

Lovci, nebo zahradníci? Komplexní výzkum vodních masožravých bublinattek

Bublinatky (*Utricularia*, čeled' bublinatkovité – *Lentibulariaceae*) jsou s nejméně 240 druhy jedním ze dvou nejpočetnějších rodů masožravých rostlin (spolu s rosnatkami – *Drosera*). Díky nasávacím pastem – pohyblivým měchýřkům – tvoří také ekofyziologicky nejpozoruhodnější skupinu rostlin s tímto způsobem získávání živin a současně mají nejrozsáhlejší rozšíření z masožravých rodů na Zemi. Při tak velkém počtu druhů bublinattek obývajících všechny klimatické pásy od polárního po tropický není překvapením jejich obrovská ekologická i morfologická proměnlivost. Většina druhů je pozemních (terestrických), vzácněji se vyskytují skalní (epilitické) nebo přisedavé (epifytické) formy a asi 50 druhů patří mezi rostliny vodní či obojživelné. Od uvedení shrnujících článků v *Živě* o ekofyziologii vodních druhů bublinattek (2006, 3: 105–107 a 2008, 4: 156–159) uplynulo sice jen několik let, ale za tu dobu výrazně vzrostl zájem experimentálních botaniků zejména o vodní druhy a některé z nich se dokonce staly modelovými druhy molekulárního studia. V tomto článku bychom proto chtěli shrnout novinky ekofyziologického, biofyzikálního, molekulárně genetického i transkriptomického výzkumu vodních bublinattek, a osvětlit některé jejich výjimečné vlastnosti.

Nové ekofyziologické poznatky

Jednou z nejnápadnějších růstových charakteristik bezkořených vodních bublinattek je velice rychlý vrcholový růst prýtu. V pokusech s několika domácími nebo exotickými druhy se zjistilo, že v teplých letních podmínkách v naší přírodě nebo ve skleníku mohou denně vytvořit 2 až 4,5 listové uzliny. Extrémní rychlost vrcholového růstu, který ale současně provází stejně rychlé odumírání bazálních částí prýtu, spolu s častým větvením prýtu a rychlým dorůstáním větví, tvoří podstatu velmi vysoké relativní růstové rychlosti rostlin: biomasa se může zdvojit už za 6–12 dní. Zároveň je i projevem výrazné fyziolo-

gické polarity prýtu. Rychlý vrcholový růst prýtu ale vyžaduje řadu ekofyziologických adaptací: vysokou rychlost fotosyntézy, účinnou reutilizaci (recyklaci) dusíku a fosforu v zestárlých částech prýtu, vysokou afinitu (vazbu, citlivost) prýtu k minerálním živinám přijímaným z vody, využívání minerálních živin z kořisti, a pravděpodobně i přítomnost mikrobiálních komenzálních organismů (spolustolovníků) v pastech. Potřeba rychlého dělení buněk vrcholu mohla zřejmě přispět i k miniaturizaci genomu, protože velký genom by se nestačil tak rychle dělit (viz dále).

Ačkoli karboxylační enzymy vodních bublinattek mají stejnou fotosyntetickou

1 Slabě dystrofní (huminní) tůňka v komplexu pískovny Cep II u Suchdola nad Lužnicí na Třeboňsku s přirozeným porostem bublinatky jižní (*Utricularia australis*), s vysazenou bublinatkou vícekvětou (někdy též b. Brémovou – *U. bremii*) a aldrovandkou měchýřkatou (*Aldrovanda vesiculosa*) je příkladem toho, že i v pískovnách mohou dobře růst ohrožené druhy vodních masožravých rostlin. Na hladině hustý porost rdestu vzplývavého (*Potamogeton natans*), který silně konkuruje ponořeným vodním rostlinám. Červen 2015

2 Mělká část národní přírodní památky rybníka Vizíru na Třeboňsku přiléhající k rašeliništi. V mělké dystrofní vodě rostou bublinatka jižní, b. tmavá (*U. stygia*) a b. menší (*U. minor*). Červenec 2015

3 Úkrojkovitý list naší největší bublinatky obecné (*U. vulgaris*) s pastmi dlouhými až 5 mm. V některých pastech lze vidět bubliny vzduchu, které byly nasáty při manipulaci s listy.

