

# Mikrosporidie: houby, co nevypadají jako houby, aneb Sestry říše Fungi?

**Mikrosporidie (Microsporidia, nebo podle některých autorů Microsporidomycota) jsou jedněmi z nejčastějších a druhově nejpoběžnějších parazitů živočišné říše. Denně se s nimi mimoděk setkáváme, často jsme dokonce jejich hostiteli, ale kvůli skrytému způsobu života je obecná povědomost o nich velmi nízká. Nejen pro jejich hojnost a určitou důležitost zdravotnickou a veterinární, ale především pro mimořádnou zajímavost související s extrémní adaptací k parazitismu si tyto organismy rozhodně zaslouží naši pozornost.**

## Co o mikrosporidiích říci na úvod?

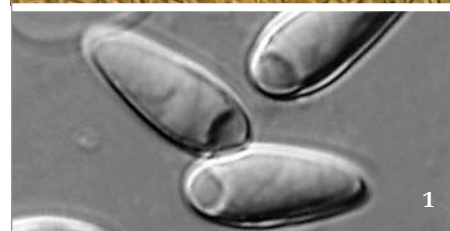
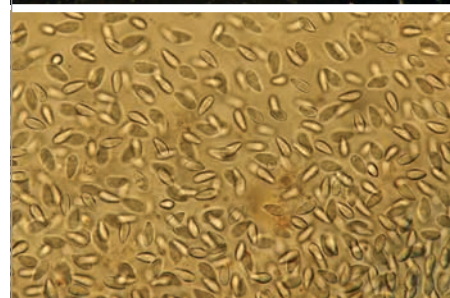
Lidská kultura zná mikrosporidie něco málo přes 150 let a žije s některými jejich druhy v intenzivním vztahu již od pradávna. Je tomu však teprve 30 let, co jsme začali zkoumat původ těchto organismů molekulárními metodami a začínáme jim lépe rozumět. Obecně můžeme mikrosporidie charakterizovat jako monofyletický (jednoho společného předka mající) kmen protistů (jednobuněčných eukaryotických organismů), unikátním způsobem adaptovaných k parazitickému životu v buňkách živočichů. Uvnitř buněk hostitelů žijí nejdříve v podobě jednoduchých, strukturně redukovaných množících se buněk, které se nakonec mění ve spory. Spora představuje jedině volně se vyskytující stadium mikrosporidie (mimo hostitele) a jejím úkolem je nakazit nového hostitele. K tomu je vybavena zvláštní organelou – dlouhým vychlípitelným vláknem fungujícím jako injekční trubice, která dopravuje obsah spory mikrosporidie do nitra buněk hostitele. Stavba spory a její funkce jsou vývojově jedinečnými (apomorfními) znaky mikrosporidií.

K hlavním hostitelům mikrosporidií patří hmyz, z čehož též vychází české starší jméno hmyzomorky (používané ale i pro část jinak nepřibuzných hub, zygomycet). Mnoho mikrosporidií ale parazituje i v koryších a dalších bezobratlých. Zástupci několika rodů parazitují dokonce v buňkách jiných protist (gregarin, nálevníků, myxozoi). Z obratlovců jsou mikrosporidiemi často nakaženy ryby, existuje však i malá skupina infikující savce, a to včetně člověka. Říká se, že když pečlivě vyšetříme určité množství jedinců jakéhokoli živočišného druhu, nakonec v něm najdeme jeden nebo i více druhů mikrosporidií. Byly tak nalezeny i u organismů žijících v exotickém prostředí, např. u hlístic (Nematoda) v podmorských vývěrech metanu. Teoreticky by tedy mikrosporidie mohly být vůbec nejčastějšími parazity živočichů. Dnes známe kolem 2 000 druhů mikrosporidií, řazených asi do 200 rodů. Uváží-

me-li silnou hostitelskou specifitu mikrosporidií, je zřejmé, že naprostá většina druhů zatím nebyla objevena a popsána.

Jak již bylo řečeno, mikrosporidie jsou sice běžné, ale žijí skrytě. Pro pozorovatele však postačí se podívat např. v potoce na larvy muchniček přichycené na kamenech, nebo na drobné koryše naložené sítkou v rybníce. Nakažení jedinci jsou nápadně mléčně bělaví díky masě spor, které po uvolnění z hostitele zaujmou svým uniformním tvarem a rozměry (obr. 1).

První mikrosporidii objevil v r. 1857 švýcarský botanik Karl Wilhelm von Nägeli, a to v housenkách bource morušového (*Bombyx mori*). Byla nazvána *Nosema bombycis*, což doslova znamená „nemoc bource“. Nägelimu se pod mikroskopem naskytl pohled známý každému, kdo mikrosporidie studuje: tkáň housenek byla plná drobných, několik mikrometrů měřících, oválných, tvarově a velikostně stejnorodých tělísek, tedy spor. Již objeviteli mikrosporidií nebylo jasné, kam tato skupina v hierarchii organismů patří. V r. 1892 si francouzský badatel Prosper Thélohan povšiml, že u spor mikrosporidií lze mechanicky nebo chemicky stimulovat vychlípění dlouhého tenkého vlákna (obr. 2). Toto pozorování bylo nesčetněkrát potvrzeno dalšími badateli, umožnilo definovat mikrosporidie jako homogenní skupinu organismů, ale nepřispělo k jasnějšímu pochopení jejich původu. A tak po většinu jejich další existence byly považovány za prvoky (Protozoa), taxon z dnešního pohledu s malou, či téměř žádnou vypovídací hodnotou.

