

Rekonstrukce evoluce plastidů

Koncept aktivity:

Studenti se v rámci práce po skupinách pokusí zrekonstruovat evoluci sekundárních plastidů a do fylogenetického stromu na pracovním listu zakreslit, kde různé typy sekundárních plastidů vznikly či byly naopak ztraceny, plastidy kterých skupin mají společný původ a které naopak vznikly nezávisle. Část studentů („morfologický tým“) přitom bude vycházet z reálných fenotypových dat o morfologii a chemickém složení plastidů, druhá část („genetický tým“) ze simulované genetické informace představující plastidový genom. Studenti si vyzkouší, jak se z útržkovitých dat skládají evoluční „příběhy“ a rekonstruuje historie života. Neexistuje jedno správné řešení, pluralita a inovativní přístupy jsou podporovány. Na závěr proběhne diskuze, při níž se porovnají teorie, které formuluje „morfologický tým“ a „genetický tým“ - studenti se následně mohou pokusit vytvořit novou, společnou teorii, která by skloubila výsledky „morfologického týmu“ i „genetického týmu“ - a srovnání s vývojem reálných hypotéz o evoluci plastidů a v současnosti přijímanou teorií (str. 7-9).

Pomůcky:

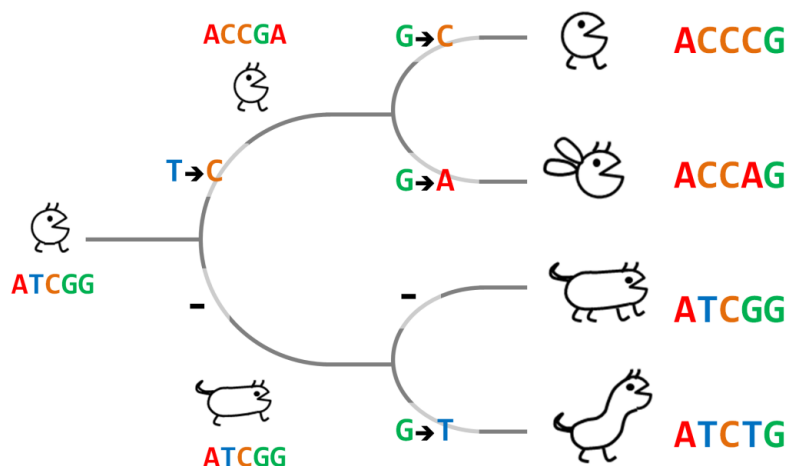
- pro každou skupinu: barevně vytištěný list se zjednodušeným fylogenetickým stromem (str. 4), psací potřeby, nůžky
- pro „morfologický tým“: vytištěná tabulka s vlastnostmi plastidů (str. 5)
- pro „genetický tým“: ideálně barevně vytištěná tabulka se sekvencemi představujícími plastidové genomy (str. 6)
- Zadáání (str. 3) může být buď vytištěno a rozdáno studentům nebo slovně zprostředkováno vyučujícím.

Prerekvizity:

Pro úspěšnost této aktivity je nutné, aby studenti rozuměli konceptu fylogenetického stromu, dokázali ze stromu odvodit evoluční historii a vztahy mezi organismy, chápali význam větví a jejich uzlů, rozuměli základním pojmům jako taxon či sesterská linie a byli schopni jednoduchý strom sami načrtnout. Následující list (str. 2) poskytuje základní návod, který lze případně použít jako samostatný materiál pro výuku na toto téma. Několik článků zaměřených přímo na fylogenetiku naleznete např. v Živě 2016, 3.

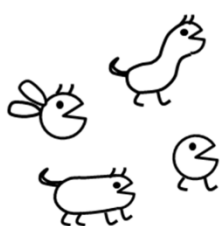
Jak rozumět fylogenezi a jak ji rekonstruovat?

Na následující obrázku je jednoduchý fylogenetický strom čtyř imaginárních organismů, které jsou zobrazeny vpravo, společně s krátkou sekvencí jejich DNA představující stejný gen. Vlevo, u kořene stromu, je jejich společný předek, rovněž včetně sekvence DNA. V průběhu času dochází v DNA k mutacím: těmi nejjednoduššími jsou *substituce*, tedy záměny jednoho znaku (nukleotidu, A, T, C nebo G) za jiný. Spolu s DNA se samozřejmě může měnit i fenotyp daného organismu, tedy to, jak organismus vypadá, jak se chová a co se v něm chemicky děje. Mutace a přechodné fáze vývoje našich čtyř organismů jsou vyznačeny podél větví stromu. Například při vývoji prvního z organismů tedy došlo ve sledovaném genu ke dvěma mutacím: nejprve T na C a poté G na C. Zároveň se změnila morfologie organismu: trochu se zakulatil a přišel o tykadla. Z fylogenetického stromu je také zjevné, že kulatý organismus s nožičkami je nejbližší příbuzný kulatému organismu s křídélky, zatímco oba podlouhlé organismy s ocásky jsou si blíže příbuzné a tvoří skupinu, která je sesterská ke skupině tvořené kulatými organismy.



