

Nenápadná diverzita prokaryot

Lidské vnímání početnosti i rozmanitosti živých organismů bylo vždy ovlivněno naší schopností si jich všimnout. I odborníky stále překvapuje, do jaké hloubky mají na poznání diverzity a ekologie organismů, které nevidíme pouhým okem, vliv aktuální technické možnosti. V následujícím článku se budeme zabývat mikroorganismy patřícími mezi bakterie a archea. Tyto dvě skupiny spojuje prokaryotický typ buňky. Jeho definici najdeme v každé učebnici přírodopisu, proto ji nebudeme doslova reprodukovat. Místo toho se zamyslíme, jak prokaryotická buňka ovlivňuje život svých majitelů. Pravděpodobně dost výrazně, vždyť až do 70. let 20. století nikoho nenapadlo odlišovat bakterie a archea. Až v r. 1977 si americký mikrobiolog Carl Woese v dnes již ikonické práci všiml, že genové sekvence bakterií a archeí tvoří dvě různé větve evolučního stromu. Brzy se ukázalo, že archea jsou podezřele blízká eukaryotickým organismům (přesněji části, která nepochází z mitochondrie). Tato hypotéza znamenala konec další kognitivně příjemné duality v systému živých organismů a zavedení tří domén (*Bacteria*, *Archaea*, *Eukaryota*). Pojem prokaryota se stále používá jako praktické, ale nesystematické pojmenování pro buněčné organismy kromě eukaryot.

První analýzy byly založeny pouze na sekvenci genu pro jedinou ribozomální RNA z poměrně malého počtu organismů. Proto není divu, že nebyly hned jednomyslně přijaty. Ještě do relativně nedávné doby se objevovaly hypotézy, že archea jsou blízce příbuznou, nebo dokonce vnitřní skupinou bakterií. Současné analýzy založené na desítkách genů ze stovek organismů však dosti jednoznačně ukazují, že mezi archeí a bakteriemi je velká evoluční vzdálenost, která jinde ve stromě života nemá obdoby (obr. 1). Navíc se postupně podařilo objevit řadu rozdílů mezi těmito skupinami, např. ve struktuře buněčných membrán a stěn, ribozomů nebo v mašinerii pečující o DNA. Dokládají, že se obě skupiny nejspíše oddělily ve velmi časně fázi evoluce života. Dokonce existuje hypotéza, že bakterie a archea představují výsledek dvou nezávislých událostí, při nichž vznikající buňky opustily prostředí, kde jim strukturně „asistovaly“ minerální membrány, a začaly žít na čistě organické bázi. Samozřejmě jde o tak dávné události, že se pro ně těžko budou hledat jiné než nepřímé důkazy. Dobře to ale ilustruje, jak starými liniemi bakterie a archea jsou.

Je namístě si položit otázku, v čem konkrétně se bakterie a archea vzájemně podobají. Zástupci obou skupin většinou (slovo „většinou“ v tomto případě není alibisticou náhradou za „doufám, že vždy“) nevytvářejí velké nebo složitě strukturované útvary, zato svorně dosáhli nesmírné rozmanitosti, co se týče metabolismu a schopnosti přežít v různých typech prostředí. Údajná podobnost všech prokaryot je dána právě absencí vzhledové rozmanitosti forem, na kterou jsme zvyklí od eukaryot. Prokaryotická buňka postrádá dokonalý vnitrobuněčný operný, pohybový a logistický aparát v podobě cytoskeletu, ani nemá

nic srovnatelného s propracovaným eukaryotickým systémem hospodaření s membránami a proteiny. Zcela jinou ligu hraje i prokaryotická buněčná signalizace. Důsledkem těchto omezení je, že prokaryota nikdy nevytvořila svět, v němž by si metabolicky a fyziologicky navzájem podobné komplexní organismy konkurovaly prostřednictvím velikosti, tvaru, nebo dokonce smyslové výbavy a chování. Pro prokaryota znamená neřešitelný problém už něco tak jednoduchého jako pozření potravy tvořeně nerozpustnými částicemi.

Metabolická diverzita prokaryot však rozhodně není „z nouze ctnost“. Lze předpokládat, že maximální využití přirozeně existujících geochemických zdrojů energie představovalo první a dodnes největší adaptivní radiaci po vzniku života. Prokaryota jsou díky jednoduchosti a malé velikosti předurčena k prohledávání možností, co vše lze na zemi i pod zemí využít jako zdroj energie. Jednoduchá buňka má malé energetické nároky na údržbu a její majitel tak může přežít i na poměrně málo výnosných substrátech. Energetický metabolismus prokaryot se odehrává na cytoplazmatické membráně, což jim usnadňuje přenos elektronů na nerozpustné substráty (např. minerály). Jednodušší systém se také snadněji adaptuje na novou potravu a jiné fyzikálně chemické podmínky. S trochou nadsázky lze říci, že pokud se někde v obyvatelné zóně Země setkávají dvě látky, o nichž teoreticky platí, že přenesení elektronu z jedné na druhou se uvolní energie, existuje mikroorganismus, který tuto reakci katalyzuje a využívá.

