

Sodalis – bakterie na pomezí

Od jejího popsání v r. 1999 bylo bakterii z rodu *Sodalis* věnováno hodně výzkumu. Může za to nevšední prostředí, které obývá – donedávna jsme ji nacházeli jen jako striktního symbionta hmyzu. Uvnitř hmyzího těla se specializovala na vykonávání několika funkcí a ty nepotřebné u ní zanikly, což se projevilo např. redukováním genomem. Od r. 2012 jsou však tyto bakterie nalézány také jako volně žijící v půdě nebo v rostlinných pletivech. Jak vypadá u volně žijících zástupců rodu genová výbava a co nám může prozradit o evoluci celé dnes již bakteriální skupiny?

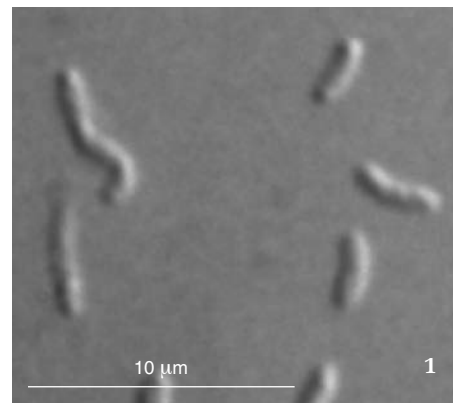
Rod *Sodalis* z řádu *Enterobacterales* byl popsán v r. 1999 a od té doby bylo zveřejněno nejméně 19 genomů tohoto rodu. Bakterie *Sodalis* (obr. 1–3, z latinského *sodalis* – společník) známe jako striktního endosymbionta několika hmyzích řádů, jimiž jsou brouci (Coleoptera), polokřídílí (Hemiptera), blanokřídílí (Hymenoptera), pisivky (Psocoptera) a dvoukřídílí (Diptera). Jednotliví symbiotičtí zástupci rodu *Sodalis* jsou úzce zaměřeni na své hostitele. K hostitelům z řádu dvoukřídílí patří např. nechvalně známé mouchy tse-tse neboli bodavky, někdy nazývané glosíny (*Glossina* spp., obr. 4). Jejich fakultativním, tedy někdy se vyskytujícím, symbiontem je *S. glossinidius*. Pro bodavku jde již o čtvrtého popsáného bakteriálního společníka – v jejích tkáních se nachází také obligátní mutualistická (nutná pro vývoj) *Wigglesworthia*, dále mutualistická *Spiroplasma* a asi nejznámější parazitická *Wolbachia*. Dvoukřídílí a jiní hostitelé *Sodalis* jsou potravně velice specializovaní a živí se mimo jiné krví, šťávami z rostlin nebo zrny rýže a kukuřice. Intracelulárně žijící bakterie syntetizuje hostiteli esenciální vitamíny nebo aminokyseliny, které jsou potřebné např. pro tvorbu kutikuly u nosatců (obr. 5). Tyto složky v úzce zaměřené potravě hostitele jinak chybějí. Symbiont *Sodalis* se proto stal modelovým organismem pro studium vzniku symbiózy mezi bakteriemi a hmyzem (bližší v Živě 2018, 3: 117–120 a LXXIII–LXXIV, v článkách Filipa Husníka, kterému patří poděkování i za poznámky k tomuto textu) a vše nasvědčuje tomu, že jejich vztah je evolučně mladý, bližší představu o době jeho vzniku však zatím nemáme.

Genom symbiontů *Sodalis* je malý, obsahuje méně než 1 až 4,5 milionu párů bází, a velmi degenerovaný. Proč degenerovaný? Pro komplexní život ve volném prostředí je třeba sofistikovaná genová výbava, to ale neplatí v dobře predikovatelném a relativně stabilním prostředí uvnitř buněk. V důsledku přizpůsobení se životu v hmyzích buňkách byla funkce mnoha genů zbytečná a zafixovaly se v nich mutace, znemožňující původní funkci genu. Genom symbiontů z rodu *Sodalis* obsa-

huje takových nefunkčních pseudogenů i více než 50 %.