Jak ale takový strom zkonstruovat, pokud bychom měli k dispozici jen informace o tom, jak organismy vypadají nebo jaká je jejich DNA sekvence námi sledovaného genu? Musíme nějakým způsobem vyhodnotit, které organismy jsou si příbuznější a které méně příbuzné. U morfologických znaků je takové posouzení veskrze kvalitativní. Pro porovnávání sekvencí DNA existují sofistikované počítačové algoritmy. Základní představu si ale lze udělat například z toho, kolik pozic v sekvenci je mezi různými dvojicemi genů shodných.

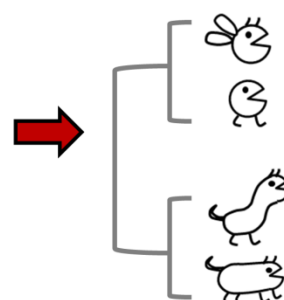
morfologicky odlišné organismy



srovnání morfologických znaků

	tvár těla	nohy	tykadla	křídla	ocas
	kulatý	0	ano	ano	ne
	podlouhlý	2	ano	ne	ano
	podlouhlý	4	ano	ne	ano
	kulatý	2	ne	ne	ne

diagram příbuznosti



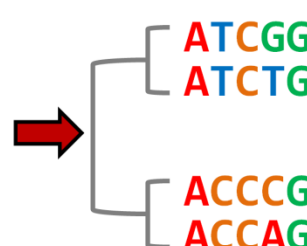
sekvence DNA nebo proteinu

ATCGG
ACCCG
ACCAG
ATCTG

podobnost sekvencí (shodné pozice)

	ATCGG	ACCCG	ACCAG	ATCTG
ATCGG	-	3	3	4
ACCCG	3	-	4	3
ACCAG	3	4	-	3
ATCTG	4	3	3	-

diagram příbuznosti



Zadání:

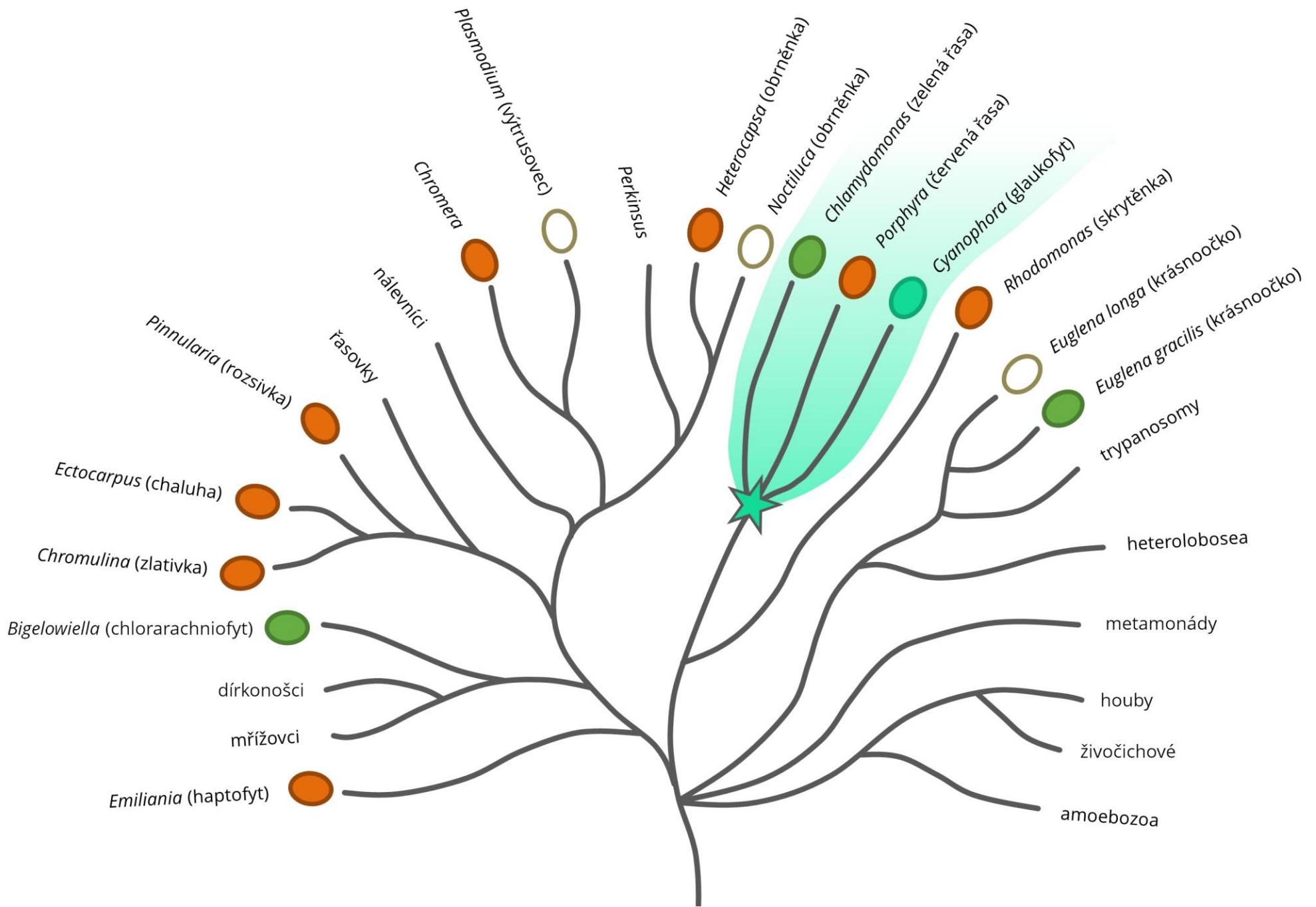
Fylogenetický strom ukazuje evoluční příbuznost dvaceti šesti linií představujících určité taxonomické skupiny či jejich konkrétní zástupce. Barevným oválkem na koncích větví jsou označeny organismy s plastidy: zelenými, červenými či bezbarvými (nefotosyntetickými). Větve bez oválek představují organismy či skupiny organismů, které plastidy nemají. Tyrkysová hvězda označuje místo na evolučním stromě, kde došlo ke vzniku primárního plastidu endosymbiózou eukaryota se sinicí: u společného předka zelených řas, červených řas a glaukofyt, které se rozvětvily až po této události a jejichž plastidy jsou všechny stejného původu. Všechny ostatní plastidy vyznačené na fylogenetickém stromě jsou sekundárního původu: vznikly až druhotně, a to právě ze zelených nebo červených řas. Vaším úkolem bude na tento strom doplnit další hvězdy (zelené a červené), které budou označovat místa, kde k těmto sekundárním vznikům plastidů došlo. Je také možné, že některé plastidy ztratily svou schopnost fotosyntézy (a tedy barvu) nebo že byly zcela ztraceny. Větve vedoucí k organismům či skupinám organismů, jejichž předek podle vaší teorie plastid měl, ale které o něj následně přišly, označte křížkem.

-  zelený plastid
-  červený plastid
-  nefotosyntetický plastid
-  úplná ztráta plastidu
-  vznik primárního plastidu ze sinice
-  vznik sekundárního plastidu ze zelené řasy
-  vznik sekundárního plastidu z červené řasy

„Morfologický tým“ bude evoluční scénář vymýšlet na základě informací o tom, jak vypadají plastidy jednotlivých zástupců – počtu membrán, přítomnosti nukleomorfu (pozůstatku jádra původního symbionta), toho zda je plastid propojený membránou s endoplasmatickým retikulem (ER), přítomnosti různých pigmentů a dalších látek atd.

„Genetický tým“ bude evoluční scénář vymýšlet na základě informace obsažené v genomu plastidu – budou porovnávat proteinové sekvence a určovat, které jsou si podobnější, a které jsou vzdáleněji příbuzné.

TIP: Pro porovnávání sekvencí i morfologických znaků v tabulce může být užitečné si tabulku rozstříhat na řádky a řadit si je podle podobnosti. Můžete také postupovat po sloupcích tabulky a zapisovat si podskupiny organismů, které sdílejí stejné morfologické znaky nebo písmena sekvence na stejné pozici, a následně se podívat, zda se některé tyto podskupiny podezřele často neopakují – takové si budou pravděpodobně blíže příbuzné. Při hledání postupu řešení se fantazii meze nekladou – fantazii skutečných evolučních biologů a bioložek také nikdo neomezuje!