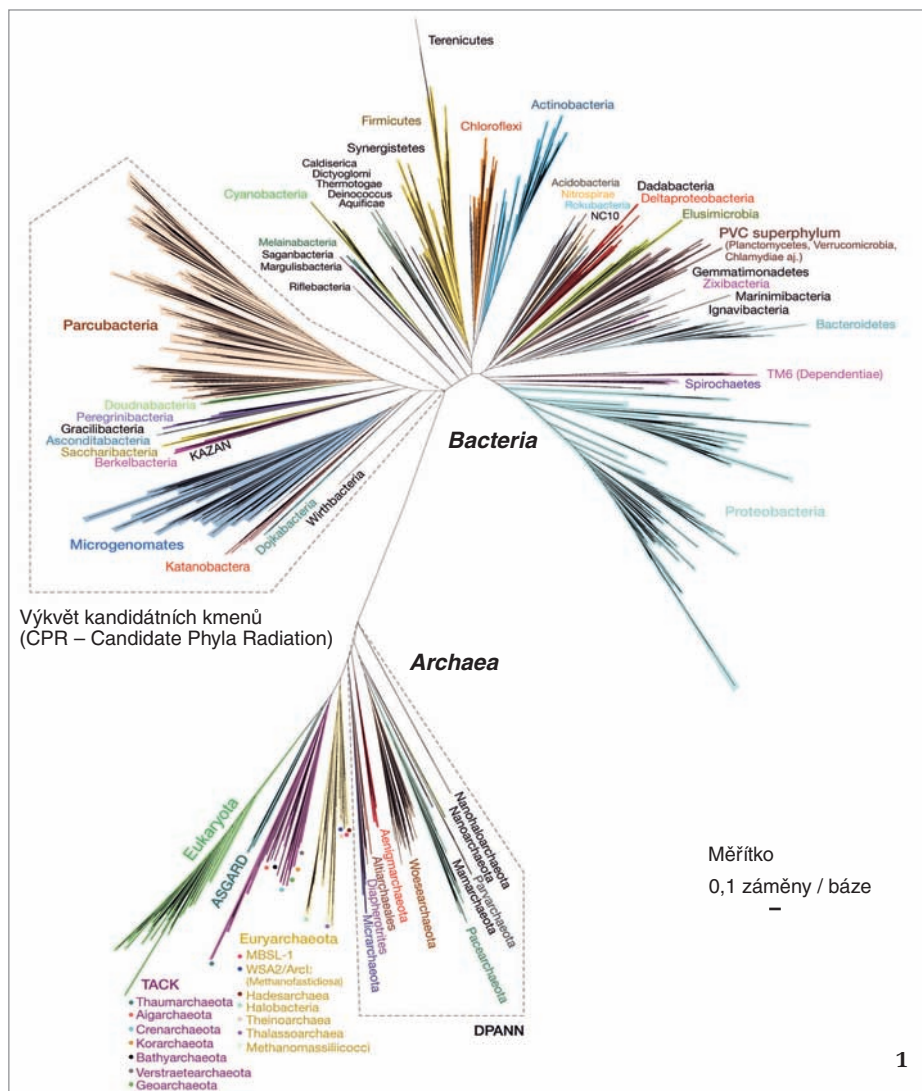
Jak spočítat prokaryota?

Odpověď úzce souvisí s rozvojem metod zkoumání neviditelného života, ale také s rozvojem našeho chápání procesů v pří-

rodě. Samotná myšlenka, že něco, co je malé i mezi mikroorganismy, může stát za pozornost, nebyla zpočátku úplně intuitivní. I když první bakterie byly pozorovány už na konci 18. století, první popisy rodů a druhů pocházejí z 30. a 40. let 19. století. Tehdy bylo popsáno několik volně žijících bakterií nápadných svou velikostí nebo tvorbou různých mimobuněčných útvarů. Z této doby pochází několik dodnes platných jmen, jako je rod *Spirillum* (1832), žijící ve znečištěných vodách, nebo *Gallionella* (1838) a *Leptothrix* (1843) z vývěrů železitých podzemních vod. Drobná zajímavost je, že v té době také vzniklo již neplatné rodové jméno *Bacterium*, které sloužilo jako sběrný taxon pro různé tehdy nezařaditelné „malé kuličky“. Teprve o několik desetiletí později proběhlo slavné období „lovců mikrobů“, kdy se díky novým kultivačním metodám podařilo popsat desítky původců nemocí lidí i zvířat. V této době také vznikla představa mikrobiologie jako oboru zcela závislého na pěstování mikroorganismů v laboratoři.