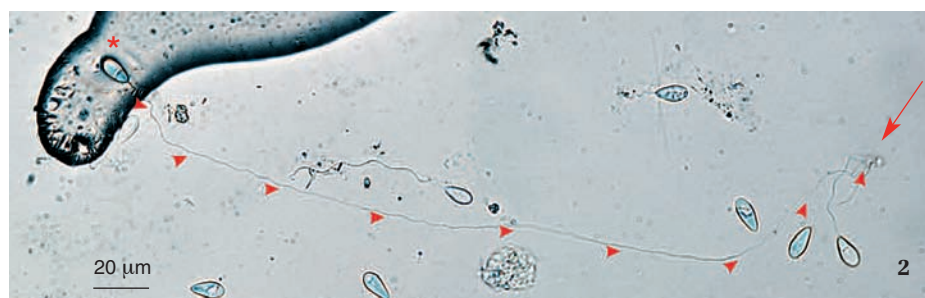


**1** Mikrosporidiemi (Microsporidia, nebo Microsporidomycota) nakažení hostitelé se v dopadajícím světle jeví jako mléčně zakalení díky úplnému odrazu světla od masy spor uvnitř organismu (obr. nahoře). Nakažená (vlevo) a zdravá (vpravo) buchanka rodu *Megacyclops* (velikost asi 1,5–2 mm). Uprostřed masa spor mikrosporidie rodu *Amblyospora* (velikost 12 μm, foto V. Vávra) uvolněných z tkání buchanky obecné (*Cyclops strenuus*). Dole detail těchto spor

**2** Spora mikrosporidie rodu *Amblyospora*, parazita buchanek a komárů, dlouhá 12 μm (také obr. 1) s vystřelenou pólovou trubicí o délce více než 300 μm. Uvolněný obsah spory na konci vlákna označuje šipka. Uvnitř neaktivované spory je tato trubice stočena ve 20 závitůch.

## Co tedy jsou – houby, nebo sestry hub?

K vážným úvahám, kam mikrosporidie patří v přirozeném systému organismů, se dalo přistoupit teprve po rozvoji molekulární fylogenetiky založené na analýzách sekvencí DNA v kombinaci s poznatky

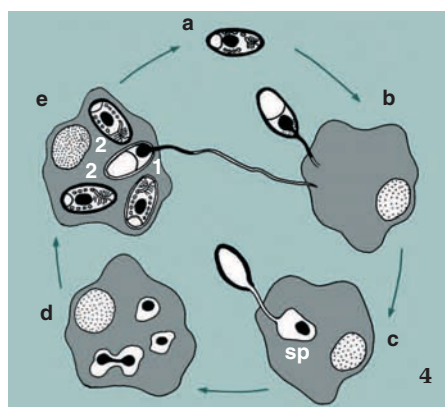
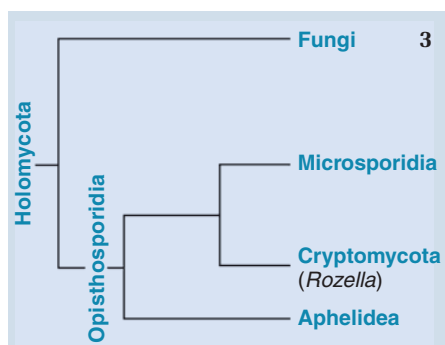


buněčné biologie, biochemie a cytologie. Avšak paradoxně u mikrosporidií tyto metody narazily na úskalí typická pro parazity a daná tím, že jde na jedné straně o organismy výrazně redukované co do komplexnosti, na druhé straně nesoucí řadu buněčných a fyziologických inovací. Navíc se ukázalo, že zásadní komplikací fylogenetiky mikrosporidií je neobvykle vysoká rychlost mutačních změn jejich genů. Již první fylogenetické stromy zahrnující mikrosporidie se vyznačovaly značnou délkou větví – až 10× delší, než bývá běžné u ostatních eukaryot. To může svědčit buď o značném evolučním stáří, nebo o tom, že u mikrosporidií dochází k mutacím mnohem častěji a molekulární hodiny u nich tikají neobvykle rychle. Dnes víme, že druhá možnost je ta správná. Mikrosporidie nejsou starobylé organismy, jak se v minulosti spekulovalo (např. T. Cavalier-Smith v r. 1993; Živa 2016, 1: 27–30), ale organismy vývojově mladé, rychle se vyvíjející. Ale jaké organismy?

Kolem r. 2000 se objevily první molekulárněbiologické důkazy v podobě sekvencí podobnosti mnoha genů, které prokázaly, že mikrosporidie patří společně s živočichy a houbami do fylogenetické skupiny („nadříše“) Opisthokonta (jedna z pěti fylogenetických skupin sdružujících všechna eukaryota, Adl a kol. 2012) a specificky mezi houby – Fungi (blíže ve zmíněném článku v Živě 2016, 1). Kam je ale v rámci hub zařadit, si vyžádalo opět další nemalé úsilí a mikrosporidie byly po určitou dobu považovány za nejspíše příbuzné chytridiím (Chytridiomycota) nebo houbám spájivým (Mucoromycota, dříve Zygomycota). Dnes jsou za nejbližší známé příbuzné mikrosporidií pokládáni zástupci oddělení Cryptomycota, např. *Rozella allomycis* parazitující chytridní houbu *Allomyces arbuscula*, a paraziti zelených řas a rozsivek známí jako Aphelidea (např. rody *Aphelidium*, *Amoebophilidium*). Obě tyto skupiny spojuje s mikrosporidii jeden důležitý znak – jsou to vnitrobuněční paraziti, kteří vstupují do buňky hostitele pomocí injekční trubice, byť velmi různého původu (odvozené z buněčné stěny u rozelly a afelidie nebo syntetizované v cytoplazmě buňky u mikrosporidií). Podle některých autorů jsou tyto tři skupiny (rozelly, afelidie a mikrosporidie) řazeny v rámci superskupiny Opisthokonta do samostatné podskupiny Opisthosporidia sesterské houbám (obr. 3). Mikrosporidie ovšem kvůli parazitismem vyvolané redukci paradoxně postrádají oba základní znaky opisthokont – pohyblivá stadia s tlačným bičkem (mikrosporidie nemají pohyblivá stadia) a mitochondrie s plochými kristami (mikrosporidie mají pouze redukované zbytky mitochondrií, tzv. mitosomy). Přesto jejich příslušnost k ostatním zástupcům opisthokont, a příbuznost k řiši Fungi je nezpochybnitelná, a to i z důvodů biochemických (přítomnost chitinu ve stěně spor a specifických typů enzymů pro jejich syntézu).

