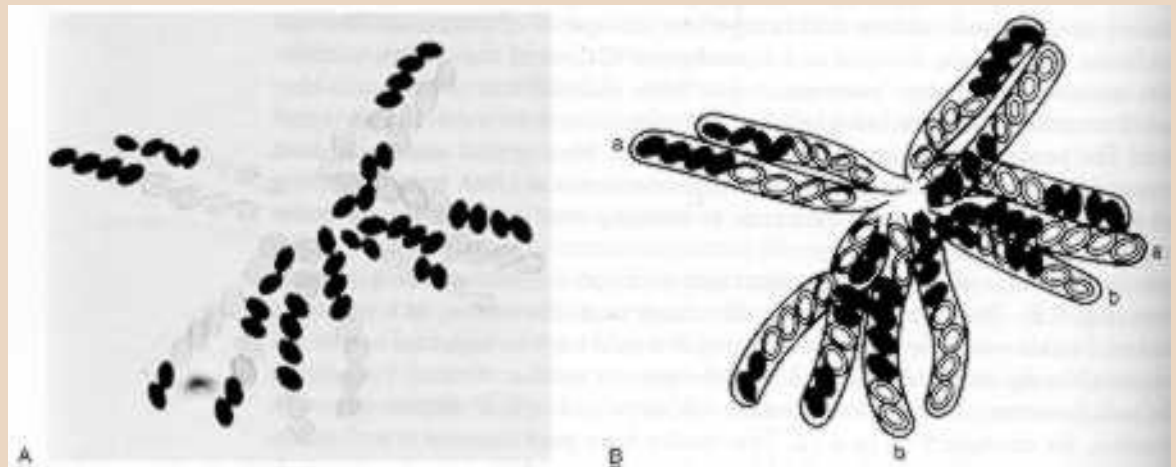
- frekvence malá => rozcházejí se nerekombinované chromosomy, od heterozygota se rozejde dominantní a recesivní chromosom => schéma 2 : 2;
- frekvence častá => už v heterotypickém dělení se rozcházejí heterozygotní zrekombinované chromosomy, v homeotypickém dělení se pak rozcházejí různé chromatidy => schéma 1 : 2 : 1 nebo 1 : 1 : 1 : 1.

Snadno se pozoruje např. pigmentace spor, podle jejich uspořádání lze přímo pohledem zjistit procento zrekombinovaných (rekombinantních) vřecek. Obtížnější je sledování například biochemických znaků – je nutno (mikromanipulátorem) odebrat spory z vřecek, zaznamenat jejich pořadí, počkat co ze spor bude a pak zpětně vztáhnout na pořadí ve vřecku. Popsaná pozorování jsou možná jen u vřeckatých hub s lineárním uspořádáním spor.

Úzká vřečka hnojky
(*Sordaria fimicola*) s lineárně
uspořádanými spory.

Foto Bernard Lamb.

In: M.J. Carlile et S.C. Watkinson: The Fungi.
Academic Press, London, 1994.



U ostatních vřeckatých a stopkovýtrusných hub (houby s neuspořádanými tetradami) se dělá tetradová analýza jinak (ale vždy musí být k dispozici spory z 1 původního jádra) – lze sledovat vzájemný vztah dvou genů, leží-li nebo neleží na témže chromosomu (tedy zda jsou nebo nejsou ve vazbě).

Jako první si uveďme příklad, kdy geny neleží na témže chromosomu, **nejsou ve vazbě**:

heterotypické dělení => AABB + aabb nebo AAbb + aaBB

=> homeotypické dělení => 2AB + 2ab nebo 2Ab + 2aB.

2AB a 2ab jsou **dikrátní parentální** tetrády (DP) – opakují genotypy rodičů původního heterozygota.

2Ab a 2aB jsou **dikrátní neparentální** tetrády (DNP) – opakují genotypy heterozygota.

Sledujeme frekvenci dikrátních parentálních a neparentálních typů: je-li poměr statisticky průkazně 1 : 1 => jsou geny volně kombinovatelné, jejich alely leží na různých chromosomech.