4 Populace bublinatky jižní ze Šrinagaru ve státě Kašmír (severozápadní Indie) se vyznačuje tvorbou menšího počtu jen velkých pastí uprostřed listu.

5 Pět dní staré semenáčky bublinatky obecné. Semena bublinattek před vyklíčením obvykle vyplavou na hladinu.

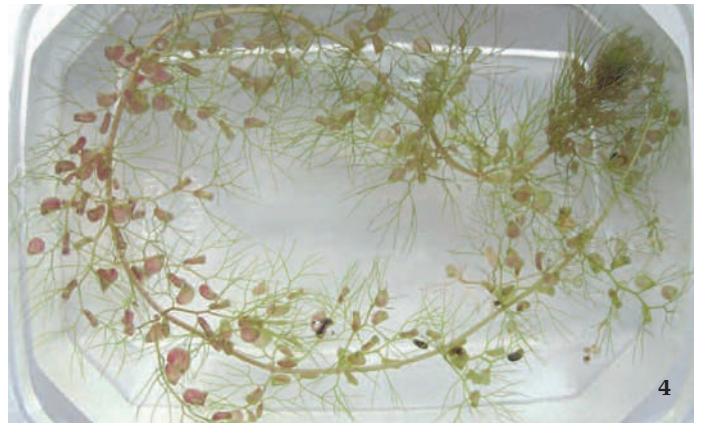
6 Mixotrofní nálevník *Tetrahymena* sp. z pasti bublinatky *U. reflexa* pod epifluorescenčním mikroskopem (zvětšeno 1 000×). Endosymbiotické zelené řasy zoochlorelly svítí fialově, patrně jsou také fluorescenčně značené bakterie (svítí zeleně) v potravních vakuolách. Foto K. Šimek

afinitu k oxidu uhličitému a obsah chlorofylu v prýtech podobný jako jiné druhy ponořených nemasožravých rostlin, rychlost čisté fotosyntézy u několika domácích vodních druhů atakuje světový rekord mezi vodními rostlinami vůbec a navíc překvapivá rychlost fotosyntézy přetrvává i ve značně starých částech prýtu. Zatímco účinnost reutilizace dusíku (19–48 %) a fosforu (52–72 %) v zestárlých prýtech několika druhů vodních bublinattek je obvyklá, zůstala prakticky nulová pro draslík. Důvod neznáme, znamená to však, že rychle rostoucí vodní bublinatky musejí přijímat veškerý draslík (K⁺) hlavně z okolní vody, v menší míře z kořisti, ale pak se