### Jak vypadají a jejich vývojový cyklus

Základním atributem mikrosporidií je existence primitivně organizovaných vývojových stadií v kontrastu se složité stavěnými sporami. Vývoj začíná jednoduchou mikro-



skopickou buňkou (sporoplazmou; dosahuje velikosti 1–2 μm) vpravenou do cytoplazmy buňky hostitele dutým vláknem vystřeleným ze spory během explozivního „klíčení“ (viz dále). Sporoplazma roste a mění se ve stadium zvané meront, které dále roste, dělí se a postupně dceřinými buňkami zaplňuje hostitelskou buňku. Nakonec se každá vegetativní buňka přemění na sporu (obr. 4). Charakteristickým rysem je, že vývoj probíhá přímo v cytoplazmě hostitelské buňky a jedinou hranici mezi parazitem a hostitelem („interface“) tvoří buněčná membrána mikrosporidie, kde se odehrávají klíčové události mezi hostitelem a parazitem. Mikrosporidie metabolicky zcela závislí na hostiteli, ztratily geny pro syntézu primárních metabolitů, většinu adenosintrifosfátu (ATP, zdroje energie) čerpají z hostitele, k čemuž jim slouží transportní proteiny získané horizontálním genovým přenosem z bakterií. Mikrosporidie nejen odebírají metabolity z hostitelské buňky, ale také důmyslně ovládají její metabolismus, podporují její růst (všechny nakažené buňky jsou více méně zvětšené, někdy až do makroskopických útvarů), navozují splývání hostitelských buněk (čímž se zvětšuje životní prostor parazita) a ovládají i smrt nakažené buňky (apoptózu).

Přísně intracelulární život se zdá být výhodnou životní strategií: mikrosporidie se chová v cytoplazmě spíše jako symbiotická organela (avšak jen do doby, než buňku zničí), která profituje z přílivu živin a zdrojů energie. Díky využívání hostitele může parazit účinně omezit vlastní genetický aparát. Genomy mikrosporidií jsou redukované z hlediska velikosti – od nejmenšího o 2,3 milionu párů nukleotidových bází (Mpb) u savčí mikrosporidie *Encephalitozoon intestinalis* k zatím největšímu, 24 Mpb, u parazita perlooček mikrosporidie rodu *Hamiltosporidium*. Některé mikrosporidie došly v této redukci až na hranici, která je považována za

3 Schematický fylogenetický strom zobrazující současný názor na postavení mikrosporidií. Jsou součástí souhrnné skupiny Holomycota, zahrnující houbám příbuzné organismy a vlastní houby (Fungi). Uvnitř této skupiny tvoří mikrosporidie součást linie Opisthosporidia, sesterské k houbám, a kromě mikrosporidií zahrnující i parazity hub (Rozellidea) a řas (Aphelidea). Všechna Opisthosporidia injikují své zárodky do buněk hostitele trubící, která má však rozdílný původ a ontogenezi. Upraveno podle: S. A. Karpov a kol. (2014), orig. J. Vávra

4 Zjednodušené schéma vývoje mikrosporidií. Spora uvolněná do prostředí (a) explozivně klíčí v zaživacím traktu hostitele a pólová trubice proniká do buňky hostitele (b); obsah spory je vytlačen ze spory a objevuje se v podobě malé buňky – sporoplazmy (sp) na konci vychlípené trubice (c). Sporoplazma se mění na vegetativní buňky množící se v cytoplazmě hostitelské buňky (d) a tyto buňky se po čase transformují ve spory (e). Vzniklé spory jsou buď tenkostěnné, samovolně klíčí uvnitř hostitele a přenášející nákladu do dalších buněk (1), nebo tlustostěnné, opouštějí tělo hostitele a zajišťují přenos na další hostitele (2). Upraveno podle: P. J. Keeling a G. I. McFadden (1998), orig. M. Chumchalová

