

Pavla Bartošová-Sojková, Ivan Fiala

Myxozoa: starobylí paraziti neustále opředeni záhadami

Za poslední století bylo o rybomorkách nasbíráno množství pozoruhodných dat, která se týkají jejich záhadného původu, evoluce, obrovské druhové diverzity nebo jedinečných biologických vlastností. Naivně jsme se proto domnívali, že už nás nejspíš ničím závratným nepřekvapí. Ale to jsme se skutečně pletli. Na začátku tohoto roku bylo odhaleno, že jedna z rybomerek nepotřebuje „dýchat“, což je mezi živočichy unikátní zjištění. Objev byl natolik průlomový, že upoutal pozornost předních zahraničních médií. V tomto článku se dozvíte, co jsou rybomorky zač a proč i nadále zůstávají tajuplnou skupinou parazitů.

Pohled do evoluční historie

Rybomorky neboli výtruseny (Myxozoa) jsou výlučně parazitická skupina mikroskopických organismů, které se na naší planetě objevily s největší pravděpodobností koncem starohor někdy v kryogénu (asi před 600–700 miliony let). V této době se oddělily od svých volně žijících předků žahavců (Cnidaria), kteří zahrnují dobře známé skupiny zejména mořských korálnatců, medúzovců, čtyřhranek, polypovců a kalichovek (obr. 1). Zhruba před 540–640 miliony let, v období ediakaru, začaly rybomorky napadat v té době již existující kroužkovce a mechovky – přešly na parazitický způsob života. V pozdějších obdobích se do jejich životních cyklů včlenili obratlovci (obr. 2), přičemž vůbec nejstarší doložení obratlovčí hostitelé jsou žraloci, rejnoci a chiméry. Postupem času se přidaly kostnaté ryby a další skupiny hostitelů z řad evolučně pokročilejších obratlovců. U nich rybomorky k velkému překvapení dosáhly až po cizopasnictví v některých suchozemských savcích (v rejscích i na území České republiky). Tyto klíčové momenty v životní historii rybomerek vedly k explozím jejich druhového bohatství s obrovskou radiací (rychlým vývojem následovaným speciací – vznikem nových druhů) zaznamenanou přede-

vším u kostnatých ryb a ke koevoluci rybomerek s jejich hostiteli. V důsledku parazitismu rybomorky zjednodušily stavbu těla a změnily své rozměry natolik, že nejsou pozorovatelné pouhým okem. Jejich spory dosahují velikosti jen kolem 10–100 μm a plasmodia (vegetativní stadia) jsou rovněž mikroskopických rozměrů, výjimečně však mohou dosahovat i několika milimetrů. Rybomorky ztratily většinu orgánových soustav přítomných u jejich volně žijících žahavčích předků. Zároveň se u nich ale vyvinuly struktury potřebné pro uchycení na těle hostitele (pólové vlákno uvnitř pólového vaku) a jeho invazi (sporoplazma), vše umístěné uvnitř spory určené k šíření ve vnějším prostředí (obr. 3).

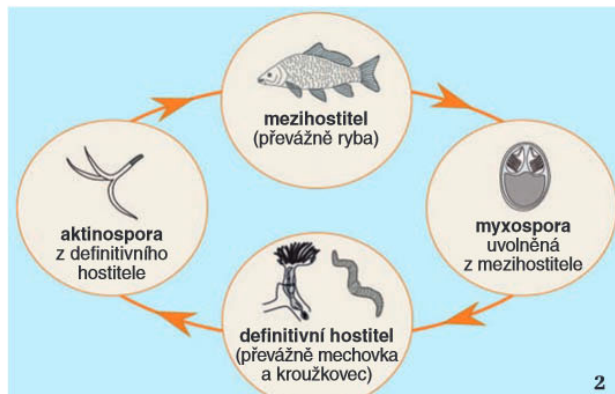
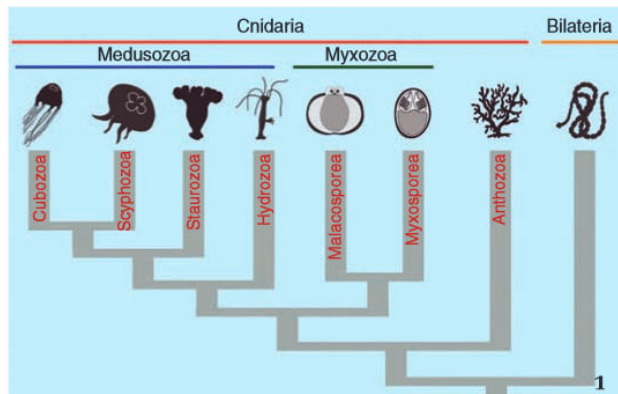
Radiace rybomerek byla natolik úspěšná, že v současné době Myxozoa čítají přes 2 400 druhů (příklady druhové a morfologické rozmanitosti ukazují obr. 4), což představuje zhruba 20 % celkové diverzity žahavců. Jejich životní cykly jsou velice složité, zahrnují dva typy infekčních stadií (myxospory a aktinospory) a dva typy hostitelů (bezobratlí jsou definitivními hostiteli, obratlovci mezihostiteli; obr. 2). Zajímavostí je, že mezi žahavci najdeme minimálně 7 dalších parazitických linií, které ovšem čítají jenom několik málo parazitických druhů. Tyto druhy ve svých

hostitelích na rozdíl od rybomerek cizopasí výhradně v larválním stadiu vývoje, přičemž dospělci jsou volně žijící stejně jako naprostá většina žahavců. Jedním z typických zástupců je bizarní nezmar jeseteří (*Polypodium hydriforme*), který parazituje v jikrách jeseterů a veslonosů, zatímco jeho medúzovité stadium je volně pohyblivé ve sladkovodním prostředí. Rybomorky proto zůstávají jedinou výlučně parazitickou linií žahavců s nepřeberným množstvím druhů lišících se vzhledem svých ornamentálních spor, ale také množstvím biologických vlastností.