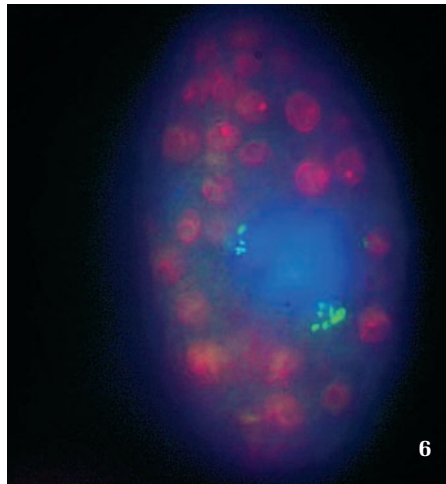
3



4



5



6

tento prvek trvale ztrácí ve starých prýtech. Některé naše druhy se vyznačují překvapivě vysokou schopností přijímat K^+ až do koncentrace $10 \mu\text{g.l}^{-1}$, protože koncentrace K^+ ve vodách jsou většinou o dva řády vyšší. Jak vyplývá z růstu naší bublinatky jižní (*U. australis*) v silně oligotrofních vodách starých pískoven prakticky bez přítomnosti kořisti, podobně vysoká příjmová afinita k amonným iontům (NH_4^+) by mohla využívat i koncentraci jen $3\text{--}4 \mu\text{g.l}^{-1} \text{NH}_4^+\text{-N}$ a v případě fosfátu pouze $1\text{--}2 \mu\text{g.l}^{-1} \text{PO}_4\text{-P}$. Tato schopnost příjmu NH_4^+ prýty z vody je v zásadním rozporu s $1\ 000\times$ nižší afinitou příjmu NH_4^+ v pastech jako trávicích a absorpčních orgánech; podobně je tomu (asi $200\times$) i pro fosfát (Sirová a kol. 2009, 2014). Pastí bublinatky jsou tedy evolučně adaptovány k trávení relativně velké kořisti (zooplanktonu) a k následnému rychlému příjmu živin (dusíku a fosforu) z vysoce koncentrovaného roztoku, ale s nízkou afinitou. Podobné nízkoafinitní přenašeče NH_4^+ byly nedávno zjištěny i v pastech mucholapky podivné (*Dionaea muscipula*).

Ve snaze najít další možný zdroj dusíku jsme studovali fixaci molekulárního dusíku ($^{15}\text{N}_2$) u čtyř druhů vodních bublinatky (Sirová a kol. 2014). Měření odhalila jen velmi nízkou fixační rychlost v prýtech rostlin, která stoupala se stářím prýtu a byla spíše dána hustotou perifytonu na prýtech (společenstva přisedlých organismů na povrchu prýtu). Nízké rychlosti fixace N_2 odpovídaly i nízké míře exprese genu *nif* pro enzym nitrogenázu v buňkách prokaryot v pastech bublinatky. Příjem dusíku z fixace N_2 sice modelově tvořil nejvýše necelé 1 % celkového denního příjmu N u rostlin, ale mohl by výrazně obohatit

oligotrofní vodní biotop dusíkem řádově o stovky mg.m^{-2} za rok. Pro příjem N samotnými rostlinami však tato fixace N_2 nemá žádný ekologický význam.

Nový pohled na fungování pastí

Jak již bylo vysvětleno v předchozích výše zmiňovaných článcích (Živa 2006, 3 a 2008, 4), největší tajemství vodních bublinatky spočívá ve fungování jejich dokonalých pastí, které aktivně udržují záporný tlak („podtlak“) asi 16kPa a při otevření víčka nasají vodu i s kořistí (viz Živa 1990, 4: 157–161; Adamec 2011b). Rok 2011 přinesl revoluční poznatky o biofyzikálních mechanismech fungování pastí vodních bublinatky, které se rychle promítly i do úvah o ekologických důsledcích. Pomocí ultrarychlých kamery se zjistilo, že se víčko pastí po podráždění citlivých chlupů na jeho vnější straně tlakem okolní vody pružně přesmykne (anglicky buckling) do metastabilní polohy, otevře se dovnitř a do pastí rychlostí asi $1,6 \text{m.s}^{-1}$ vtéká voda i s kořistí (Vincent a kol. 2011a). Víčko zůstane otevřeno jen tak dlouho, dokud trvá podtlak, pak se zase okamžitě pružně a neprodyšně uzavře. V uzavřeném stavu tlačí víčko silou na dlaždicový epitel a může být otevřeno až po dosažení značného podtlaku v pasti. Podtlak v pasti je tedy nedílnou součástí pohybu víčka. Předchozí elektrofyziologická měření rychlosti tohoto pohybu uváděla dobu otevření pastí během spuštění $10\text{--}15 \text{ms}$, ale nová měření ji zkrátila na pouhých $3\text{--}5 \text{ms}$ – jako bezkonkurenčně nejrychlejší pohyb živých rostlin. Současně se prokázalo, že pastí vodních bublinatky nereagují jen na mechanický podnět, ale obvykle se po několika hodinách v klidu (při dosažení určitého

kritického podtlaku po $5\text{--}8 \text{hod.}$) spouštějí spontánně. Pro energetickou bilanci pastí může mít zásadní význam poznatek, že metabolicky náročné vyčerpávání vody z pastí není regulováno podtlakem, ale běží nepřetržitě: dochází buď k podtěkání vody netěsnostmi, anebo je už mechanismus termodynamicky neúčinný. Izolovaná past vydrží čerpat vodu celé dva dny.