Srovnání fenotypů plastidů jednotlivých zástupců (morfologií a obsahu barviv a dalších látek)

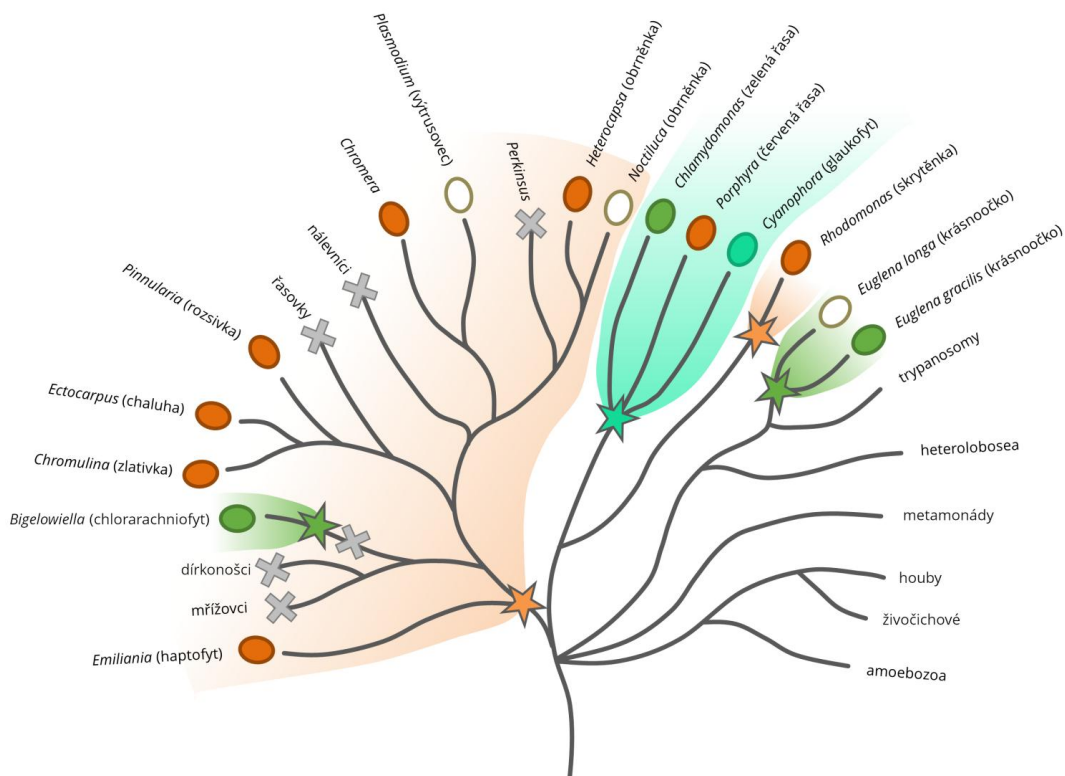
organismus	počet membrán	stěna	nukleomorf	propojení s ER	chlorofyl a	chlorofyl b	chlorofyl c	chlorofyl d	fykobiliny	fukoxanthin	peridinin	zásobní látka
<i>Bigelowiella</i>	4	ne	ano	ano	ano	ano	ne	ne	ne	ne	ne	?
<i>Cyanophora</i>	2	ano	ne	ne	ano	ne	ne	ne	ano	ne	ne	florideový škrob
<i>Ectocarpus</i>	4	ne	ne	ano	ano	ne	ano	ne	ne	ano	ne	laminarin
<i>Emiliania</i>	4	ne	ne	ano	ano	ne	ano	ne	ne	ano	ne	chrysolaminarin
<i>Euglena gracilis</i>	3	ne	ne	ne	ano	ano	ne	ne	ne	ne	ne	paramylon
<i>Euglena longa</i>	3	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	paramylon
<i>Heterocapsa</i>	3	ne	ne	ne	ano	ne	ano	ne	ne	ne	ano	florideový škrob
<i>Chlamydomonas</i>	2	ne	ne	ne	ano	ano	ne	ne	ne	ne	ne	škrob
<i>Chromera</i>	4	ne	ne	ne	ano	ne	ne	ne	ne	ano	ne	?
<i>Chromulina</i>	4	ne	ne	ano	ano	ne	ano	ne	ne	ano	ne	laminarin
<i>Noctiluca</i>	3	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	florideový škrob
<i>Pinnularia</i>	4	ne	ne	ano	ano	ne	ano	ne	ne	ano	ne	chrysolaminarin
<i>Plasmodium</i>	4	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	florideový škrob
<i>Porphyra</i>	2	ne	ne	ne	ano	ne	ne	ano	ano	ne	ne	florideový škrob
<i>Rhodomonas</i>	4	ne	ano	ano	ano	ne	ano	ne	ano	ne	ne	florideový škrob