Jak si rybomorky našly domov uvnitř živočišné říše

Objevování této skupiny parazitů sahá hluboko do historie a jejich následné taxonomické zařazení bylo protkáno nesčetnými „zapeklitostmi“. Rybomorky byly vůbec poprvé pozorovány před více než 200 lety ve svalovině síha písčinného (*Coregonus fera*) z Ženevského jezera. Je dost pravděpodobné, že tato první zaznamenaná rybomorka již vyhnula i se svým rybím hostitelem, jenž nebyl spatřen od r. 1920. Ze začátku byly rybomorky považovány za jednobuněčné organismy (protista, v té době prvoci) a řazeny zpravidla s hmyzomorkami (mikrosporidii) do společné skupiny Cnidosporidia. Toto seskupení bylo založeno na zjevné podobnosti jejich spor, především infekčním zárodku (sporoplazmě) umístěném uvnitř a vystřelovací trubici, resp. vystřelovacím vlákně. Později se ukázalo, že stavba a vystřelovací mechanismus pólové trubice hmyzomerek a pólového vlákna rybomerek jsou naprosto odlišné a jejich sjednocení nebylo opodstatněné.

Ultrastrukturální studie provedené na konci 19. a v průběhu 20. století naopak odhalily nespočet morfologických znaků, které rybomorky překvapivě sdílejí s mnohobuněčnými organismy (Metazoa). Další zásadní podobnosti byly odhaleny především ve struktuře vystřelovacích zařízení rybomerek a evolučně nejstarší skupiny živočichů – žahavců. Rybomorky ve spoje obsahují pólové vakučky se spirálně stočeným vláknem, které jsou strukturou a složením homologické s žahavými buňkami (nematocytty) žahavců. Příslušnost k mnohobuněčným byla potvrzena prvními molekulárními analýzami založenými na sekvencích genu pro malou ribozomální podjednotku (18S rDNA). Analýzami vycházejícími z uvedeného genu ale nebylo možné



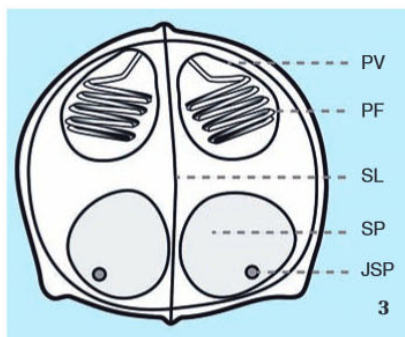
1 Schematické znázornění evoluce žahavců (Cnidaria). Rybomorky (Myxozoa) jsou umístěny na bázi skupiny Medusozoa, jež zahrnuje čtyřhranky (Cubozoa), medúzovce (Scyphozoa), kalichovky (Staurozoa) a polypovce (Hydrozoa). Délka větví v kladogramu není směrodatná.

2 Životní cyklus rybomerek je typický střídáním obratlovceho a bezobratlého hostitele a dvou typů infekčních spor.

3 Struktura infekční spory rybomerek – myxospor. Spora je složená ze dvou (u některých druhů i z více) chlopní, které k sobě přiléhají v místě suturální linie (SL). Uvnitř spory se nacházejí většinou dva (výjimečně jeden nebo více než dva) pólové vláknem (PV) a infekční zárodek – sporoplazma (SP) s jádrem (JSP; jedna dvojaderná nebo větší počet jednojaderných). Po kontaktu s hostitelem se na jeho povrch spora přichytí pomocí vystřelených pólových vláken a uvolněná sporoplazma pronikne do těla hostitele, kde započne komplikovaný vývoj končící vznikem druhého typu spory.