Kultivační přístup převzala i mikrobiologie zaměřená na volně žijící prokaryota. Tě se dařilo postupně popisovat různé vodní a půdní bakterie, kromě toho se pozvolna hromadily nálezy mikroorganismů s exotickým metabolismem. Stále se však zdálo, že prokaryota jsou sice zajímavá, ale relativně malá skupina, jejíž rody lze bez obtíží vyjmenovat. Zásadní změnu přinesl rozvoj sekvenování DNA. Kromě objevu archeí brzy odhalil (v 90. letech 20. století), že dosud kultivovatelná prokaryota tvoří v nejlepším případě asi procento skutečně existující diverzity.

Metoda určování organismů, nejen mikroskopických, pomocí sekvenace DNA neboli DNA barcodingu (podle podobnosti s „určováním“ zboží načtením jeho čárového kódu) není nijak složitá. Na začátku je nutné, aby se badatelé domluvili, který gen se bude používat pro kterou skupinu organismů. Např. pro prokaryota gen 16S rDNA, kódující molekulu RNA, jež tvoří jakési lešení malé podjednotky ribozomu. Důležité je, že tento gen mají všechny bakterie i archea a že je poměrně dost evolučně konzervovaný. To znamená, že sekvence, tedy pořadí bází tohoto genu u jednotlivých druhů bakterií se liší, ale ani u vzdálených linií se neliší tolik, aby to činilo technické problémy při jeho analýze. Při rozboru se extrahuje celková DNA ze vzorku, tedy směs tisíců různých genů z tisíců různých mikroorganismů. Z této směsi se specificky kopíruje a izoluje pouze vybraný krátký úsek. Zde se projeví výhoda evoluční konzervovanosti 16S rDNA. Díky ní jsme schopni kopírovat tento gen ze všech známých mikrobů a současně nekopírovat žádný jiný. Aniž bychom se zatěžovali technickými detaily, vznikne „koncentrát“ vzájemně si odpovídajících fragmentů 16S rDNA ze všech organismů obsažených v původním vzorku. Příměsí jiné DNA je minimální. Sekvence těchto fragmentů se následně musí přečíst. Existuje více metod, jak oddělit jednotlivé molekuly (opravdu fyzicky jednotlivé) a určovat sekvenci z každé zvlášť. Současné metody dovolují číst zároveň několik milionů molekul na ploše několika centimetrů čtverečních. O to zajímavější je pak zpracování získaných dat,



1 Současný fylogenetický strom prokaryot. Barvy označují kmeny nebo dobře doložené nadkmeny. Skupiny, které expandovaly díky nedávným objevům, jsou orámovány čárkovanou linkou, jsou zřetelně vidět dlouhá větve mezi bakteriemi a archei, stejně jako pozice eukaryot vedle archei ze skupiny Asgard. Upraveno podle: C. J. Castelle a J. F. Banfield (2018)

kteřá obsahují informaci nejen o identitě, ale i o přibližné relativní četnosti jednotlivých druhů organismů v původním vzorku (Živa 2017, 3: 118–120 a LXXIII–LXXVI).

Snadná velkokapacitní sekvenace DNA přinesla skutečný převrat do všech oblastí našeho chápání života mikrobů. Jestliže kultivací bylo možné z většiny vzorků půdy (vody, prachu, tělesného povrchu apod.) získat maximálně desítky navzájem odlišných mikroorganismů, genetické metody odhalily v gramu půdy stovky až tisíce genotypů, podle míry vzájemné odlišnosti patrně náležejících různým druhům. Ve většině prostředí navíc dominovaly zcela jiné taxony, než byly ty nejlépe rostoucí na agaru. Mnohé genotypy patřily do fyziologických skupin, které by se v daném prostředí zdánlivě neměly vyskytovat. V chladnu žijí i mezofilní bakterie, ve tmě organismy schopné fotosyntézy apod. Tradičním mikrobiologům, kteří odhadovali podíl anaerobních mikrobů z redukčního potenciálu vzorku vody (napětí, které se vytvoří na platinové elektrodě ponořené do vody,

měřené proti druhé „nereaktivní“, nepolarizovatelné, elektrodě), začal „mrznout úsměv“. Jakmile začalo být běžné srovnávání mikrobiálních komunit z větších sad vzorků, zmizel úplně. Ukázalo se, že diverzita je nejen vysoká, ale velmi se mění místo od místa. Celkově jsou mikrobiální společenstva mnohem méně předvídatelná, než se soudilo a než by se dalo odvodit z laboratorně zjištěných požadavků jednotlivých mikrobů na prostředí. Proměnlivost komunit bývá často tak vysoká, že je těžké ji vysvětlit jen variabilitou prostředí.