Široká vřečka hovníku (*Ascobolus immersus*) umožňují míchání spor a vznik neuspořádaných tetrad.

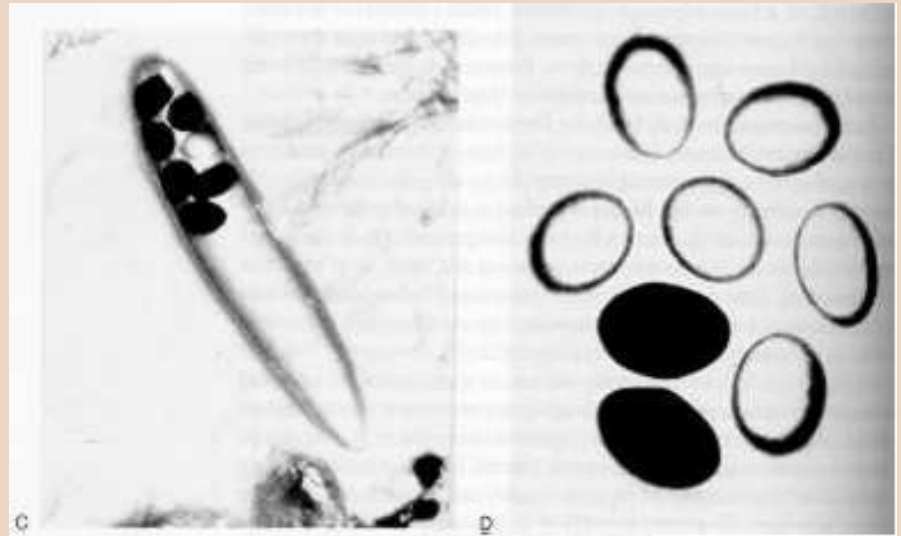


Foto Bernard Lamb. In: M.J. Carlile et S.C. Watkinson: The Fungi. Academic Press, London, 1994.

Tetrakrátní tetrády – AB, aB, Ab, ab – jsou v tom případě (nejsou-li geny ve vazbě) vzácné, mohou vzniknout jedině crossing-overem mezi lokusem a centromerou na jednom chromosomu.

Jiná situace nastává v případě **vazby genů**:

– bez crossing overu dojde k rozchodu na AABB + aabb => 2AB + 2ab = dikrátní parentální tetráda;

– nastane-li crossing-over mezi lokusy A a B

=> rozchod AABb + aaBb => AB, Ab, aB, ab = tetrakrátní tetráda;

– dikrátní neparentální tetráda vzniká jen v případě dvojitého komplementárního crossing-overu mezi lokusy A a B (jeden crossing-over na každé z chromatid).

Výsledek: DP je výrazně víc než DNP = geny jsou ve vazbě.

Pak nás ještě může zajímat frekvence tetrakrátních tetrád, která odpovídá vzdálenosti lokusů sledovaných genů.

JEDINCI, POPULACE, DRUHY

Pojetí **jedince** je nesporné u jednobuněčných organismů (mezi houbami např. kvasinky), ale je již problematické u myceliálních typů – dojde-li k fragmentaci, každá oddělená část je teoreticky jedinec, a to nemluvě o případě propojení mycelií, případně opětovného propojení mycelií dříve rozdělených.

Spíše se hovoří o **klonu** jakožto souboru individuí vzešlých ze společného "předka" bez genetické změny (tj. klonem je např. soubor fragmentů mycelia vzešlého z jedné spory).

Pojem **populace**: z ekologického hlediska jde o soubor jedinců stejného druhu žijících ve společném prostředí (které může být nejrůznějšího rozsahu, od jedné opadlé jehlice po celou geografickou oblast). Genetické hledisko ještě k tomu přidává vzájemnou výměnu genů – k té běžně dochází u hub s pohlavním procesem, zatímco imperfektní stadia tvoří populace spíše v ekologickém pojetí (mizivý nebo žádný přenos genů).