Srovnání proteinové sekvence stejného plastidového genu jednotlivých zástupců (písmena označují různé aminokyseliny)

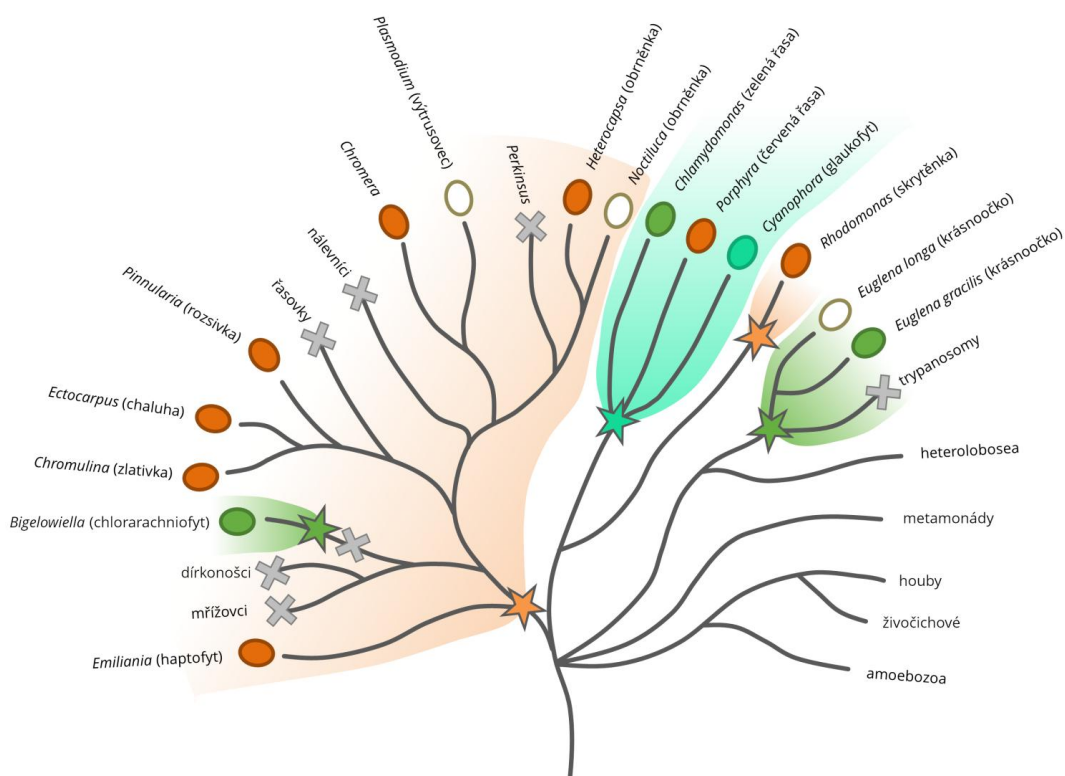
<i>Bigelowiella</i>	M	A	S	S	G	K	R	R	A	T	L	E	L	H	F	K	S	A	D	I	V	G	R	N	V	A	M	T	P	K	I	V	T	D	G	V	L	A	A	K	E	V	D	I	F	G	A	K	L	V	R	Q	A	A	L	K	Q	C	D	A	D	G
<i>Cyanophora</i>	M	A	S	T	G	K	R	K	V	S	A	E	L	H	F	K	S	A	D	L	V	G	R	N	V	V	Y	S	P	K	I	V	N	D	G	V	T	V	A	K	E	V	E	L	I	G	A	K	L	V	R	Q	A	A	A	K	T	N	D	A	D	G
<i>Ectocarpus</i>	M	A	S	Y	G	K	R	R	V	S	S	A	L	H	F	K	S	A	D	L	A	I	G	N	V	A	Y	S	P	K	I	V	N	D	C	A	L	A	A	K	E	V	E	L	I	G	A	S	R	V	R	Q	A	A	R	K	Y	T	D	A	E	C
<i>Emiliana</i>	M	A	A	T	N	K	R	R	V	S	A	E	F	A	K	K	S	A	D	L	V	G	R	N	V	A	Y	S	L	N	I	V	N	D	G	I	I	A	A	K	E	V	E	L	I	G	A	K	L	V	R	K	K	V	A	K	T	N	E	A	D	E
<i>Euglena gracilis</i>	M	A	S	T	C	K	R	R	A	S	A	E	L	H	A	K	S	A	D	A	V	G	R	N	V	A	Y	T	P	K	I	V	N	D	G	V	V	A	I	R	D	V	E	L	I	G	A	K	L	V	R	N	T	V	L	K	T	N	D	A	D	G
<i>Euglena longa</i>	M	A	S	T	C	K	R	R	A	S	A	E	L	H	A	K	T	A	D	A	V	G	R	N	V	L	Y	T	P	K	I	V	N	D	G	V	V	A	I	R	K	V	E	L	I	G	A	K	L	V	R	N	T	V	L	K	T	N	D	A	D	G
<i>Heterocapsa</i>	M	S	S	A	R	P	R	R	V	S	A	E	L	H	F	N	C	S	E	V	L	L	R	S	P	A	Y	S	K	V	I	L	E	R	G	V	A	A	A	K	D	V	D	L	L	S	A	K	H	A	A	L	I	S	A	K	T	N	E	P	E	G