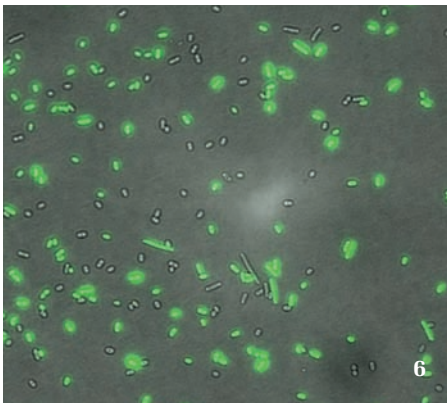
Použití zástupců rodu *Sodalis* jako bakteriálních modelů je výhodné vzhledem k relativně snadné manipulaci. Je např. možné kultivovat *in vitro* kulturu buněk hmyzu infikovanou touto bakterií a interakci mezi bakterií a buňkami lze tedy dobře studovat na molekulární úrovni. V případě kultivovaných bakteriálních izolátů můžeme také experimentovat s „vypínáním“ genů a se značením enzymů, sledovat jejich lokalizaci v rámci buněk, infikovat nové hostitele apod.

Co se týče přenosu této bakterie, tak kromě vertikálního z hostitelé hmyzí matky na potomky (označovaného jako maternální) byl prokázán i přenos z infikované samce na samici během páření a následně na potomky samice, což je v literatuře považováno za typ paternálního předání. Endosymbiotická *Sodalis* se vyskytuje uvnitř buněk bakteriomu – specializovaného útvaru v těle hmyzu (obr. 2 a 3). Studován je i mechanismus průniku *Sodalis* do buněk hostitele, ve které se uplatňuje sekreční systém 3 (zkracován jako T3SS nebo TTSS). Jde o proteinovou strukturu podobnou jehle, která má nejspíše původ v bakteriálním bičku. Pomocí této jehly bakterie vpravuje do hostitelé buňky efektorové molekuly – toxiny a látky pro manipulaci s hostitelé buňkou. T3SS má rovněž význam při nálezích lidí jinými bakteriálními patogeny, jako jsou enterobakterie *Shigella* nebo *Salmonella*, kdy se opět uplatňuje jeho tvar jehly. V dalších experimentech se během pokusů s bodavkami podařilo hostitele, kteří byli vyléčení z nákazy bakterií *Sodalis*, znovu infikovat pro hostitele nepůvodní populací *Sodalis*. Taková reinfekce, např. geneticky upravenými bakteriemi, otevírá dveře biologickému boji s bodavkou jako přenašečem patogenních trypanozom *Trypanosoma brucei* – původců spavé nemoci. Geneticky upravená *S. glossinidius* by mohla vylučovat efektorové molekuly proti trypanozomám, mohla by být pro bodavku letální nebo by omezovala možnost její reprodukce. K úspěšnému nasazení této techniky v terénních podmínkách Afriky je ale potřeba dalšího výzkumu.



1 až 3 Morfologie a struktura bakterie *Candidatus Sodalis melophagi* (*Candidatus* – nebyla kultivována v čisté kultuře). Byla nalezena jako symbiont kloše ovčího (*Melophagus ovinus*) z řádu dvoukřídílí (Diptera) a popsána českým týmem vědců v r. 2012. Jde o bakterii v raném/středním stadiu přechodu k symbióze, což autoři doložili její schopností žít v buněčné kultuře hmyzu i v bezbuněčném médiu. Může představovat další článek v evolučním řetězci přechodu bakterií od volně žijících zástupců k hmyzím symbiontům. Genom této bakterie obsahuje geny sekrečního systému 3 a lze se domnívat, že podle nich syntetizované proteiny přispívají k průniku bakterie do tkání hostitele. Kloš ovčí obsahuje kromě *C. S. melophagi* i bakteriálního symbionta z rodu *Arsenophonus*. *In vitro* kultura buněk (obr. 1, Nomarského kontrast) a *C. S. melophagi* v bakteriomu – hmyzím orgánu, v němž se nacházejí bakterie (2 a 3). Zelené šipky – buňky *C. S. melophagi*, bílé šipky – buňky *Arsenophonus*. Foto F. Husník, převzato z T. Chrudimský a kol. (PLoS ONE 2012, 7.7: e40354) v souladu s podmínkami použití

4 Samice mouchy tse-tse (*Glossina* sp.). U tohoto hmyzího modelu jsou popsány



bakteriální symbionti ze čtyř rodů: *Sodalis*, *Spiroplasma*, *Wigglesworthia* a *Wolbachia*. Foto D. Modrý

5 Nosatec pilous rýžový (*Sitophilus oryzae*) se vyvíjí v zrnech rýže. Spolu se svým příbuzným pilousem kukuřičným (*S. zeamais*) je hostitelem bakterie *S. pierantonius*. Foto A. Poledníček