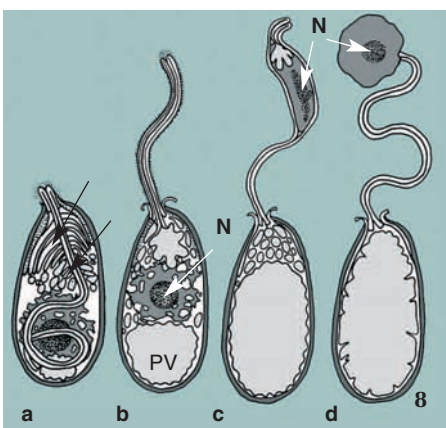
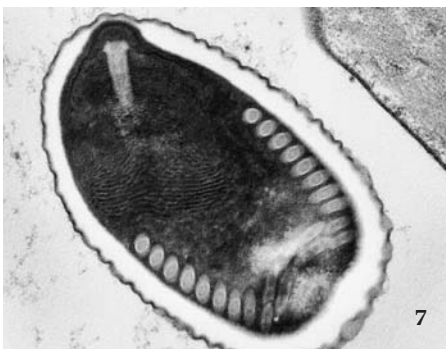
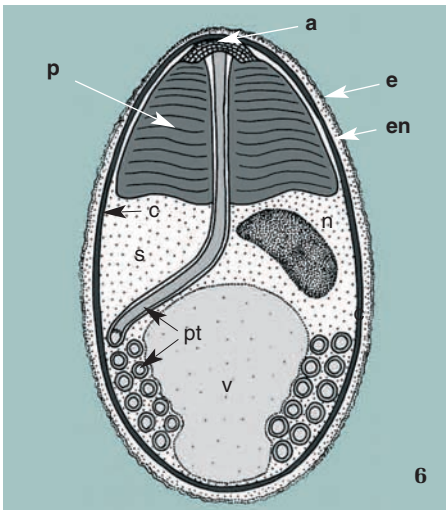
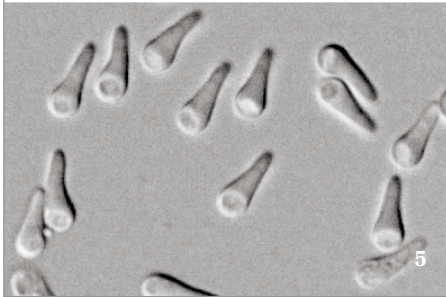
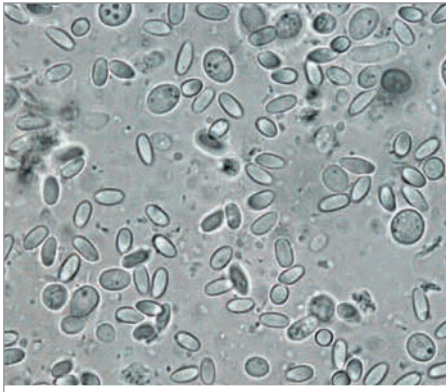
5 Tvarová různost spor mikrosporidií. Spory *Nosema ceranae* (obr. nahoře, foto M. Kamler) z obsahu žaludku včely medonosné (*Apis mellifera*). Velikost spor asi 4–5 μm. Spory zástupce rodu *Paraepiseptum* (dole, foto M. Hyliš), parazita tukového tělesa chrostíků. Nomarského kontrast, spory 6–8 μm

6 Schéma ultrastruktury spory mikrosporidií. Spora je stavěna jako tlaková nádoba s dvojitým obalem (en – chitinový obal, e – proteinový obal), obsahujícím následně buněčné elementy: c – cytoplazmu a její plazmatickou membránu, s – cytoplazma s ribozomy, n – jádro, p – membránovou „harmoniku“ (těsně nahloučené lamely, polaroplast), pt – dlouhé a částečně svinuté vlákno se složitou strukturou, a – vlákno je upevněno ve špičce spory hřibovitou koncovkou, v – vakuolární prostor v zadní části spory. Upraveno podle: J. Lom a I. Dyková (1992), orig. M. Chumchalová

7 Mikrosporidiová spora v transmisním elektronovém mikroskopu. Dobře viditelný je dvouvrstevný obal, přímá a stočená část pólové trubice a membránový systém v přední části spory. *Vavraia culicis*, parazit larev komárů rodu *Culex*. Délka spory 5 μm

8 Schéma explozivního klíčení (vystřelení) spory mikrosporidií. Růst vnitrosporového tlaku vede k protřetí obalu spory na její špičce (a), vlákno je vytlačováno ven, přehrnje se naruby (b), membránové útvary a cytoplazma spory i její jádro (N) jsou vtlačeny do vlákna (c) zvětšující se zadní vakuolu (PV), aby se nakonec objevily jako malá buňka (sporoplazma) na konci plně vystřeleného vlákna (d). Klíčení trvá asi dvě sekundy, membránové útvary (černé šipky) přispívají k rekonstrukci plazmatické membrány sporoplazmy. Z archivu autora, orig. M. Chumchalová





minimální eukaryotický genom. Genomy mikrosporidií rodu *Encephalitozoon* jsou tak dokonce menší (2,3–2,9 Mpb) než běžné genomy bakterií (*Escherichia coli* – 4,6 Mpb). Rovněž ribozomy mikrosporidií jsou zjednodušené: ztratily část ribozomální DNA a velikostí připomínají bakteriální ribozom. Vnitrobuněčný život mikrosporidií však přináší jeden závažný problém – jak se z nakažené buňky dostat do nového hostitele. Mikrosporidie si k tomuto účelu vyvinuly spory, stavbou zcela ojedinělé mezi dnes známými organismy, které umožňují originální způsob infekce hostitele.

### Spora a její funkce

Spora představuje charakteristické stadium životního cyklu a její struktura a ultrastruktura je klíčovým prvkem klasifikace mikrosporidií. Spora vzniká přeměnou jediné vegetativní buňky, která změní tvar na oválný (ale existují i spory dalších tvarů – kulaté, tyčinkovité, srpkovité apod.; obr. 5) a obalí se dvojitou stěnou z chitinů a bílkovin (obr. 6 a 7). Uvnitř spory se vytvoří dlouhé vlákno (zvané trubice či vlákno), zevnitř připevněné jakousi kotvou k obalu spory v místě jeho ztenčení na pólu spory. Odtud vlákno sestupuje středem spory a stáčí se v závitěch v její střední a zadní části. Vlákno z 3–5 unikátních bílkovin má složitou vnitřní strukturu tvořenou z několika vrstev (dodnes jejich význam neznáme). V zadní části spory je pak vakuolární prostor viditelný už ve světelném mikroskopu. Jeho přítomnost na první pohled ve světelném mikroskopu umožňuje poznat, že jde o sporu mikrosporidie. Kolem přední části vlákna (tam, kde není v závitěch stočeno) se vytváří struktura z těsně nahloučených membránových lamel nazývaná polaroplast, připomínající harmoniku. Zbytek prostoru vyplňuje cytoplazma s velkým množstvím ribozomů, které umožňují velmi rychlou syntézu bílkovin, a jádrem mikrosporidie.