Aby toho nebylo málo, genetické studie pravidelně přinášejí důkazy, že existují celé rozsáhlé nepopsané skupiny. Ještě před 10–15 lety platilo, že pokud se člověk chtěl stát nálezcem nové skupiny prokaryot, stačilo, aby doma třeba při okopávání záhonu vzal trochu půdy, izoloval z ní DNA a osekvenoval několik desítek až stovek kopií genu pro ribozomální RNA. Nález alespoň nějaké dosud nesequenované skupiny vyšší taxonomické úrovně než rod byl vysoce pravděpodobný. Pouhá sekvenace nedovolila tuto skupinu blíže charakterizovat nebo vědecky popsat, ale pro autentický pocit objevitele stačila. Dnes průzkum diverzity postoupil tak, že podobné prvozářky už nejsou tak běžné, ale stále k nim dochází.

Velký strom malých bakterií

Jeden z posledních velkých „zářezů“ na téma nacházení nových skupin se podařilo členům týmu významné americké mikro-

bioložky Jillian Banfieldové (Luef a kol. 2015). Využili drobné změny v postupu izolace DNA z podzemní vody, kde jsou mikroorganismy často v nízké koncentraci. Na jejich zachycení běžně slouží filtr s otvory 0,2 μm . Podobné filtry používají cestovatelé pro sterilizaci vody k pití. Zmínění badatelé ale za standardní filtr připojili další s porozitou jen 0,1 μm . Na něm se zachytily různé velmi malé bakterie. I když částečně patřily do skupin, o jejichž existenci vědci věděli, celkově se ze 33 vzorků z jednoho vrtnu podařilo osekvenovat 2 540 téměř úplných genomů (neskutečná práce!) a popsat 47 nových skupin na úrovni kmene (phylum, nikoli laboratorní „kmen“; Anantharaman a kol. 2016). To není málo vzhledem k tomu, že do té doby bylo známo něco přes 70 kmenů (a např. v r. 1998 to bylo jen 36). Dřívější malé a málo prozkoumané kmeny *Microgenomates* a *Parcubacteria* se naráz změnila na superskupiny obsahující dnes již 56 kmenů. Další analýzy taxonomickou váhu těchto superskupin zpochybňují a tvrdí, že tvoří spolu s další skupinou *Gracilibacteria* jediný bohatý kmen *Patescibacteria* (Parks a kol. 2018). Bez ohledu na přesné hodnocení však nové skupiny představují přes 15 % diverzity v doméně *Bacteria*.

Drtivá většina nových kmenů nemá kultivovatelné zástupce, jsou to vlastně „duchové“ známí jen podle sekvencí. Přesto o nich ledacos víme. Pomohly k tomu ony tisíce částečných až téměř úplných genomů. Díky nim jsme se dozvěděli, jakou enzymovou výbavu tyto bakterie mají, a lze odvodit jejich metabolismus i přibližnou funkci v ekosystému. Některé zástupce se také podařilo pozorovat v mikroskopu. Zde je však problém, že není vždy možné spojit si určitou buňku se správným genomem. Analýza genomů ukázala, že velká část nových kmenů jsou symbionti včetně parazitů, kteří nemají úplný vlastní metabolismus a závisí na dodávce některých látek z jiných mikroorganismů. U vzácných kultivovatelných zástupců z kmene *Saccharibacteria* máme potvrzeno i experimentálně, že parazitují na aktinobakteriích. To by vysvětlovalo diverzitu nových skupin, způsobenou úzkou specializací na různé hostitele. Něco podobného existuje třeba u parazitického hmyzu.

Jakou část prokaryotické diverzity tedy dnes známe? Celkový počet prokaryotických druhů rozlišitelných metodou DNA barcodingu se nyní na základě dat z velkého počtu studií odhaduje zhruba na 10 milionů. Množství klasicky definovaných (viz dále) druhů, které byly kultivovány a popsány, dosahuje okolo 14 tisíc. Ročně se daří popsat 600–700 nových bakterií. Toto číslo už moc neroste, takže klasičtí mikrobiologové mají zaručený dostatek práce ještě asi na 14 tisíc let.