6 Morfologie *S. praecaptivus* ve fluorescenčním mikroskopu. Tento druh byl popsán jako volně žijící zástupce rodu, kterého se náhodně podařilo izolovat r. 2012 v USA ze zanícené lidské tkáně. S laskavým svolením J. McCutcheona

7 Bakterie *Sodalis* byla popsána jako symbiont hmyzu. Izolace volně žijících zástupců ukazuje na její rozšíření také v odumřelém dřevě. Prostředí *S. ligni* – rozkládající se kmen buku lesního (*Fagus sylvatica*), Žofínský prales. Foto V. Tláškal

Nečekaný objev

V r. 2012 byla publikována studie Adama L. Claytona a kol. z Univerzity v Utahu, která rod *Sodalis* doplnila o zajímavého zástupce (Yong 2016). Druh popsán jako *S. praecaptivus* byl izolován z cysty vytvořené v tkáni poraněné lidské ruky. Poranění způsobila suchá větev jabloně, když dotýčný muž pracoval na zahradě ve státě Indiana v USA. Vlastnosti této bakterie a její původ nasvědčují tomu, že *S. praecaptivus* představuje volně žijícího zástupce tohoto rodu (obr. 6). Má větší genom (více než pět milionů párů bází) a více genů, které si zachovaly funkci. Podobně jako *S. praecaptivus* mohl vypadat i předchůdce hmyzích symbiontů. Objev druhu odstartoval řadu experimentů v několika vědeckých skupinách zabývajících se evolucí symbiózy hmyzu a bakterií. I přes absenci symbiózy může *S. praecaptivus* způsobit perzistentní (dlouhodobě přetrvávající) infekci v nosatci pilousoví kukuřičném (*Sitophilus zeamais*) a v bodav-

kách. Je zajímavé, že tento druh je schopen potlačovat vlastní virulenci mechanismem quorum sensing (komunikace bakterií prostřednictvím signálních molekul, které koordinují genovou expresi a regulují procesy v buňce, viz dále). Při vysokých hustotách bakteriálních buněk uvnitř hmyzího těla začne *Sodalis* produkovat signální molekuly, konkrétně N-(3-oxohexanoyl) homoserin laktón, které inhibují tvorbu toxinů. Toxiny jsou potřeba pouze na počátku infekce, při delší produkci by hostitele zabily. Tento mechanismus může hrát roli v evoluci vzniku symbiózy.

Ukazuje se, že druh *S. praecaptivus* není jediným zástupcem rodu žijícím volně, mimo hmyzí hostitele. Vědci z Univerzity v Massachusetts později zveřejnili v sekvenčních databázích genom izolátu *Sodalis* 159R, tato bakterie je taktéž volně žijící. Prostředí, kde se *Sodalis* volně vyskytuje, nejsou ale dostatečně prostudována. Výzkum prováděný v Mikrobiologickém ústavu AV ČR v Praze zaměřený na mikroorganismy asociované s odumřelým dřevem v přirozených lesích, např. v Žofínském pralesu, umožnil určit bakterie v rozkládajících se kmenech buku lesního (*Fagus sylvatica*), smrku ztepilého (*Picea abies*) a jedle bělokoré (*Abies alba*). Vedle jiných zajímavých bakteriálních skupin vystupoval v sekvenčních datech i rod *Sodalis* jako jedna z dominantních bakterií ve dřevě (obr. 7). Následná kultivace bakterií ze vzorků dřeva ze Žofínského pralesa skutečně poskytla dva izoláty patřící k rodu *Sodalis* (Tláškal a kol. 2021). *Sodalis* tedy dokáže žít i ve dřevě, zmíněná kultivace *S. praecaptivus* v USA z ruky poraněné větví tomu odpovídá. Genetická informace izolátů ukazuje, že jde o blízké příbuzné

k *Sodalis* 159R a *S. praecaptivus*. Kultivovaný zástupce ze dřeva s kompletním přečteným genomem dostal jméno *S. ligni*. Pro potvrzení absence jeho symbiózy s dřevokazným hmyzem byl izolát úspěšně kultivován v médiu s rozemletým dřevem jako zdrojem živin, po živém hmyzu v tomto médiu nebylo ani památky. Analýza společenstev bakterií v dalších vzorcích dřeva celkem očekávaně ukazuje, že tento rod bakterií není omezen na Žofínský prales (a tamní smrk, buk a jedle), ale vyskytuje se v různých lesích Evropy a celého světa. Dále se ho podařilo identifikovat ve veřejných sekvenčních datech např. z břízy bělokoré (*Betula pendula*), topolu osiky (*Populus tremula*) i kříženců (*Populus* spp.) a habru obecného (*Carpinus betulus*). Jeho zastoupení v odumřelém dřevě je vyšší než v okolní lesní půdě, *S. ligni* se tedy hojně a přednostně vyskytuje v rozkládajícím se dřevě a není přímo navázána na hmyzí hostitele.