Funkci spory u mikrosporidií lze bez nadsázky nazvat osmým divem světa. Jak její explozivní klíčení probíhá, bylo vysvětleno až po dlouhém období dohadů a mylných teorií a tento úspěch patří dodnes k prioritním výsledkům české vědy. Už od r. 1892 bylo známo, že působením různých chemikálií nebo mechanickým tlakem se ze spory vymrštlí dlouhé vlákno, na jehož konci se objeví miniaturní buňka s jádrem a spora zůstává prázdná. Ale jaká je úloha vlákna, nebylo jasné. Předpokládalo se mimo jiné, že obsah spory je připevněn ke konci vlákna a že to se vymrštlí a vyneše zárodek ven. Byly dokonce publikovány práce dokazující, že je mechanicky nemožné, aby obsah spory prošel během několika sekund dlouhým dutým vláknem a objevil se na jeho konci, jak navrhovali někteří autoři. Nakonec to byli pracovníci Protozoologické laboratoře Československé akademie věd, Jiří Lom a autor tohoto příspěvku, kteří definitivně v r. 1963 dokázali, že vlákno opravdu funguje jako injekční trubice a pořídili o tom filmový záznam. Když se spora dostane s potravou do zažívacího traktu hostitele, dochází k její aktivaci a průniku vody do spory. Prostor vyplněný membránovými lamelami ve vrcholové části začne bobtnat

a tlak uvnitř spory se zvýší natolik, že v místě ztenčeného obalu (a tedy v místě připevnění vlákna) praskne. Vlákno se začne vyhrnovat ven, ale přitom se převrací naruby jako prst u rukavice. Právě díky tomuto „přirůstání“ ohrnováním na své špičce má neskutečně velkou schopnost pronikat tkáněmi. Po rozvinutí v plné délce se začne zvětšovat vakuolární prostor na bázi spory a ten vytlačí již vymršťeným vláknem celý obsah spory, který se objeví na konci vlákna v podobě buňky – sporoplazmy (obr. 8). Předpokládá se, že materiál membránové harmoniky, rovněž vtlačený do trubice, se podílí na rekonstrukci plazmatické membrány sporoplazmy. Celý proces infekce trvá přibližně dvě sekundy. Ze spory, která měří obvykle mezi 4–6  $\mu\text{m}$ , se rozvine vlákno dlouhé až stovky mikrometrů (obr. 2). Zárodek mikrosporidie je tak injekčně dopraven z místa aktivace spory do velmi vzdálených tkání hostitele. Směr vystřelení je však víceméně náhodný a často svůj cíl mine. Mikrosporidie kvalitu střelby nahrazují kvantitou a díky množství vystřelujících spor se většinou náhoda dostane tam, odkud může odstartovat další vývoj parazita.

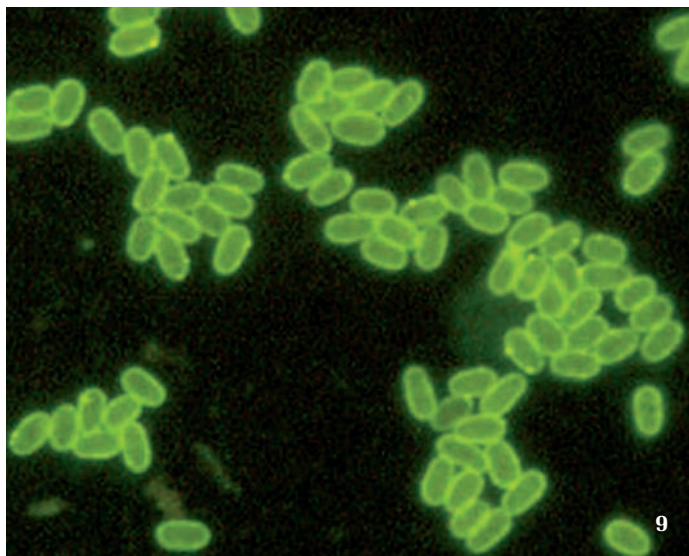
Celá výše popsaná funkce spory je opravdu pozoruhodná a o to více překvapuje, že nevíme, jak tento ojedinělý způsob šíření evolučně vznikl. Nejbližší příbuzní mikrosporidií rovněž injikují své zárodky do buněk hostitele, ale jejich injekční trubice jsou odvozené od stěny encystované zospory a nevznikají tedy jako vnitřní produkt cytoplazmy buňky jako pólové vlákno mikrosporidie, a mají tudíž zcela odlišný vývojový původ.