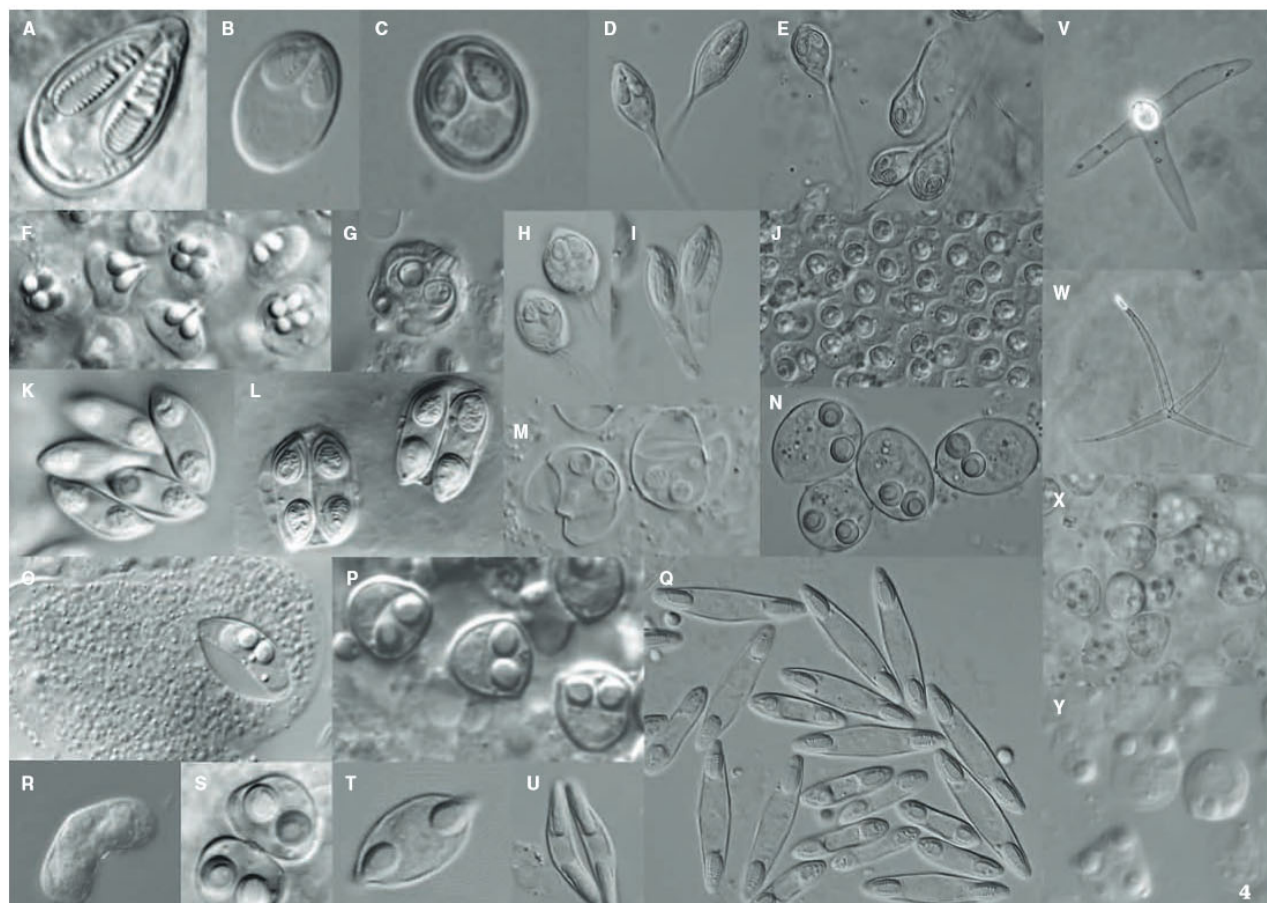
Orig. P. Bartošová-Sojková (obr. 1–3)

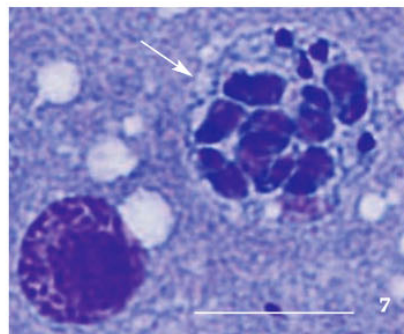
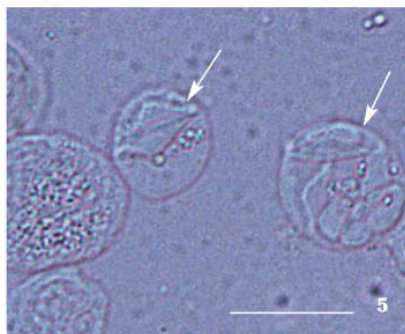
4 Spory myxosporidií – rybomerek ze třídy Myxosporida. Myxosporidy uvolňované z obratlovceho hostitele (A–U), aktinosporidy uvolňované z kroužkoců (V–Y). A – *Myxobolus* sp. z ledvin keříčkovce angolského (*Clarias angolensis*), B – *M. fallax* z varlat žáby rosnice běloreté (*Litoria infrafrenata*),



C – rybomorka pstruží (*M. cerebralis*) z hlavové chrupavky pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*), D – *Henneguya psorospermica* ze žaber štiky obecné (*Esox lucius*), E – *H. salmonicola* ze svaloviny lososa obecného (*Salmo salar*), F – *Kudoa* sp. ze svaloviny čtverzubce skvrnitého (*Tetraodon fluviatilis*), G – *Sphaerospora sparis* z ledvin pražmy královské neboli mořana zlatého (*Sparus aurata*), H – *Chloromyxum leydigii* ze žlučodů žraloka světlouna běloookého (*Centroscymnus coelolepis*), I – *Auerbachia pulchra* ze žlučového měchýře hlubokomořského hlavouna tuponosého (*Coryphaenoides rupestris*), J – plasmodia s vyvíjejícími se spory *Chloromyxum* sp. ze žlučového měchýře jelce tluště (*Squalius cephalus*), K – *Myxidium brienyomyri* a L – *Myxidium* sp. ze žlučového měchýře