Genová výbava *S. ligni* odpovídá životu ve volném prostředí. V takovém prostředí působí množství vlivů, a je tak méně predikovatelné než podmínky v hmyzím hostiteli. V porovnání s hmyzími symbionty má proto větší genom – 6,4 milionu párů bází. Obsahuje až dvakrát více genů, přičemž geny vyskytující se v genomu *S. ligni* (nikoli v genomech symbiotických zástupců rodu), slouží k využití zdrojů uhlíku a k metabolismu aminokyselin. V porovnání se zdroji živin v hostiteli jsou živiny ve dřevě různorodé, jejich zpracování si tak žádá diverzifikovanější genovou výbavu. U *S. ligni* je zároveň silněji regulovaná transkripce, tedy prepis genů do RNA, což souvisí s potřebou sofistikovanější regulovat produkci enzymů v prostředí, kde se mění teplota, obsah vody, pH apod.

Přítomnost genů pro rozklad zdrojů uhlíku, jako jsou celulóza, hemicelulózy a chitin, ukazuje na značný ekologický význam *S. ligni* pro rozklad dřeva (alespoň částečný). Zajímavou vlastností s potenciálně vysokým vlivem i na další mikroorganismy v okolí je schopnost fixovat vzdušný dusík jeho redukcí na amonné ionty pomocí enzymu nitrogenázy. Tím se klíčový a ve dřevě chybějící biogenní dusík stává dostupným pro biologické systémy. Pokud je takových fixátorů ve dřevě hodně, mohou zvyšovat obsah dusíku a tím usnadňovat kolonizaci dalším bakteriím a houbám. Hmyzí symbionti z rodu *Sodalis* nemají, na rozdíl od volně žijících druhů, genovou výbavu k fixaci dusíku. Nejspíše byla ztracena během redukce jejich genomu.

Evoluční otázky

Na rodu *Sodalis* můžeme pozorovat evoluci a proces vzniku symbiomy takřka v přímém přenosu. Na jedné straně existují striktní symbionti hmyzu s degenerovaným genomem, adaptovaní na vnitřní prostředí hostitele. Na straně druhé jsou volně žijící zástupci plně přizpůsobeni k existenci ve složitém prostředí, která provádějí komplexní metabolické reakce. Někteří z volně žijících zástupců jsou i přesto schopni kolonizovat hmyzí tělo. Analýza mutací u volně žijící *S. praecaptivus* a nejbližšího hmyzího symbionta *S. pierantonius* naznačuje, že se tyto taxony v evoluci oddělily teprve



8 Asijská ploštice štítovka *Cantao ocellatus* jako další hostitel bakterie rodu *Sodalis*. Ploštice získává potravu sáním rostlinných šťáv. Foto V. R. Vinayaraj, převzato z Wikimedia Commons v souladu s podmínkami použití

před 28 tisíci let. Zda je *S. praecaptivus* či *S. ligni* spojovacím článkem mezi symbionty a volně žijícími druhy, není jisté. Nabízejí se další otázky, které mohou být zodpovězeny pomocí nových získaných genomů nebo hlubší analýzou výskytu *Sodalis* v prostředí. Jak např. probíhalo prvotní setkávání s budoucím hostitelem, průnik do jeho těla a postupná adaptace?