Pastí bublinatky nejsou sterilní, naopak je hustě osídlují nejrůznější mikroorganismy od virů, bakterií, archaeí a hub až po řasy a prvoky, jimž specifické prostředí pastí svědčí. Hojně kolonizované nacházíme také vnější povrchy prýtu – bublinatky bývají perifytonem porostlé v mnohem větší míře než jiné druhy vodních rostlin. Nabízí se domněnka, že „spontánní“ spouštění by mohlo sloužit k nasávání organického materiálu (řasy, prvoci, bakterie, detritus) z vody a z bohatého perifytonu, který by pak zčásti představoval „kořist“, v pasti se enzymaticky rozkládal činnostmi kmenzálu a uvolněné živiny (dusík a fosfor v minerální i organické formě) by mohla past přijímat. Vodní bublinatky na všech kontinentech rostou často v oligotrofních vodách s nedostatkem zooplanktonu, přesto tekutina pastí svým obsahem živin odpovídá hypertrofním vodám (řádově stovky $\text{mg.l}^{-1} \text{C}$ a N , až $0,5 \text{mg.l}^{-1} \text{P}$). Jak se tolik živin ocitne v pastech, zatím není přesně objasněno, ale je zřejmé, že mikroorganismy hrají důležitou roli a trvalý přísun živin do pastí pomocí spontánních spuštění by mohl mít v takových podmínkách větší význam než omezená aktivní masožravost.

Rostliny do pastí navíc vylučují množství snadno využitelného organického uhlíku z fotosyntézy. Ve dvoudenním pokuse u bublinatky obecné (*U. vulgaris*) a b. jižní, u nichž bazální části prýtu fixovaly značený $^{13}\text{CO}_2$, bylo $20\text{--}25 \%$ celkově fixovaného uhlíku nalezeno v tekutině pastí ve vrcholové polovině prýtu. Čím byly pastí starší, tím jsme našli v jejich tekutině méně $^{13}\text{CO}_2$, ale prudce se zvyšoval poměr mezi obsahem značeného uhlíku v tekutině a ve stěně pastí. Rostliny tedy vylučovaly do tekutiny pastí velký podíl organických látek z fotosyntézy. Z celkové koncentrace čtyř skupin analyzovaných organických látek (cukry, alkoholové cukry, organické kyseliny a aminokyseliny) v tekutině pastí u čtyř druhů vodních bublinatky v rozmezí $10\text{--}78 \text{mg.l}^{-1}$ převládaly nejčastěji glukóza, sacharóza, fruktóza a kyselina mléčná. Světlo mělo zásadní regulační vliv na sekreci organických látek a při zastínění rostlin či odříznutí

pastí koncentrace látek v pastech klesaly. Tyto snadno využitelné exudáty podporují růst heterotrofních komezálů uvnitř pastí, které se tak chovají jako miniaturní mikrobiální kultivátory.

Analýza mikrobiálních společenstev z pastí ukázala, že bakterie, jež jsou jejich hlavní složkou co se diverzity, biomasy i aktivity týče, se zde vyskytují v počtech až 10^9 buněk na mililitr tekutiny pastí. To bývá až o tři řády více než v okolní vodě. Udivující je i obrovská diverzita přítomných bakterií – uvnitř pastí bublinatky obecné a b. jižní jsme pomocí molekulárních metod identifikovali desítky bakteriálních taxonů. Více než polovina z nich patří do skupiny *Bacteroidetes*, zahrnující bakterie typické pro střevní mikroflóru. Funkční podobnost mezi pastmi a trávicím ústrojím živočichů ostatně nabízí mnoho zajímavých výzkumných východisek pro lepší pochopení ekologie bublinatky. Nově utvořené mladé pasty jsou uvnitř téměř sterilní a mikrobiální společenstvo je osídluje postupně, hlavní zdroj inokula nejspíše představuje hustý perifyton. Překvapující je také různorodost metabolických procesů, které v pastech probíhají. Bakterie produkují extracelulární enzymy (např. fosfatázy) rozkládající organickou hmotu, dále jsme detekovali expresi genů pro tvorbu enzymů účastnících se mimo jiné fermentačních procesů, amonifikace nebo rozkladu komplexních makromolekul rostlinného původu (celulózy).