M – *Bipteria vetusta* ze žlučodů chiméry podivné (*Chimaera monstrosa*), N – *Sinuolinea lophii* z močového měchýře đasa mořského (*Lophius piscatorius*), O – *Ceratomyxa* sp. ze žlučového měchýře čtverzubce skvrnitého, P – *Ortholinea scatophagi* z močového měchýře kaložrouta skvrnitého (*Scatophagus argus*), Q – *Myxidium coryphaenoideum* ze žlučového měchýře hlubokomořského hlavouna tuponosého, R – *Ceratonova shasta* ze střeva pstruha duhového, S – *Sinuolinea tetraodonii* z ledvin čtverzubce skvrnitého, T – *Myxidium bergense* ze žlučového měchýře okounika modroustého (*Helicolenus dactylopterus*), U – *Sphaeromyxa hellandi* ze žlučového měchýře tresky skvrnitě (*Melanogrammus aeglefinus*). Aktinosporové stadia typů Guyenotia (V) a Triactinomyxon (W) z máloštětnatce nitěnky (*Tubifex* sp.), typu Tetractinomyxon druhu *Ceratonova shasta* (X) a *Parvicapsula minibicornis* (Y) z mnohoštětnatce *Manayunkia occidentalis*. Velikost vyobrazených spor se pohybuje v rozmezí 8–25 μm u myxospor (A–U), 15–40 μm u aktinospor (V, X, Y) a 150 μm u aktinospor typu Triactinomyxon (W). Foto I. Fiala (A–Q, S–U), P. Bartošová-Sojková (R, X, Y) a S. D. Atkinson (V, W)





s jistotou stanovit, zda jsou rybomorky příbuznější žahavcům, nebo evolučně pokročilejší skupinám živočichů s dvoustranně souměrným tělem (trojlistí – Bilateria). Přesvědčivé důkazy v té době neposkytly ani další analýzy, které dokládaly příbuznost rybomork s výše zmiňovaným nezmarom jeseřem a umístění obou sesterských skupin do blízkosti žahavců.

O několik let později vstoupil do hry opomíjený organismus *Buddenbrockia plumatellae*, poprvé pozorovaný již v r. 1850 v tělní dutině sladkovodních mechovok. Jeho taxonomické zařazení bylo dlouhou dobu záhadou, až na počátku 21. století se díky fylogenetické analýze 18S rDNA zjistila jeho příslušnost k rybomorkám (Monteiro a kol. 2002). Tento organismus byl společně se sesterským druhem *Tetracapsuloides bryosalmonae* zařazen do samostatné třídy rybomork s příznačným názvem hlístičky (Malacosporea), a to na základě unikátních morfologických, biologických a molekulárních vlastností, které jsou naprosto odlišné od těch ostatních známých druhů rybomork. Tyto znaky představují „červíkovité“ nebo kulovité „tělo“ uvnitř naplněné měkkými (tedy malaco- z řeckého malakos) sporami, mechovky jako definitivní hostitelé a molekulární seskupování do samostatné linie uvnitř rybomork.

Ani detailní výzkum morfologie a existence omezených molekulárních dat budenbrokie však zprvu nepomohl rozuzlit komplikované postavení rybomork v živočišné říši. V téže analýze, která přiřadila budenbrokii k rybomorkám, byla Myxozoa umístěna do blízkosti trojlistých; tato pozice byla však jen slabě podpořena. Červíček tvarem těla opravdu připomíná háďátko (trojlistí), o čemž svědčí i přítomnost čtyř podélných svazků svalů. Detailnější pohled ale ukazuje, že může zrovna tak být něco jako protáhlá strukturně zjednodušená medúza, jejíž tělo včetně svalových snopců je uspořádáno paprscitě – tetradialně. Na rozdíl od ostatních žahavců jí nicméně chybějí vnitřní orgány a nervová soustava. Po několika letech vnesla světlo do problematiky postavení rybomork přelomová analýza přibližně 50 genů získaných z EST (Expressed Sequenced Tag) knihovny zmiňované budenbrokie (Jiménez-Guri a kol. 2007). Analýzy odhalily, že rybomorky tvoří uvnitř žahavců sesterskou linii ke skupině Medusozoa, která zahrnuje druhy mající v životním cyklu medúzu – tedy všechny skupiny kromě korálnatců (obr. 1). Další přesvědčivé důkazy byly získány při studiu

doloženy studii na jiných druzích rybomork. Myxozoa obsahují ve svých pólových váčcích minikolageny a nematogalektiny, jejichž geny jsou výhradně přítomny u žahavců. Fylogenetické studie založené na uvedených genech obě skupiny živočichů k sobě jednoznačně připojily. Nejnovější genomické a transkriptomické studie, vycházející z široké plejády jaderných a mitochondriálních genů získaných metodou sekvenování nové generace (NGS, masivní paralelní sekvenování), potvrdily výsledky předešlých analýz. Proto nyní můžeme s jistotou říct, že rybomorky jsou vlastně pozmeněné medúzy, které dnes už nebrázdí širošířé vody, ale žijí v tělech živočichů obývajících tato prostředí.