Kultivovatelná a popsaná prokaryota tedy tvoří mírně přes jedno promile předpokládané biologické rozmanitosti. I kdyby pro diverzitu platil nejnižší a dnes spíše nepravděpodobný odhad, bude to pořád jen procento. Stále ještě můžeme doufat, že už jsme popsali většinu hojných druhů a unikají pouze kuriozity. Současné studie početnosti různých genotypů v reálných vzorcích však berou i tuto naději. I když tým J. Banfieldové měl při objevu 47 kmenů

z jednoho vrtu kromě dobré metody i šťastnou ruku, zástupci nových kmenů vzácní nejsou. Odhad zaměřený na širokou škálu prostředí říká, že ze všech existujících prokaryotických jedinců jich 81 % patří do rodů a 25 % do kmenů bez jediného kultivovaného zástupce (Lloyd a kol. 2018). O druhích je obtížné hovořit, ale zjednodušeně můžeme říct, že do kultivovatelných druhů jistě nepatří víc než několik málo procent existujících mikrobiálních buněk. Nekultivovatelné skupiny dominují ve všech zkoumaných prostředích kromě lidského těla. Uvedená čísla však platí jen v hypotetickém případě, že byly použity všechny známé kultivační postupy zároveň. Při reálné analýze vzorku, kdy lze použít omezenou sadu médií a několik kombinací podmínek, bude podíl zdárně rostoucích mikrobu samozřejmě nižší.

Chceme-li tedy porozumět mikroorganismům kolem nás, mohou pomoci jediné velkokapacitní studie zaměřené na DNA. Kultivační mikrobiologii vděčíme za mnoho základních informací o funkcích a vlastnostech bakteriální buňky. Právě díky těmto informacím dovedeme odvodit řadu vlastností konkrétní bakterie i z holého genomu. Efektivita sekvenace DNA i sestavování genomů ze směsných přírodních vzorků stále roste. Velká část postupu navíc jde nebo v budoucnu nejspíš půjde automatizovat. Je naděje, že charakterizace dosud nepopsaných mikrobu díky tomu potrvá o hodně kratší dobu než zmíněná tisíciletí. Při rutinní analýze mikrobiálních společenstev dokážeme některé vlastnosti neznámých mikroorganismů odvodit i z pouhého genu pro 16S rRNA. Stačí, aby stejná bakterie byla známa z většího počtu studií. Z informace, kde všude byla nalezena, lze odvodit, jaká stanoviště preferuje. Její dohledání je snadné, neboť sekvence pocházející z publikovaných výzkumů se ukládají do volně přístupné mezinárodní databáze, umožňující velmi rychlé vyhledávání.

Zrádný prokaryotický genom

O diverzitě mikroorganismů jsme zatím hovořili s bezstarostností, která zakrývala další otevřený problém. Nevíme, zda prokaryota mají něco jako druhy. Rozmnožují se nepohlavně, takže na ně nelze použít klasickou definici biologického druhu jakožto souboru jedinců, kteří se mezi sebou bez omezení kříží. Mikrobiologové proto již dávno rezignovali a zavedli dělení prokaryot podle vzájemné podobnosti, odborně zvané polyfázická taxonomie. Pro praktické využití to stačilo. Dalším „hřebíkem do rakve“ mikrobiálních druhů byl objev horizontálního přenosu DNA (HGT – Horizontal Gene Transfer). Ten je u prokaryot znám už delší dobu (viz také Živa 2006, 1–6), ale v předgenomickém období jsme nevěděli, jak je častý (např. Živa 2018, 3: 117–120). Učebnice proto ještě celkem nedávno obsahovaly jmenné seznamy rodů bakterií schopných HGT. Pak se ukázalo, že se může vyskytnout u všech skupin organismů, vnitrodruhově i mezi libovolně vzdálenými druhy, a prokaryota HGT provozují zcela běžně. Mikrobiální genom začal být chápán jako cosi vágního a víceméně dočasného, jako seskupení genů, které zrovna měly to štěstí, že vytvořily funkční buňku. Některé geny sice nemohou z cel-

ku kdykoli odejít, ale všechny se mohou nechat kdykoli nahradit.

Přibývající počet známých přečtených genomů přiměl vědce poopravit i tento názor. Ukázalo se, že lze rozlišit jádrovou část genomu – u daného mikroba vždy přítomnou, a další geny, které tam být mohou, ale nemusí. Jádrový genom je poměrně stabilní, i když vždy obsahuje stopy po opakovaných HGT. Fylogenetické stromy vytvořené pro jednotlivé životně důležité geny se sobě většinou podobají (přestože může jít o „technickou“ většinu, třeba 51 %) a odpovídají fylogenezi mikroba, z něž pocházejí. Takovým genům lze věřit, že se dědíly vertikálně (z rodiče na potomka). Na rozdíl od variabilní části genomu, tvořené často geny souvisejícími s proměnlivými strategiemi, adaptací na konkrétní stanoviště nebo zdroj potravy. Pokud mikrob nedokáže např. štěpit sacharid, který má někde k dispozici, obvykle brzy získá gen pro potřebný enzym. Stejně tak mikroorganismy „šmelí“ s geny pro enzymy umožňující oxidovat či redukovat některý ion nebo s geny pro rezistenci proti různým nebezpečím od těžkých kovů přes antibiotika po viry. Prokaryotický genom se tedy dá přirovnat k softwaru např. v chytrém telefonu. Má víceméně pevný operační systém, ale lze si stáhnout aplikace užitečné v určitých podmínkách, a v případě potřeby je zase smazat. Naneštěstí pro prokaryota stahování „aplikací“ u nich probíhá metodou pokusu omyl. Na každou bakterii s vylepšeným genomem připadá mnohem více těch, které při takovém pokusu zahynuly. My však vidíme pouze potomstvo té, jež uspěla.