### Jak nahradit ztrátu pohybu?

Mikrosporidie nemají žádná pohyblivá stadia. Jediným způsobem schopným nahradit pohyb je vlákno vystřelující ze spory. To je však jednorázová záležitost, a tak mikrosporidie musejí nalézt způsob, jak se uvnitř hostitelského organismu efektivně šířit i dlouhodobě. V rámci jednoho orgánu může mikrosporidie využít indukci tvorby buněčných syncytií (soubuní) hostitelských buněk, ale u rozměrných hostitelů není tento způsob účinný, protože mikrosporidie musejí překonat v hostiteli relativně velké vzdálenosti (např. ze střeva do tukového tělesa a odtud do snovacích žláz). Mikrosporidie vše elegantně vyřešily tvorbou tzv. časných spor. Příkladem je druh *Vairimorpha disparis*, parazit bekyně velkohlavé (*Lymantria dispar*). Housenka se nakazí sežráním spor spolu s potravou. Spory vyklíčí ve střevě housenky a vlákna injikují zárodky mikrosporidie do svaloviny a vaziva obklopujících střeva. V buňkách hostitele se během několika málo dnů (tří až pěti) vytvoří zvláštní generace spor s tenkým obalem a relativně krátkým vláknem. Ty samovolně klíčí, vystřelují vlákna a přenášejí nákazu do dalších částí těla housenky, do tukové tkáně, slinných a snovacích žláz. Tam vývoj pokračuje a vytvoří se také další generace spor se silným obalem a dlouhým vláknem, které slouží k přenosu na nové hostitele.

Tvorbou různých typů spor řeší mikrosporidie rovněž problém, jak se udržet v zažívacím traktu hostitele v případě, že





jde o cílový orgán infekce. Výstelka střeva (enterocyty) se totiž velice rychle obnovuje, a to v řádu několika dnů. U včely medonosné (*Apis mellifera*) nakažené mikrosporidií *Nosema apis*, nebo u člověka nakaženého druhem *Enterocytozoon bieneusi* jsou enterocyty spolu se sporama vyloučeny do střevní dutiny a posléze odcházejí s nestrávenými zbytky potravy z hostitele ven. Aby se nákaza v hostiteli dlouhodobě udržela, vytvořily si mikrosporidie různě reaktivní spory. Část spor vystřelí okamžitě po vyloučení do střevního obsahu a infikuje znovu buňky hostitele, jiné jsou méně reaktivní, vycházejí z těla ven a kontaminují nové hostitele. Tvorba různých typů spor (ať již stejně vypadajících, nebo morfologicky odlišných) je pro mikrosporidie typická a mnohým druhům umožňuje vytvářet složité životní cykly, při nichž např. kolují mezi vodními korýši (buchankami) a komáry. Takové mikrosporidie (např. rod *Amblyospora*) tvoří tři typy spor natolik rozdílné, že byly původně popsány jako zástupci tří různých rodů. Jeden typ se objevuje ve vaječnicích buchank (přitom pro ně již není infekční), druhý vzniká v samčích larvách komárů (a je infekční pro buchanky). Nakonec třetí typ se vyskytuje v dospělých samičkách komára a do další generace komárů se přenáší prostřednictvím infikovaných vajíček (transovariálně). Je to vpravdě „dábelsky“ dokonalé. Podobné životní cykly budou existovat i u řady dalších vodních hostitelů, zatím však čekají na své objevení.

### Mikrosporidie jako škůdci

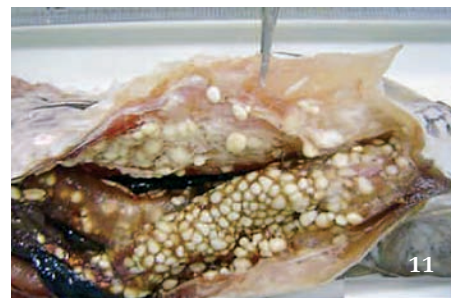
Hmyz je bezesporu největší hostitelskou skupinou mikrosporidií: skoro polovina jejich rodů byla popsána z hmyzu. A je to právě hmyz, u něhož se mikrosporidie ukázaly být z pohledu člověka jak prospěšné, tak i škodlivé.

Výše zmíněná první popsaná mikrosporidie *Nosema bombycis* byla a stále je významným parazitem motýla „hedvábníka“ neboli bource morušového. Tato mikrosporidie v 19. stol. téměř zničila evropské hedvábnictví. Průmysl využívající vlákna, kterými se housenka bource při kuklení zapřádá, byl (a v některých zemích dosud je) důležitým odvětvím zaměstnávajícím statisíce lidí. Housenky bource

nejdou náročné, stačí je krmit morušovým listím, a tak chov bourců nejen živil a zajišťoval prosperitu střední a jižní Francie a Itálie, ale rozšířil se i do střední Evropy. Málokdo asi ví, že dodnes existující a památkově chráněný „Vršovický zámeček“ zvaný Rangherka v Praze býval továrnou na hedvábní, přílehlé Heroldovy sady pak morušovým hájem zajišťujícím dostatek listů pro věčně hladové housenky (obr. 12).

Kolem poloviny 19. stol. však do výnosného průmyslu dramaticky vstoupila mikrosporidie *N. bombycis*. Po celé Evropě hynuly housenky bourců na tzv. pepřovku, kdy bílé nebo nažloutlé housenky vypadaly jako posypané zrnky pepře – výsledek obranné imunitní reakce doprovázející snahu hostitele zahubit parazita jeho obalením pigmentem melaninem (obr. 9 a 10). Pepřovka (francouzsky pébrine) zaplavila Evropu a hrozila způsobit kolaps hedvábnictví. V této chvíli vyslala francouzská vláda asi největšího vědce své doby, mikrobiologa Louise Pasteura na misi do Provence s úkolem najít původce choroby a vyvinout metodu léčby nebo prevence. Pasteur sice *N. bombycis* neidentifikoval (a také nevěděl o jejím již zmíněném popisu od K. Nägeliho), ale jako dobrý pozorovatel si všiml, že některé motýlí samice kladoucí vajíčka mají v tkáních drobná světlolomná tělíska. Z jejich vajíček pak rostou nemocné larvy. Doporučil tedy mikroskopicky vyšetřit každou samičku motýla, která nakladla vajíčka, a dále chovat pouze larvy od zdravých samic. Tímto jednoduchým a dodnes používaným způsobem se podařilo hedvábnický průmysl v Evropě zachránit do doby, než ho definitivně zničila výroba umělohmotných vláken. Pasteurovo pozorování je zároveň prvním důkazem, že se mikrosporidie přenáší i transovariálně.