Sodalis lze najít ve stěvě dřevokazného hmyzu, což by mohlo poukazovat na cestu, kterou se symbionti dostávali do organismu. Proces vzniku symbiomy prostřednictvím adaptace volně žijících druhů (třeba ze dřeva) se dá dobře představit u ploštic sajících rostlinné šťávy, jako je asijská štítovka *Cantao ocellatus* (obr. 8), u které byl rod *Sodalis* rovněž zjištěn. Navíc existují indicie, že zástupci tohoto rodu mohou fungovat i jako rostlinný patogen. U těchto patogenů je adaptace na hmyz představitelná – některé příbuzné bakteriální rody známe z rostlinných pletiv i hmyzích tkání. Předkové *S. glossinidius* z bodavek se zase mohli setkávat s budoucím hostitelem v půdě, v níž se kuklí larvy bodavek. Je dřevu hlavním prostředím, kde se volně žijící bakterie *Sodalis* vyskytuje, nebo existuje pestřejší ekologické rozšíření druhů, které jsou na různé úrovni přechodu k symbióze? Nabízí se i otázka, zda je tato bakterie schopná stát se lidským oportunním patogenem, jak to známe od jiných enterobakterií. Tomu by napovídala náhodný objev v poškozené lidské tkáni. Taxonomie rodu není dořešena a v nejbližší době nejspíše dozná změny. Evoluční cesty, kterými kráčí *Sodalis*, ještě zdaleka nemáme zmapovány.

Výzkum byl podpořen Grantovou agenturou ČR (21-09334I).

Použitá literatura je na webu Živý.

Martin Bouda

Sítové uspořádání cévní soustavy a hydrodynamický provoz rostlin napříč strukturními úrovněmi

Cím jsou rostliny větší, tím více k úspěšnému zásobení svého těla vodou potřebují účinnou a spolehlivou cévní soustavu. Vlastnosti takového systému musejí být koordinovány na různých úrovních – od jednotlivých buněk až po celé rostliny. Organizace cévní soustavy, tedy sítě vodivých pletiv rozvádějících vodu s rozpuštěnými látkami skrz tělo cévnaté rostliny, zprostředkovává propojení hydrodynamických vlastností jednotlivých částí do fungování celku. Funkce jednotlivých složek je zároveň ovlivněna jejich propojením s okolními sítovými prvky. Interakce mezi hydrodynamickým odporem jediné dutiny cévy nebo cévice (lumen) a její zapojení do sítě odporů systému, mezi anatomii jednotlivých orgánů a celkovou architekturou či růstovou formou rostliny, nebo mezi komplexitou cévního svazku a odolností rostliny vůči suchu ukazují, jak důležitou roli hrají sítové vlastnosti cévní soustavy v evoluci rostlin.

Rostliny spotřebovávají pro růst značné množství vody. Kromě toho, že voda tvoří většinu čerstvé hmoty jejich těla, ztrácí vodu do atmosféry výměnou za příjem uhlíku při fotosyntéze. Intenzita výparu

z fotosyntetizujících orgánů (transpirace) je taková, že jedna molekula oxidu uhličitého stojí rostlinu přibližně 400 molekul vody. Aby dokázaly nahradit toto neustálé vysychání, musejí si zajistit stálý přísun

vody k povrchům, kde dochází k odpařování. Protože celková rychlost transpirace roste s fotosyntetickou plochou a celkový hydrodynamický odpor toku vody stoupá s délkou dráhy mezi jejím příjmem a výdejem, problém vysychání narůstá s velikostí rostliny. Větší rostlina je tedy v mnoha ohledech „sušší“.

Cévnatým rostlinám se přesto podařilo při šíření na pevnině zvyšovat svůj vzrůst a stát se dominantní živou formou. Jejich tělo se vyvinulo tak, aby bylo v každém měřítku uzpůsobeno efektivnímu a spolehlivému vnitřnímu hydrodynamickému transportu – od pórů mezi mikrofibrilami buněčných stěn v řádu nanometrů až po metry u stromů. Celkový tvar (obecná morfologie) a uspořádání buněk a pletiv v orgánech (anatomie) cévnatých rostlin jsou založeny na sítových strukturách, které rozvádějí vodu a rozpuštěné látky do celého těla. Transportní síť zahrnuje např. síť dutých vodivých elementů v xylému (vodivém pletivu, jímž protéká voda a minerální živiny zpravidla z kořenů k listům), uspořádání vláken xylému ve stonku, listovou žilnatinu nebo větvenou strukturu stonku i architekturu kořenové soustavy.

U každé jednotlivé struktury můžeme přímo měřit hydrodynamické vlastnosti v příslušném měřítku, abychom porozuměli fungování jednotlivých cév xylému, jednotlivých kořenů nebo celé rostliny. Obtížnější je však zjišťovat, jak se fungování větších celků skládá z vlastností jejich částí, nebo naopak jak fungování jednotlivých prvků ovlivňuje jejich pozice v širším kontextu vodivých struktur – tedy jak fungování částí i celku ovlivňuje sítové uspořádání vodivého pletiva.