Obrovská diverzita

Drtivá většina rybomork patří do třídy myxosporidií (Myxosporidia), které v rámci svých životních cyklů cizopasí u kroužkovců a obratlovců, převážně u ryb, méně často u obojživelníků, plazů a výjimečně u vodních ptáků a savců. Malacosporea v současné době zahrnují jenom pět popsáných druhů parazitujících u mechovok a ryb. Poslední studie však naznačují, že biodiverzita této evolučně původní skupiny rybomork je mnohem větší, což platí také pro myxosporidie. Vzhledem k tomu, že každý druh kostnaté ryby s velkou pravděpodobností může hostit minimálně jeden druh rybomorky, druhová diverzita myxozoi by v rybách mohla odhadem dosahovat přes 32 tisíc druhů. V důsledku hostitelské specifity např. hostí kaprovité ryby kapr obecný (*Cyprinus carpio*) a karas zlatý (*Carassius auratus*) v ledvinách každá svůj vlastní druh rodu *Sphaerospora*, které jsou si blíže příbuzné. Rovněž jeden druh ryby může být infikován vícero druhy rybomork v různých orgánech a tkáních – např. u kapra obecného bylo zaznamenáno přes 50 druhů rybomork, z nichž mnohé obývají různé orgánové soustavy a tkáně jako následek jejich úzké tkáňové specifity. Nový trend při odhalování biodiverzity v současnosti představuje vedle přetrvávajícího tradičního mikroskopického a modernějšího molekulárního vyšetření hostitelských tkání také environmentální vzorkování DNA organismů přítomných ve vodním prostředí. Tato neinvazivní metoda, založená na detekci spor uvolněných z hostitelů, může být nápomocná pro vytvoření o něco přesnějších představ, kolik druhů rybomork na naší planetě existuje a v jakých typech habitatů se společně s jejich potenciálními hostiteli převážně nacházejí.

Životní cyklus rybomork je poměrně

5 až 7 Presporogonická vývojová stadia rybomorky *Sphaerospora molnari* (šipky) v kapru obecném (*Cyprinus carpio*). Krevní stádium – Nomarského diferenciální interferenční kontrast (obr. 5) a Diff-Quick barvení (varianta Romanovského barvení, které se používá k odlišení buněk při mikroskopickém vyšetření krevních a cytopatologických nátěrů, 6), jaterní stádium (Diff-Quick, 7). Primární buňka uvnitř obsahuje buňky sekundární (5 a 6) a uvnitř sekundárních buněk se tvoří buňky terciární (7). Měřítka odpovídají 10 μm.

Foto P. Bartošová-Sojková (obr. 5 a 7) a A. S. Holzer (6)

8 Makroskopické změny (označené hvězdičkou) na těle ryb (A–G) a obojživelníků (H) napadených rybomorkami. A – proliferativní onemocnění ledvin s jejich charakteristickým zduřením u pstruha duhového způsobené druhem *Tetracapsuloides bryosalmonae*, B – zduřelá varlata a ascites (nahromadění tekutiny) v břišní dutině močáka evropského (*Dicentrarchus labrax*) napadeného druhem *Sphaerospora testicularis*, C – zánět plynového měchyře kapra obecného způsobený druhem *S. dykoveae*, D a F – zduření břicha a análního otvoru pstruha duhového infikovaného *Ceratonova shasta*, E – vrtohlavost pstruhů (blíže v textu) s typickým zčernáním ocasu pstruha duhového postiženého rybomorkou pstruží, G – kožní léze na břiše pstruha duhového napadeného *Myxobolus squamalis*, H – cysty *M. fallax* ve varlatech rosnice běloreté. Foto P. Bartošová-Sojková (A, B, F), A. S. Holzer (C), S. D. Atkinson (D, E, G) a I. Fiala (H)

ho typu do obratlovčího mezihostitele se v něm rybomorky množí a na konci svého vývoje se „uhnízdí“ v cílovém orgánu, kde vytvoří infekční spory (obr. 2 a 3). Typickým a v živočišné říši unikátním tvarem je tzv. buňka v buňce, kdy se sekundární buňky nacházejí uvnitř buňky primární (obr. 5 a 6). V některých případech se vyvíjejí i terciární (obr. 7), a dokonce kvartérní buňky – takový buněčný útvar bývá pro ilustraci přirovnáván ke skládané ruské dřevěné panence matřičce. Spory se dostávají do vnějšího prostředí močí, žlučí nebo rozkladem po úhynu hostitele. Spory myxosporiového typu jsou infekční pro bezobratlého definitivního hostitele, ve kterém se vyvíjejí trochu odlišným způsobem než v obratlovcích, jenž navíc zahrnuje pohlavní rozmnožování. Uvolněné



obratlovce. Zajímavostí je, že aktinosporeová stadia rybmerek byla kdysi považována za zástupce samostatné třídy Actinosporea neboli červomorky (obr. 4V–Y), 10 let po objevu prvního životního cyklu rybmorky (1984) byla třída zrušena. Většina druhů rybmerek je hostitelsky specifická – může dokončit vývoj pouze v jednom nebo v omezené skupině hostitelských druhů. Existují ale i druhy, které napadají široké spektrum rybích hostitelů a jsou rozšířeny po celém světě. Podrobnější přiblížení životního cyklu rybmorky a jiné zajímavé postřehy můžete najít v článku Jiřího Loma, gura české protistologie, dlouhodobě zkoumajícího kromě jiného rybmorky (např. Vesmír 1996, 3: 146 a Živa 2002, 4: 174–177 nebo také 2010, 3: XLI).