Hmyzomorka neboli nosema včelí (*N. apis*) a hmyzomorka východní (*N. ceranae*) jsou dva druhy mikrosporidií, které v uplynulých desetiletích hýbaly a dosud hýbají světem včelařů. Oba druhy napadají střevní epitel včel a mohou za určitých okolností (intenzita infekce, fyziologický stav včel, výživové faktory, počasí) působit až hromadné úhyn včelstev. První z těchto dvou druhů je označován za původního parazita včely medonosné, druhý za invazní druh, původně parazitující u asijské vý-



**9 a 10** Fluorescenčně označené spory *Nosema bombycis*, parazita bource morušového (*Bombyx mori*, obr. 9).

Velikost spor asi 3–4 × 2,5 μm. Zdravé a nosemem nakažené housenky bource morušového (10). Černé skvrny v pokožce housenky (nemoc pepřovka, pébrine) jsou výsledkem imunitní reakce housenky proti parazitovi. Foto: silkpathdb.swu.edu.cn, se svolením **11** Vnitřnosti ryby ještěrohlovce (*Saurida*) pokryté xenomy – buňkami stimulovanými k obřímú růstu působením mikrosporidie *Glugea* sp. Každé xenoma obsahuje statisíce spor. Foto R. Peyghan a kol. (2008), s laskavým svolením autora **12** „Vršovický zámeček“ v Praze sloužil jako přádelna hedvábní, tzv. Rangherka. Přílehlé Heroldovy sady byly původně morušovým hájem a zdrojem potravy pro housenky bource morušového. Snímky J. Vávry, není-li uvedeno jinak

chodní včely *A. cerana*, který se do včely medonosné dostal až někdy kolem r. 1990. Dnes jsou oba rozšířeny celosvětově a často se vyskytují ve smíšených infekcích. Spory mají podobné, liší se jen mírně tvarem a velikostí, spolehlivě je lze rozeznat až pomocí analýzy DNA (obr. 5). Nakolik se tyto mikrosporidie, zvláště *N. ceranae*, podílejí na celosvětově rozšířeném hnutí včelstev označovaném CCD (Colony Collapse Disorder, syndrom zhroucení včelstva), stále zůstává předmětem diskuzí. Mikrosporidie (zejména *N. ceranae*) hluboce ovlivňují fyziologický stav včely i její chování. Energetická bilance včelího organismu, kterou parazit narušuje, je zjevně základem problému. Nakažené včely mají v hemolymfě sníženou hladinu cukru trehalózy. Radarové sledování letu jednotlivých včel pak prokázalo, že při nákaze sice



nemají zhoršenou navigaci, ale kvůli vyčerpání energetických rezerv nutných pro let mají menší šanci se do úlu vrátit. To samozřejmě vede k úbytku včel v kolonii, který může skončit vyhynutím včelstva, nebo opuštěním úlu dělnicemi.

*Nosema bombi* je mikrosporidie parazitující v zažívacím traktu a řadě dalších tkání různých druhů čmeláků (*Bombus*). Její přítomnost snižuje efektivitu kolonií čmeláků, dnes intenzivně používaných jako opylovači rostlin ve sklenících.

### Prospěšné hmyzí mikrosporidie

Některé mikrosporidie parazitující v hmyzu můžeme naopak využít v náš prospěch. Druh známý dnes pod jménem *Paranosema* (*Antonospora* nebo *Nosema*) *locustae* parazituje v sarančích. Tato mikrosporidie je uměle množena a v USA se její spory používají v návnadových prostředcích (Semaspore Bait, Nolo Bait) ke snižování počtu sarančí na pastvinách. Kromě jiného nákaza omezuje u sarančí produkci agregačního feromonu, který vede k jejich masovému migracím. Jde o velmi účinný způsob biologických metod ochrany, protože mikrosporidie na ošetřené pastvině dlouhodobě přetrvávají a jsou vysoce hostitelsky specifické, takže návnada nezasáhne jiné organismy. I řada dalších hmyzích mikrosporidií pomáhá regulovat populace škodlivého hmyzu, jako např. *Nosema pyrausta*, efektivně omezující výskyt zavíječe kukuřičného (*Ostrinia nubilalis*).

### Mikrosporidie u obratlovců

Rybích mikrosporidií bylo popsáno kolem 120 druhů a s některými se může setkat i akvarista (např. častá svalová infekce neonek působená druhem *Pleistophora hypheosbryconis*). Druh *Pseudoloma neurophilia* je zase běžným a vážným průvodcem dania pruhovaného (*Danio rerio*), který se stal významným modelovým organismem vývojové genetiky. Tento druh mikrosporidie napadá centrální nervovou soustavu a svaly ryb a zkresluje tak výsledky laboratorních experimentů. Parazit je snadno přenosný a stal se skutečnou metlou chovných zařízení produkujících dania pro pokusné účely. Významné jsou rovněž mikrosporidiové nákazy některých mořských komerčně využívaných ryb. Řada z nich

bývá nákazou postižena nejen fyziologicky, ale může být i vzhledově znetvořena. Mikrosporidie u ryb často vyvolávají tvorbu obrovských útvarů zvaných xenomy. Xenoma je v podstatě jediná nakažená buňka hostitele, která se vlivem nákazy mění na útvar naplněný spory parazita. Takových může ryba mít na svém těle, žábrech nebo vnitřních orgánech tisíce (obr. 11). Česká zoologie se do historie výzkumu rybích xenomů významně zapsala objevem učiněným prof. Aloisem Mrázkem v r. 1899. Jako první na světě zjistil, že obří útvary v rybě mořského đasa rodu *Lophius* jsou gangliové buňky zvětšené vlivem mikrosporidiové infekce.