<i>Chlamydomonas</i>	M	A	S	T	G	K	R	R	A	S	A	E	L	H	F	K	S	A	D	I	V	G	R	N	V	A	Y	T	P	K	I	V	N	D	G	V	V	A	A	K	E	V	E	L	I	G	A	K	L	V	R	Q	A	A	L	K	T	C	D	A	D	G
<i>Chromera</i>	M	A	S	A	R	K	R	R	V	S	A	E	L	H	F	N	C	S	E	V	V	G	K	S	P	A	Y	S	P	K	L	L	N	D	G	V	V	A	A	K	E	V	E	L	I	G	A	K	H	I	A	L	A	A	A	K	T	N	E	A	D	G
<i>Chromulina</i>	M	A	S	Y	G	R	K	R	V	S	F	A	L	H	F	K	S	A	D	L	A	I	G	N	V	A	T	S	P	K	I	V	N	D	C	A	L	A	A	K	E	V	E	L	L	G	A	S	R	V	R	Q	A	A	R	K	T	T	D	A	E	C
<i>Noctiluca</i>	M	S	S	A	R	P	R	R	V	S	S	E	L	H	F	N	C	S	E	V	L	L	R	S	P	A	Y	S	K	V	I	L	E	R	G	V	A	A	L	K	D	V	D	L	L	S	A	K	H	A	L	L	I	S	A	K	T	N	E	P	E	E
<i>Pinnularia</i>	M	A	S	Y	G	K	R	R	V	S	S	A	L	H	F	K	S	A	D	L	A	I	G	N	V	A	Y	S	P	K	I	V	N	D	C	A	L	A	A	K	E	V	E	L	I	G	A	S	R	V	R	Q	A	A	A	K	T	T	D	A	E	C
<i>Plasmodium</i>	M	A	S	A	R	K	R	R	V	S	A	E	L	H	F	N	C	S	E	V	V	G	K	S	P	A	Y	S	K	V	I	L	E	R	G	V	V	A	A	K	E	V	E	L	I	G	A	K	H	I	A	L	I	S	A	K	T	N	E	P	D	G
<i>Porphyra</i>	M	A	S	T	G	K	R	R	V	S	A	E	L	H	F	K	S	A	D	L	V	G	R	N	V	A	Y	S	P	K	I	V	N	D	G	V	V	A	A	K	E	V	E	L	I	G	A	K	L	V	R	Q	A	A	A	K	T	N	D	A	D	G
<i>Rhodomonas</i>	M	A	S	T	G	K	R	A	L	S	A	D	I	R	S	K	S	A	D	L	V	T	R	N	V	A	Y	S	P	K	I	V	N	E	S	I	A	A	A	K	E	V	E	L	I	C	C	K	L	V	R	H	A	A	K	K	T	N	D	I	D	G