Rybmorky parazitují prakticky ve všech tělesných soustavách svých hostitelů, přičemž se zejména liší tím, jestli obývají tkáň (histozoičtí), či dutiny orgánů nebo celého těla (coelozoičtí). U ryb, stejně jako u ostatních skupin obratlovcích hostitelů, je můžeme najít na povrchu těla, především na kůži a žábřácích, ale také ve vnitřních orgánech, zejména v ledvinách, svalech, žlučové a močové měchýři (obr. 8–11). Vývojová stadia některých druhů rodu *Sphaerospora* se navíc mnohonásobně množí v krvi svých hostitelů, kde vytvářejí tzv. krevní pohyblivá stadia (obr. 5 a 6). Červené krvinky hostitele jsou parazitem pravděpodobně konzumovány jako důležitý zdroj energie (Korytář a kol. 2020).

Převážná většina druhů rybmerek hostitelům neškodí. Existují však druhy, které jsou vysoce patogenní a působí obrovské ztráty u volně žijících ryb, a také u druhů chovaných v akvakultuře (obr. 8). Jako příklad můžeme uvést již zmiňovaný patogen lososovitých ryb *Tetracapsuloides*

(*Myxobolus cerebralis*) napadající stejnou skupinu ryb. První druh způsobuje proliferativní onemocnění ledvin, zatímco infekce druhým má za následek zánět hlavové chrupavky, jenž může vyústit v onemocnění nazývané vrtohlavost pstruhů (projevující se mimo jiné abnormálním plaváním a zčernáním ocasu). V severoamerických lososovitých rybách se vyskytuje *Ceratonova shasta*, vyvolávající krvácení a nekrózu stěva napadených ryb. Všechna tato onemocnění mohou vyústit až ve 100% úmrtnost hostitelů, a tak kompletně zdecimovat populace napadených ryb, a to včetně ohrožených druhů. Významným patogenem plůdku kapra obecného na střední Evropě je *Sphaerospora molnari*, jež způsobuje žaberní a kožní sférosporózu, hemolytickou anémii a přispívá k zánětu plynového měchýře. Následkem infekce druhem *S. testicularis*, napadajícím varlata mořčáka evropského (*Dicentrarchus labrax*) ve středomořské akvakultuře, je dokonce parazitická kastrace hostitele. Jiné druhy rybmerek tvoří nevhledných cyst (rody *Myxobolus*, *Henneguya*, *Thelohanellus*) na povrchu a uvnitř těla ryby anebo uvolňováním enzymů a následným zkapalněním svaloviny (rod *Kudoa*) snižují kvalitu a estetickou hodnotu konzumních a okrasných ryb (akvarijních nebo v zahradních jezírkách), které se tak stávají neprodejnými.

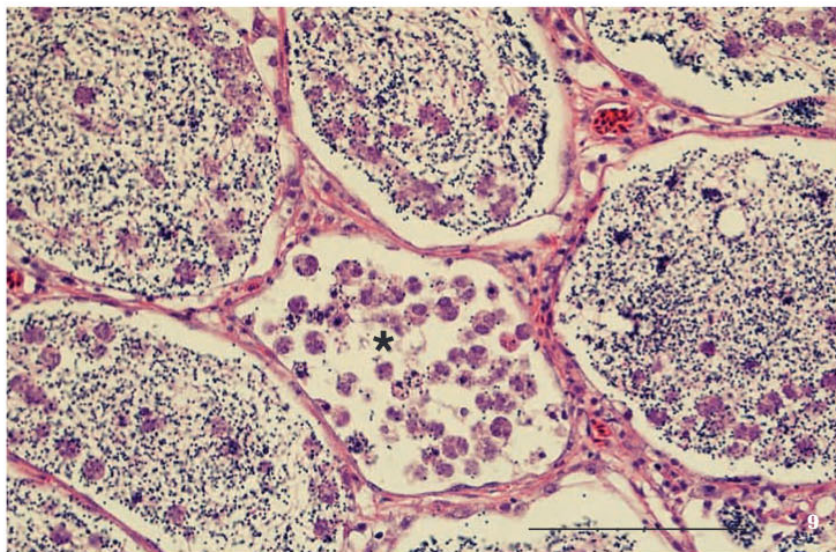
Na našem území představuje chov ryb tradiční a ekonomicky významné zemědělské odvětví. Česká republika je jedním z největších producentů kapra obecného v Evropské unii a čtvrtým největším producentem okrasných a akvarijních ryb na světě. Nemoci ryb zůstávají jedním z hlavních omezení růstu rybního průmyslu nejenom v tuzemsku. Navíc globální změna klimatu má za následek neustálý nárůst

jejich přežívání, rychlejší přenos onemocnění a větší vnímavost hostitele (Sudhagar a kol. 2020). V současné době neexistuje žádná efektivní legální léčba namířená proti rybmorkám u ryb určených pro lidskou konzumaci. Proto se týmy po celém světě snaží najít molekuly/mechanismy, které by mohly představovat potenciální kandidáty pro vývoj a aplikaci nových chemoterapeutických strategií a vůbec prvních rybích vakcín proti těmto molekulám rybmerek.