Prostředí pastí vyhovuje i prvkům rodu *Tetrahymena*, jejichž masový výskyt v počtech desítek tisíc jedinců na mililitr pastové tekutiny je další raritou – srovnatelné počty prvků se v přírodě nacházejí snad pouze v bacheru přežvýkavců nebo v aktivovaných čistírenských kalech. Tito mixotrofní nálevníci (obr. 6) si doplňují výživu konzumací bakterií, a tudíž – díky své početnosti – efektivně zpřístupňují živiny uložené v bakteriálních buňkách. Tento mechanismus s největší pravděpodobností zajišťuje stálý přísun minerálních živin pro bublinatky – typická rostlina se stovkami pastí má stále k dispozici obrovskou zásobárnu a může tak realizovat rekordní růstové rychlosti i ve vodách chudých živinami. Výsledky analýzy procesů v pastech naznačují intenzivní mikrobiální metabolismus a využívání rostlinných zbytků – ty mohou pocházet z detritu v okolní vodě, ale také z perifytických rostoucích řas – bublinatky ve vodách chudých na zooplankton jsou tak zřejmě vegetariánky.

Je známo, že vodní bublinatky ekologicky účelně regulují podíl biomasy pastí na celkové biomase rostliny podle potřeb rostliny (viz citovaná Živa 2006, 3 a 2008, 4), protože tvorba i udržování pastí jsou nákladné. Mění tedy spíše velikost pastí než jejich počet. Ukázalo se, že tvorba pastí vyžaduje vysokou rychlost fotosyntézy, pro niž je jedním z klíčových faktorů vysoká koncentrace CO_2 ve vodě (Adamec 2015). Pokud rostlina může přijímat dostatek CO_2 pro vyšší rychlost fotosyntézy, má i dostatek organického uhlíku, rychle roste a tvorba pastí je omezoována hlavně nízkým obsahem dusíku nebo fosforu (podle druhu rostliny) v mladých prýtech – tento stav lze nazvat minerální regulací. Pokud se rostlina nachází v prostředí s nedostatkem CO_2 anebo v hlubokém stínu, roste



7 Pozemní forma kriticky ohrožené bublinatky tmavé na vysychajícím rašelinném sedimentu. Odvodňovací kanál na rašeliništi u Purkrabského rybníka blízko Chlumu u Třeboně. Červenec 2015. Snímky L. Adamce, není-li uvedeno jinak

pomalou a i na minerálně chudém stanovišti obsahuje poměrně vysoké koncentrace N a P v prýtech. Vzhledem k nedostatku fotosyntátů je tvorba pastí nízká a nezávisí na obsahu N a P v prýtech. Tato fotosyntetická regulace je tedy nadřazena regulací minerální. Celkově závisí tvorba pastí mnohem více na dostatku CO_2 než na množství kořisti a zároveň soutěží s vrcholovým růstem hlavního prýtu a větvením. Využívání kořisti při nedostatku CO_2 výrazně zvyšuje vrcholový růst prýtu i větvení, čili celkovou růstovou rychlost.

Minimální genom bublinatky

V r. 2006 zveřejnili Johann Greilhuber a jeho kolegové práci o minimální velikosti genomu u několika druhů masožravého rodu *Genlisea* a u 15 druhů bublinatky ze stejné čeledi. Dva druhy genlisejí i pět druhů bublinatky mělo velikost genomu nižší než 157 Mbp (milióny párů bazí), což je velikost genomu známé modelové rostliny huseničky rolního (*Arabidopsis thaliana*). Tyto genliseje a vodní bublinatka *U. gibba* se tak staly rekordmany v rostlinné říši, s velikostí chromozomů srovnatelnou s bakteriálními genomy. V r. 2013 byla publikována kompletní sekvence genomu *U. gibba* (Ibarra-Laclette a kol.), která vedla k významným objevům a posunula naše vědomosti o molekulární evoluci rostlin. O tom se dozvíme v některém z příštích čísel Živy.