„Řešení“ - Jak to bylo doopravdy?

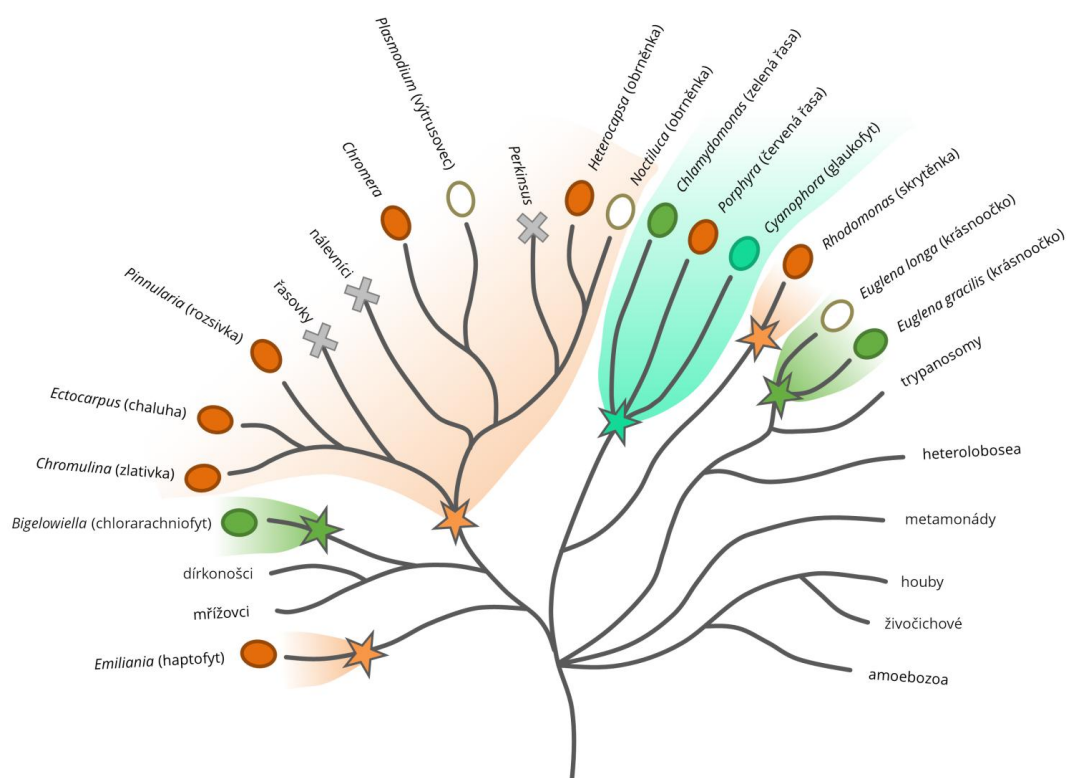
Podle dlouho přijímané *chromalveolární hypotézy* vznikly sekundární červené plastidy pouze jednou v evoluci a tato událost vymezila velkou skupinu zvanou Chromalveolata (na obrázku oddíl podbarvený oranžově; skrytěnky byly tehdy považovány za sesterskou skupinu haptofyt, takže do chromalveolát spadaly také, byť to na stromě s dnes platnou topologií nelze naznačit):



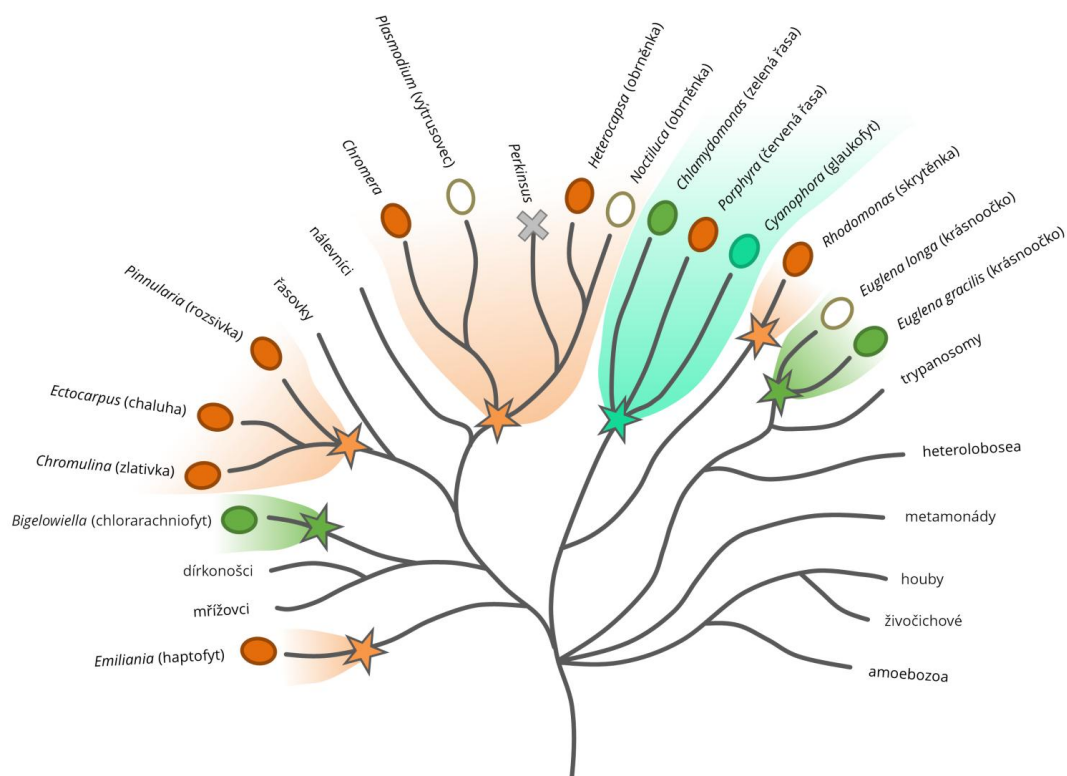
Dříve se také vážně uvažovalo o tom, že zelený plastid, dnes přítomný u krásnooček, měly původně i trypanosomy, které o něj druhotně přišly, když se přeorientovaly na parazitický způsob života:



Nová sekvenční data a následné přeskupování větví na fylogenetickém stromě eukaryot ale s chromalveolární hypotézou poněkud zamávaly. Zjistilo se, že haptofyti a skrytěnky sedí na dvou různých a výrazně vzdálenějších větvích, než se původně zdálo. Bylo tedy jasné, že své plastidy získaly nezávisle na zbytku bývalých chromalveolát:



Další fylogenetické analýzy založené na kvalitnějších datech ze širšího spektra organismů ukázaly, že ani plastidy alveolát (obrněnek, výtrusovců a chromeridů) a plastidy stramenopil (rozsivek, chaluha, zlativka a dalších hnědých řas) nejsou stejného původu. V současnosti se tedy domníváme, že červené sekundární plastidy vznikly v evoluci minimálně čtyřikrát:



Náměty k diskuzi:

Jaké jsou výhody a nevýhody rekonstrukce evoluce z fenotypových a genetických dat?

Některé morfologické znaky mohou vzniknout během evoluce vícekrát (podobně jako se např. ploutve vyvinuly nezávisle u ryb, ploutvonožců, kytovců, tučňáků i ichtyosaurů a plesiosaurů) a bez genetické informace nemusíme být schopni odlišit, zda je nějaký společný znak *synapomorfii*, tedy znakem, který má stejný evoluční původ, či *evoluční konvergencí*, tedy znakem, který se vyvinul nezávisle do stejné podoby, ať už kvůli podobným vlivům prostředí (například potřebou pohybovat se ve vodě) či pouhou náhodou. Molekulárně genetické metody jsou zase limitovány dostupností dat, mnohdy vůbec možností daný organismus osekvenovat – některé genomy jsou obrovské anebo složité či netypicky uspořádané a proto důkladné sekvenaci dosud odolávají. Zdrojem zmatků může být také *horizontální genový transfer* (HGT), tedy situace, kdy se určitá část genetické informace přenesla do zcela nepřibuzného organismu – to se může stát v důsledku těsného ekologického vztahu (např. symbiózy) či třeba prostřednictvím virů. Digitální data mohou být kupodivu také kontaminována – například genetickou informací z všudypřítomných bakterií či spor hub.

Pro stejná data může existovat více platných vysvětlení

Zvláště v evoluční biologii se u mnohých věcí nikdy nedozvíme „jak to ve skutečnosti bylo“ - například proto, že proběhly před mnoha miliony až miliardami let a pro mnoho z nich ani nemáme žádné fosilní záznamy. Všechny scénáře, které vymyslíme, budou pouze teorie, které se mohou v něčem vylučovat a v něčem překrývat – a některé jevy mohou vysvětlovat jinak, každá však zcela logicky a konzistentně. Důležité ale je tyto teorie neustále testovat a být připraven je zavrhnout, pokud je nějaká nová, dříve neznámá fakta vyvrátí.

Možnosti vědeckého poznání limitují dostupné technologie a metody

Před rozvojem mikroskopie a biochemie nebylo možné prvky a řasy klasifikovat. Před rozvojem sekvenace DNA se vztahy odvozovaly pouze z fenotypu, což může být někdy zavádějící (viz synapomorfie vs. konvergence). Dnes máme k dispozici digitalizovanou genetickou informaci a programy na její zpracování. Vycházet ale pouze z ní může být také ošemetné (viz HGT či kontaminace).