Vlastnosti bakterií lze rozdělit podle toho, jak snadno se přenášejí pomocí HGT. Rezistence nebo některá metabolická vylepšení se šíří tak lehce, že přítomnost mnohých toxinů ze složení místních mikrobiálních společenstev vůbec nepoznáme. Mikrobi, kteří tam najdou obživu, získali rezistenci. Jiná věc jsou vlastnosti vyžadující strukturní přizpůsobení buňky nebo přizpůsobení či alespoň vyladění mnoha genů zároveň. Typicky adaptace na jinou teplotu – znamená změnu složení membrány a současně velké počtu enzymů, které musejí mít v nové teplotě správnou aktivitu a nesmějí se denaturovat ani zatuhnout. Podobného charakteru je miniaturizace a komplexní adaptace na parazitismus u zástupců nově objevených kmenů, o nichž jsme psali výše. Dalším příkladem je schopnost tvorby mycelia u aktinobakterií. Takové vlastnosti bývají často společné pro celý kmen nebo jeho velkou část.

Vzácně se horizontálně přenášejí i komplexní vlastnosti. Jeden z nejzajímavějších případů známe u archeí s krycím názvem *Halobacterium*. Jde o převážně aerobní organismy schopné fotosyntézy, které žijí v extrémně slaných roztocích, jako třeba v Mrtvém moři. Kupodivu patří do skupiny archeí produkujících metan, která jsou striktně anaerobní a mají rezervovaný vztah k soli. Jeden z těchto metanogenů kdysi získal naráz komplex několika set bakteriálních genů, jež kódoval mimo jiné celý aparát pro respiraci. Pravděpodobně k tomu došlo díky fúzi buňky metanogena patrně s aktinobakterií, přičemž vzniklý hybrid byl životaschopný. Možná to byla podobná událost, jako když předek eukaryot získal

mitochondrii, pouze v tomto případě po sobě pohlcená bakterie nezanechala žádné morfologické stopy.

Hra o niky

Přibývající informace o mikrobiálních genomech tedy vracejí určitý optimismus, co se týče existence prokaryotických druhů. Přinejmenším jádrové genomy by mohly být dostatečně stabilní, aby druhy mohly tvořit. To ale nestačí, ještě je potřeba pravidelný genový tok zajišťující, že se druh nerozpadne na izolované linie. U člověka se o něj stará pohlavní rozmnožování. V posledním desetiletí přibývá důkazů z různých skupin bakterií i archeí a také od různých vědeckých skupin, že genový tok u prokaryot něco nahrazuje. Tím něčím je téměř jistě horizontální přenos DNA.

Ke zmíněným objevům došlo, když vědci sekvenovali genomy několika izolátů zdánlivě téhož druhu pocházejících z jedné lokality. Při porovnávání genomů se ukázalo, že jsou z velké části skoro shodné, ale některé úseky existují ve dvou i více verzích odlišných ve velkému počtu bodových mutací. To je velmi podivné. Bodové mutace vznikají náhodně a ty z nich, které majitelé nepřinášejí nevýhodu, se v genomu mohou uchovat. U organismů rozmnožujících se pohlavně se nové mutace mohou časem náhodně rozšířit v celé populaci. U přísně nepohlavních organismů bez HGT se šíří jen tak, že potomci jedné buňky vytlačí všechny ostatní. Jakmile se taková buňka rozdělí, každý z potomků vytvoří samostatnou linii, jež se bude ostatním už jen vzdalovat. Libovolní dva jedinci, a to i stejného „druhu“, by se tedy měli lišit podle toho, před kolika generacemi vznikli ze společného předka. Pokud se v prokaryotickém genomu vyskytnou úseky, které jsou u různých jedinců skoro stejné, a zároveň jiné úseky se liší, s tímto modelem nevystačíme. Variabilní úseky dokazují, že se genomy už nějaký čas vyvíjely nezávisle. V tom případě však něco muselo celou dobu zařizovat, aby se většina jejich sekvence stále shodovala!