Spektrum mikrosporidií, které specificky infikují teplokrevné obratlovce včetně člověka, je omezené na tři druhy rodu *Encephalitozoon* (*E. cuniculi*, *E. hellem*, *E. intestinalis*) a jednoho zástupce *Enterocytozoon* (*E. bienersi*). Mikrosporidie rodu *Encephalitozoon* jsou schopny nakazit téměř jakékoli buňky hostitele, působí proto systémové infekce a po těle obratlovců je roznášejí buňky zajišťující nespecifickou imunitní reakci – makrofágy. *Enterocytozoon* parazituje výstelku tenkého střeva. Tyto infekce byly kdysi považovány za vzácné, ale molekulárněbiologická diagnostika ukázala, že jsou relativně časté (přibližně 40 % „zdravých“ lidí v ČR má mikrosporidiovou DNA ve stolici). Pokud má člověk funkční imunitní systém, který mikrosporidii kontroluje, probíhají nákazy zcela bezpříznakově. Při oslabení však mohou být teplokrevní hostitelé, a to včetně člověka infikováni i některými druhy mikrosporidií z hmyzích nebo jiných hostitelů. Významná je schopnost mikrosporidií infikovat oční rohovku a způsobit její zánět – tzv. keratokonjunktivitida. Asi nejpozoruhodnější savčí mikrosporidie je výše uvedený druh *Enterocytozoon bienersi*. Původně byl popsán z pacienta se syndromem AIDS, ale nyní víme, že se běžně vyskytuje u značného procenta lidí, savců a ptáků. Jeho spory mají velikost bakterie a v hostitelích ho najdeme ve více než stovce genotypů bez výrazné hostitelské specifity. U jinak zdravých nositelů jsou nákazy bez příznaků, ale u lidí s porušenou imunitou vyvolává tato mikrosporidie závažné průjemové onemocnění.

### Klasifikace mikrosporidií

Z tohoto hlediska představují problematickou skupinu organismů a jen menší část asi z 2 000 pojmenovaných druhů byla popsána způsobem, který odpovídá moderním kritériím klasifikace. To se týká hlavně starších popisů. Ve světelném mikroskopu, jenž představoval hlavní analytický nástroj pro klasifikaci mikrosporidií po většinu jejich historie, poskytují vývojová stadia i spory jen velmi málo strukturních znaků. Příchod elektronové mikroskopie umožnil využití různých ultrastrukturálních znaků ve stavbě buněk a spor. Tato morfologicky orientovaná klasifikace ovšem často neodpovídá molekulární fylogenetice, už proto, že některé mikrosporidie jsou morfologicky velmi variabilní a tvoří různé vývojové morfy.

Historický vývoj klasifikace mikrosporidií a názory na jejich původ nesou s sebou i jeden zásadní problém. Po většinu své stopadesátileté „existence“ byly mikrosporidie považovány za prvoky (Protozoa). Proto byly a stále jsou klasifikovány v souladu s pravidly zoologického názvosloví (nomenklatury) – ICZN (International Code of Zoological Nomenclature). Jestliže však mikrosporidie náležejí mezi houby nebo jsou jejich příbuznými, měly by být klasifikovány podle botanického nomenklatorického kódu ICBN (International Code of Nomenclature for algae, fungi and plants). Tyto dva nomenklatorické kódy nejsou vzájemně slučitelné, a tak hrozilo nebezpečí, že celé názvosloví mikrosporidií budeme muset přeprocovat. Naštěstí mezinárodní botanický kongres v r. 2009 rozhodl, že z praktických důvodů mohou mikrosporidie zůstat v descii zoologického kódu, a to je i dnešní stav.

### Quo vadis, mikrosporidiologie?

Pátrání po původu mikrosporidií bude jistě pokračovat s nadějí, že se někde zachoval jejich primitivní předek. V současné době existuje několik jednobuněčných organismů, které parazitují v jádrech volně žijících améb (např. rod *Nukleofaga*), u nichž autoři popisují náznaky existence organel typických pro mikrosporidie.

Většina druhů mikrosporidií ještě čeká na své objevení a u mnoha z nich předpokládáme existenci složitých životních cyklů. Příkladem mohou být druhy napadající planktonní korýše (buchanky a perloočky), které však nelze nakazit pro ně specifickými spory. V těchto případech musí existovat další hostitel či hostitelé, nejpravděpodobněji létající hmyz. Jsou také intenzivně studovány mikrosporidie napadající modelové organismy buněčné a vývojové biologie (háďátka *Caenorhabditis elegans*, ryba *D. rerio* aj.), kde jsme schopni vliv parazita na hostitele podrobně sledovat až na úroveň genové exprese.

Mikrosporidie tak zůstávají důležitými obecnými modely buněčné biologie, umožňujícími nahlédnout do mechanismů genové redukce, získání nových genů horizontálním přenosem, studova úlohu transpozonů v genomu apod. Pro schopnost nakazit imunosuprimovaného hostitele patří i mezi důležité lidské parazity.

Použitá literatura je uvedena na webové stránce Živa.