Zjednodušené, a přece jenom složité

Rybmorky se právem neodborně nazývají „ulítlí“ parazité. V čem ale tkví unikátnost této skupiny? Dosud jsme se zabývali strukturálním a velikostním zjednodušením jejich tělesné stavby a pozměněním původní stavby těla ve prospěch vzniku struktur zejména potřebných k invazi hostitele. Co se ale v důsledku přechodu na parazitický způsob života událo s genetickou informací rybmerek? Geny myxozoi, a to nejen ribozomální, ale i všechny ostatní, se vyvíjely mnohem rychleji (a různým tempem i u blízké příbuzných druhů rybmerek) než geny jejich volně žijících příbuzných. To znamenalo obrovskou akumulaci změn v jejich genetické informaci, což se ve fylogenetických analýzách projevuje dlouhými větvemi náchylnými k tvorbě artefaktů (přitahování dlouhých větví).

Kromě toho došlo v průběhu evoluce ke ztrátě mnoha genů potřebných pro určité metabolické procesy, především pro ty nepostradatelné pro živočichy s komplexnější organizací těla. Jaderné genomy rybmerek jsou jedny z nejkompaktnějších a nejmenších v živočišné říši. Udává se, že rybmorky mají přibližně 15krát menší genomy než běžní volně žijící žahavci. Na druhé straně se u nich objevují unikát-



žahavců a jejichž funkce je dosud neznámá. Nejnovější transkriptomické analýzy navíc ukazují, že produkty některých genů známých u jiných skupin parazitů jsou u rybamorek přítomny v mnohem větším množství (Hartigan a kol. 2020, Yang a kol. 2014). Tato zjištění mohou bezpochyby souviset s parazitismem a s tím spojenou potřebou produkovat molekuly účinné pro udržení a množení se parazita v těle hostitele, např. prostřednictvím boje s jeho imunitním systémem.

Plně funkční mitochondrie, nebo jen prázdné schránky?

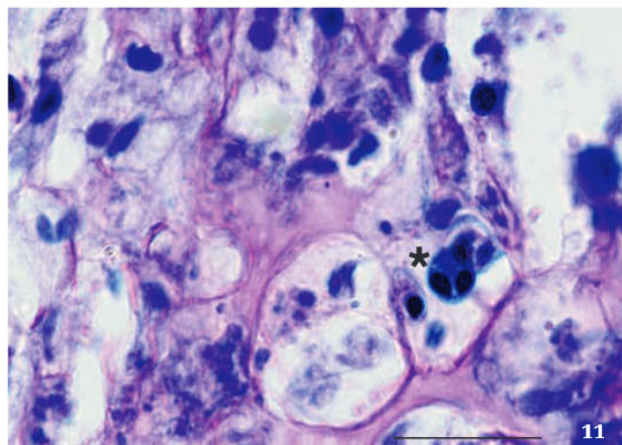
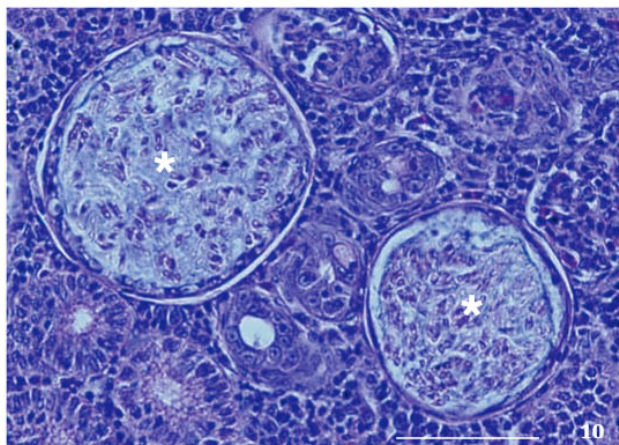
Mitochondrie si můžeme představit jako malé buněčné továrny na energii, které jsou nepostradatelnou součástí téměř všech eukaryotických buněk. Vznikly velmi dávno endosymbiózou alfa-proteobakterie a předka současných eukaryotních organismů. Následně docházelo k přenosu genetického materiálu z této protomitochondrie do jádra hostitelské buňky, čímž se snižoval počet genů, které nyní tvoří genom mitochondrie. Mitochondriální genom eukaryot má různou velikost a složení. Liší se mezi jednobuněčnými organismy, rostlinami a živočichy. Např. u rostlin je velikost genomu až několik set tisíc párů bází, zatímco u živočichů došlo k výrazné redukci na velikost většinou v rozmezí 16 až 17 tisíc párů bází. Žahavci jsou v rámci

živočichů dokonalým ilustrativním případem plasticity mitochondriálního genomu. Během evoluce ztratili téměř všechny transferové RNA (tRNA) a u skupiny Medusozoa se linearizovala původně kruhová molekula DNA. U čtyřhranek (Cubozoa) a nezmara *Hydra magnipapillata* došlo dokonce k fragmentaci genomu na několik lineárních chromozomů. A jak je tomu u rybamorek, prazvláštní parazitické skupiny žahavců? Mitochondriální genom rybamorek byl odhalen teprve nedávno u několika málo zástupců. K jeho poznání bylo třeba využít NGS metod, protože standardní postupy založené na Sangerově sekvenování dlouhých ampliconů mitochondriálního genomu (produktů jeho amplifikace – zvýšení počtu kopií příslušných úseků DNA) ke kříženému výsledku nevedly. Důvodem byl zejména fakt, že i ty nejkonzervativnější mitochondriální geny byly v průběhu evoluce rybamorek zásadně změněny. Následkem toho nebylo možné části mitochondriálního genomu namnožit, jelikož vazba dosud známých mitochondriálních primerů (uměle nasyntetizovaných krátkých úseků DNA) a DNA úseků rybamorek během laboratorní syntézy DNA metodou polymerázové řetězové reakce (PCR) takřka nefungovala.