Nejpravděpodobnější vysvětlení je, že prokaryota si udržují genomy v dobrém stavu pomocí cíle výměny DNA se svými blízkými. Přitom je pro ně dost důležité, aby si omylem nevzala část genomu od mikroba vyznačujícího se jinými vlastnostmi. Vzniklý hybrid by nejspíš neobstál v konkurenci ani jednoho z rodičů. Z toho plyne, že mikrobi mají důvod rozpoznávat jedince, kteří jim jsou dostatečně podobní, aby si s nimi chtěli měnit DNA, od těch příliš odlišných. Prokaryota se tedy dělí na skupiny podobné druhům dobrovolně a ve vlastním zájmu. Díky tomu mohou různé mikroorganismy žít na jednom místě a provozovat HGT bez rizika, že se v sobě geneticky „rozpustí“. Pozorované případy částečně odlišných genomů pak mohou odpovídat právě probíhající speciaci. Různé linie se začaly specializovat na odlišné niky a některé části jejich genomů začaly kódovat stále odlišnější adaptace. Míchat tyto specifické oblasti mezi liniemi bylo nevýhodné, avšak zůstal poměrně velký díl genomu, kde byl stále možný HGT ve stylu hippies. Jakým mechanismem prokaryota HGT tak přesně regulují, nevíme. Stále není vyloučeno, že hybridy vznikají,



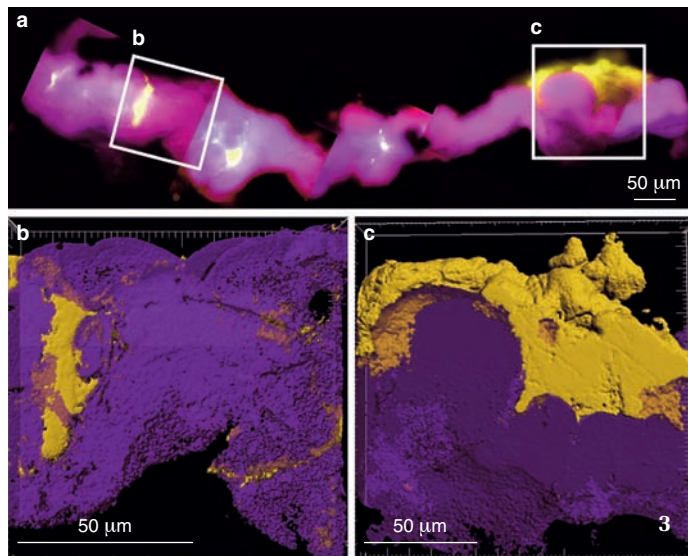
2 Měkké gelovité krápníky tvořené zástupci rodu *Leptospirillum* (Bacteria: Nitrospirae). Tato bakterie je primárním producentem v poměrně komplexním ekosystému, fixuje oxid uhličitý s využitím energie z oxidace železa v prosakující kyselé vodě. Pezinok, Slovensko.

Foto L. Falteisek

3 Trojrozměrná rekonstrukce biofilmu tvořeného dvěma nepatrně odlišnými genotypy bakterie *Leptospirillum* typu II. Genotyp specializovaný na místa s vyšší konkurencí označen žlutě, pionýrský genotyp fialově. Jiné mikroorganismy a houby nejsou zobrazeny. Foto: V. J. Denef a kol. (Proceedings of the National Academy of Sciences 2010, 107.6: 2383–2390), s laskavým svolením

ale rychle hynou. Většina badatelů doufá v něco zajímavějšího.

Rozrůzněné oblasti genomů bohužel obsahují převážně geny, jejichž funkci neznáme. Linie mající částečnou genetickou bariéru se přesto svými vlastnostmi měřitelně liší. Asi nejkrásnější známý případ se týká bakterie rodu *Leptospirillum* (kmen *Nitrospirae*). Tyto bakterie tvoří mohutné slizké biofilmy na skalách omývaných vodou bohatou na kyselinu sírovou a ionty železa Fe^{2+} , vznikající při oxidaci pyritu (obr. 2). Patří do zlatého fondu neobvyklých mikroorganismů, které lze už skoro 50 let kultivovat. Z biofilmů pocházejících z jednoho opuštěného kalifornského dolu se podařilo izolovat dva genotypy, které by podle tradičních měřítek patřily bezpečně k jednomu druhu, ale byly mírně odlišné v některých úsecích genomu. Oba žily ve stejných biofilmech. Až podrobné studium zobrazovacími metodami schopnými odlišit geneticky různé buňky ukázalo, že biofilm se skládá z domén osídlených téměř čistě jedním nebo druhým typem. Jeden typ dominoval tam, kde biofilm roste, zatímco druhý v plně vyvinutých oblastech (obr. 3). Srovnání řady konkrétních společenstev ukázalo, že se oba typy pravidelně liší v expresi některých genů důležitých pro metabolické dráhy, jako je syntéza vitamínů nebo přeměňování látek, sloužících původně k osmotické ochraně buňky, do energetického metabolismu. Takové rozdíly bychom čekali u linií vyladěných buď na kolonizaci nových míst,



nebo na odolávání konkurentům na silně obsazeném stanovišti. Jde přesně o ten typ komplexního vyladění, které nelze předat několika geny a u kterého je mezityp znevýhodněn oproti krajním případům.