Úvahy o evoluci a ekologickém významu

Jak vyplývá z uvedeného, pasty vodních bublinatky chytají jak aktivně dokonalým způsobem makroskopickou kořist (zooplankton), tak spontánně a neselektivně nasávají rozptýlený fytoplankton či detrit. Který ze způsobů výživy je evolučně původní? Aktivní chytání pohyblivé kořisti vyžaduje fungování pastí s bleskurychlou reakcí, kdežto občasné nasávání vody nikoli. Podle obecné teorie neredukovatelné komplexity musejí mít složité systémy určitou nadprahovou složitost, aby mohly fungovat. Nasadíme-li tuto teorii na dnešní pasty vodních bublinatky, jejich dokonalá

stavba a funkce nemohly vzniknout v evoluci skokem: nedokonalá forma na začátku nebyla schopna lovit zooplankton, ale mohla nějakým způsobem využívat mikrobiální organismy z vody jako komezály a pomocí nich získávat živiny např. z detritu. Lze si představit, že u předchůdců dnešních bublinatky, které se zřejmě vyvíjely z předchůdců dnešních tučnic (*Pinguicula*), počáteční formy vývoje pastí tvořily drobné, částečně uzavřené fytozelmy (analogické např. útvarům myrmekofilních rostlin). Ty se postupně uzavíraly, získaly pohyblivé víčko a schopnost aktivně vyčerpávat vodu – a tím možnost lovit i velkou pohyblivou kořist. Její chytání by tak mělo být evolučně mladé.

K tomu se těsně váže i stále nezodpovězená otázka o ekologickém významu pastí vodních bublinatky. Výše uvedené ekofyziologické charakteristiky pastí totiž postrádají důležitou informaci: na většině stanovišť těchto druhů pouze 10–50 % pastí (v průměru asi 20–30 %) uloví během života makroskopickou kořist, takže převažují prázdné pasty bez kořisti, ale ve všech žijí komezálové. Nedávno sestavený ekologický bilanční model, který srovnával předpokládané rychlosti akumulace N a P v tekutině prázdných pastí bublinatky se zjištěnými obsahy N a P v tekutině, překvapivě zjistil, že obsahy obou živin v prázdných pastech jsou podstatně vyšší, než kolik se do pastí mohlo dostat modelově z okolní vody při spontánních spouštěních (Adamec 2011d). Znamená to, že rostliny vylučují do tekutiny pastí vedle organických látek, jichž mají nadbytek, i pro svůj růst limitující N a P na podporu biomasy mikrobiálních společenstev. Z funkčního pohledu by se tato společenstva v prázdných pastech chovala spíše jako parazité než komezálové. Rostliny si tedy už v mladých pastech aktivně pěstují (anglicky gardening) husté populace komezálů, které kořist pomáhají trávit, kdežto jejich význam ve zbylých pastech bez kořisti je spíše záporný. Rostlinám se ale zřejmě vyplatí investovat do rozvoje komezálů: pokud např. jen 20–30 % pastí během svého života uloví větší kořist (Živa 2006, 3: 105–107; 2008, 4: 156–159), prospěch z této kořisti převyšuje všechny ekologické náklady. Potvrzení pozitivního ekologického prospěchu pastí podává i samotná fylogeneze. Z dnešních asi 50 druhů vodních bublinatky došlo jen u jednoho druhu z toků (*U. neottioides*) téměř k úplné redukci pastí. Ve světové flóře nenajdeme podobnou ponořenou bezkořenou rostlinu jako bublinatku bez pastí – dva kosmopolitní druhy růžkatce (*Ceratophyllum*) jsou sice také bezkořenné, ale ekofyziologicky se od bublinatky silně liší. Pasty se tedy vodním bublinatkám vyplatí.

Výčet uvedených zajímavostí zdaleka není úplný, výzkum v současnosti pokračuje na úrovni ekofyziologické, mikrobiální i molekulární genetické.

Kolektiv spoluautorů: Jaroslav Vrba, Jiří Bárta, Jiří Šantrůček a Karel Šimek

Výzkum byl podpořen projektem GA ČR (P504/11/0783).

Použitá literatura uvedena na webu Živy.