Variabilitu v rámci populace mají na svědomí mutace nebo rekombinace. K výměně genetického materiálu mezi populacemi ("gene flow") dochází typicky přenosem spor. Genetické změny v rámci populace nebo mezi populacemi mohou vyústit v mikroevoluci (obvykle reverzibilní, nedojde-li k vymizení alel z populace a jejich "převálcování" jinými) až speciaci (viz dále).

Pojetí druhu může být u hub různé:

- **Genetický druh** (totéž označuje pojem **biologický druh**) je definován jako soubor populací, vzájemně kompatibilních (úspěšný pohlavní proces, životaschopné potomstvo) – teoreticky to zní jednoznačně, ale praktická dokazatelnost je obtížná v případě populací z různých částí světa (je třeba převézt materiál k provedení testů; výsledek může být ovlivněn různými okolnostmi, jak podmínkami prostředí, tak třeba snížením vitality kmenů během transportu). Různé (zejména geografické) rasy mohou vykazovat částečnou kompatibilitu (nemusí být 0 % nebo 100 %, ale cokoli mezi tím).
- **Taxonomický druh** označuje soubor jedinců, resp. populací vykazujících vzájemnou podobnost a zároveň odlišnost od příbuzných souborů ve svém vzhledu nebo ekologických nárocích (jde o určité rozmezí vlastností, jimiž je možno daný druh charakterizovat pro jeho determinaci a použití v praxi či odborných studiích); v konceptu souboru populací s jedinečnou charakteristikou se dnes hovoří o **fylogenetickém druhu**. Úroveň podobnosti a odlišnosti se dnes hodnotí srovnáním znaků fenotypu (morfologických, fyziologických, biochemických) a/nebo genotypu (sekvence nukleotidů); numerická taxonomie se používá zejména u jednoduchých organismů. U vyšších hub je sekvenování nukleotidů podkladem pro změny v systému zejména na úrovni vyšší než druh.
- Formální pojem **nomenspecies** označuje entitu nesoucí druhové jméno, popsanou v souladu s Kódem (obvykle souhlasí s genetickým a/nebo taxonomickým druhem).

Dojde-li nějakým způsobem k omezení (až zamezení) výměny genů, může probíhat v rámci jedné oblasti **sympatrická speciace**; obvykle se ve svém průběhu projevuje různými hodnotami inkompatibility mezi 0 % a 100 %.

Speciace allopatrická probíhá na různých místech od sebe izolovaných; následkem různých mutací vzrůstá genetická odlišnost => v určitou chvíli vyústí v inkompatibilitu.

Vlevo: Evropská hlíva *Pleurotus cornucopiae* a její východoasijský dvojník



P. cornucopiae var. *citrinopileatus*
– kompatibilní taxony s geneticky fixovanou barevnou odlišností, možný případ allopatrické speciace.

Vpravo: „naše domácí“ taxony *Pleurotus ostreatus* a *P. ostreatus* var. *columbinus* představují obdobně možný případ sympatrické speciace.



Při laboratorních studiích se pracuje nejen s příslušnými druhy, ale i s přesně definovanými **kmeny**, představujícími geneticky vyhraněné entity (konkrétní kmeny je možno i patentovat). K jednomu druhu může patřit řada kmenů s určitým vzhledem a projevy metabolismu; jejich přesná identifikace je důležitá pro podrobné studie a možnost zopakování výsledků.

Hybridizace není u hub zdaleka tak běžným jevem jako u některých skupin vyšších rostlin. Souvisí to i s výše uvedeným pojetím druhu. Pokud jde o makromycety, je v mykologii obecně uznáván koncept biologického druhu: jestliže populace vytvářejí v přírodě životaschopné spory a přitom se mezi sebou nekříží (dokazováno v laboratoři), jedná se o samostatné druhy – toto pojetí tedy mezidruhové křížení vylučuje.

Mezidruhové křížení bylo zatím jen vzácně úspěšné u jednodušších skupin – u některých zástupců oddělení *Oomycota* a *Chytridiomycota*. Mezidruhoví kříženci byli též laboratorně vypěstováni u rodů *Neurospora* a *Saccharomyces*, ale takto získané potomstvo vykazuje různé defekty (sterilita, případně neživotaschopné spory).