Zdá se, že prokaryota nejen mají dobrý důvod tvořit druhy, ale že tyto druhy nejsou definovány jen metabolickými schopnostmi a někdy ani vztahem k makroskopickým (a dobře měřitelným) faktorům prostředí, jako je teplota nebo pH, ale spíše strategií, jak konkurovat podobným organismům. Tato strategie zahrnuje např. soustředění zdrojů na růst, nebo naopak na odolnost nebo schopnost hladovět. To nápadně připomíná evoluční souboje komplexních eukaryotických organismů, rozhodně víc, než jsme kdy u prokaryot předpokládali. Při úvahách o prokaryotech musíme tedy důsledně zohlednit, že velká část jejich evoluce nespočívá v hledání způsobů, jak odolávat abiotickým nástrahám prostředí, ale v ladění strategií, jak se nejlépe prosadit v existující mikrobiální komunitě.

Univerzální definice biologického druhu

Od biologických druhů především očekáváme, že jejich zástupci budou aktivně udržovat vysokou míru vnitrodruhové podobnosti svých jádrových genomů. Co je důležité, nikde není řečeno, jaká ta míra musí být. V podstatě ani není nutné, aby procentuální odlišnost genomů v rámci druhu byla výrazně menší než mezi příbuznými druhy. Musí však být prokazatelné, že se náhodně vznikající mutace pravidelně šíří, aniž by potomstvo jednoho jedince vytlačilo potomky (a genetickou stopu) všech ostatních členů populace.

Tím se biologické druhy zásadně liší od „pragmatických druhů“ v duchu polyfázické taxonomie, což je většina platně popsaných prokaryot. Polyfázická taxonomie sice dokázala přijmout do svého stále delšího seznamu podmínek pro uznání druhu i výsledky moderních metod, čímž budí dojem, že není zastaralá, ale její základní idea zastaralá je. Stále totiž definuje druhy podle dohodnuté konstantní míry podobnosti v určité sadě znaků, bez možnosti reagovat na jejich přirozenou proměnlivost.

Dělení prokaryot do biologických druhů ale zatím naráží na praktické potíže. Z definice plyne, že bychom museli analyzovat ne jeden genom z každého druhu, ale desít-

ky genomů, aby se podařilo dokázat, že probíhá vnitrodruhový tok DNA. Z většiny prokaryot zatím taková data nemáme, nemluvě o výpočetní náročnosti testu. První výsledky ale ukazují, že důsledné uplatnění biologických druhů systémem prokaryot asi docela zamíchá. Revize 91 dobře známých polyfázických druhů ukázala, že 23 z nich ve skutečnosti odpovídalo více než jednomu biologickému druhu (Bobay a Ochman 2017). To není málo, ale dalo by se čekat i víc. Použitá metoda však měla omezené možnosti. Byla sice vysoce citlivá na to, když se mezi genomy pravidelně komunikující pomocí HGT přidá jeden či několik málo genomů geneticky izolovaných, a to bez ohledu na celkovou míru odlišnosti, ale nedokázala odhalit směs, kde by genomy dvou druhů byly v poměru 1 : 1. Kromě toho autoři hledali pouze případy, kdy se pod jedním názvem skrývalo více druhů. Opačnou situaci, kdy jeden druh dostal více jmen na základě povrchních odlišností, neřešili. Tento typ omylu je přitom běžný, zejména u technicky významných rodů, jako *Pseudomonas* nebo *Streptomyces*. V nich bývají nové druhy často popisovány na základě schopnosti syntetizovat určité antibiotikum, růstu na konkrétním substrátu, dokonce podle přítomnosti fluorescence. Jde o typické snadno přenositelné vlastnosti, průmyslově zajímavé a divácky atraktivní, ale nemusejí být důvodem ke genetické izolaci svých nositelů.

Je velice pravděpodobné, že časem vznikne dostatečně bohatá mezinárodní genomická databáze pokrývající všechny běžnější druhy prokaryot. S její pomocí se stane úkol převést polyfázické druhy na biologické rutinním. Pak bude možné u nových genomů ihned určit, zda patří do známého druhu nebo ne. To bude pokrok dovolující účinně odlišit přizpůsobivost a evoluci prokaryotických genomů. Bude možné nejen přesněji rozlišit snadno a obtížně přenosné vlastnosti, ale i mnohem lépe pochopit zákonitosti, jak prokaryota reagují na prostředí a podle čeho si v něm rozdělují niku. A hlavně, náhrada pohlavního rozmnožování za genový tok umožní formulovat skutečně univerzální definici biologického druhu, použitelnou pro všechny buněčný život.

Citovaná literatura uvedena na webu Živý.