A právě extrémně vysoká rychlost evoluce mitochondriálního genomu rybamorek znesnadňovala i pátrání po mitochondriál-

ních genech v datech získaných metodou NGS. Nicméně mravenčí práce se vyplatila a přinesla velká překvapení. U rybamorky *Enteromyxum leei*, která je parazitem zažívacího traktu některých ekonomicky významných mořských ryb, byl zjištěn největší známý mitochondriální genom u živočichů. Jeho velikost činí 188 tisíc párů nukleotidových bází a je více než 10násobná oproti běžnému genomu většiny živočichů a dvojnásobná ve srovnání s největším mitochondriálním genomem houbovce *Petrobiona massiliana* (Porifera). Velmi překvapivé bylo i zjištění charakteru mitochondriálního genomu této rybamorky, jenž je fragmentován na 8 kruhových molekul DNA. Velikost všech molekul je přibližně stejná a pohybuje se okolo 23 tisíc bází. Ze 13 genů kódujících proteiny, které jsou běžnou součástí mitochondriální genetické informace u živočichů, se podařilo identifikovat pouze pět (podjednotky komplexů dýchacího řetězce NAD1 a NAD2, cytochrom *c* oxidáza 1 a 2, cytochrom *b*). Každý se nachází na jiné kruhové molekule, která vždy obsahuje jeden ze dvou genů kódujících RNA ribozomálních podjednotek. Další zajímavostí je, že nebyl identifikován žádný gen pro tRNA, jichž je v běžném mitochondriálním genomu živočichů 22 typů. K velké redukci tRNA genů sice došlo už u předka žahavců, nicméně rybamorky jsou jedinou skupinou, u které chybí úplně. Mitochondriální DNA rybamorky *E. leei* obsahuje z větší části nekódující oblasti, téměř totožné u všech jednotlivých kruhových molekul genomu. Pozoruhodné je, že velmi podobný charakter mitochondriálního genomu byl zjištěn u parazitické vši šatní (*Pediculus humanus*), která má svůj genom také rozdělen na několik malých kruhových molekul. Důvody fragmentace genomu, jež obecně není pro organismus z několika důvodů výhodná, nejsou zatím dobře vysvětleny. Jedna z teorií říká, že fragmentovaný genom umožňuje rychlejší replikaci DNA. Je však známo, že k jeho rozdělení na části dochází častěji u parazitů, kteří musejí přežít nepříznivé podmínky ve formě rezistentních stadií (vajíček nebo spor).

Kromě *E. leei* je mitochondriální genom popsán ještě u tří druhů rybamorek rodu *Kudoa* a jednoho druhu rodu *Myxobolus*. U všech byl potvrzen kruhový charakter molekuly, čímž se rybamorky odlišují od všech zástupců skupiny Medusozoa. Je to



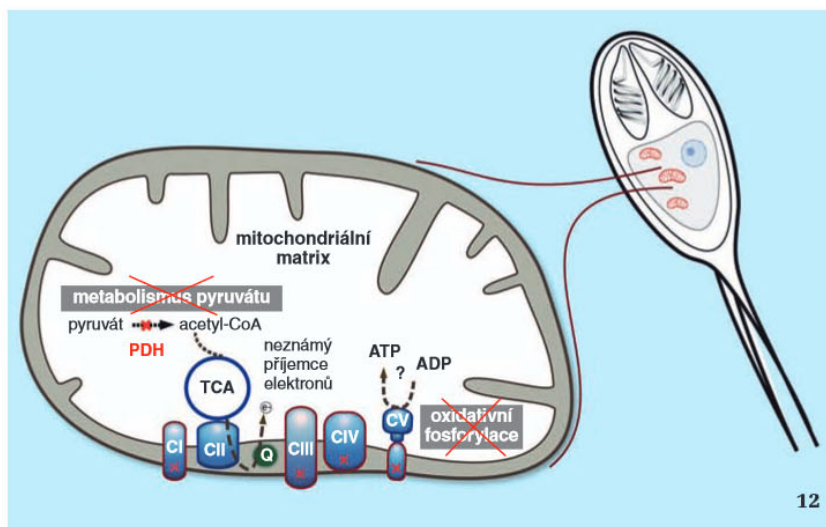
9 až 11 Histologické řezy rybích tkání napadených rybomorkami (označené hvězdičkou). Spory a plasmodia *Sphaerospora testicularis* v semenotvorných kanálcích moččáka evropského (obr. 9), cysty naplněné sporami *Myxidium rhodei* vyvíjející se v Bowmanově prostoru renálních tělísek plotice obecné (*Rutilus rutilus*, 10) a spory rybomorky pstruží v chrupavce pstruha duhového (11). Barveno hematoxylinem a eozinem (9 a 10) a Giemsou (11) – barvivem obsahujícím azur, metylenovou modř a eozin běžně využívaným k barvení mikroskopických preparátů protist a krevních roztěrů (11). Měřítka 100 μm (9), 50 μm (10) a 20 μm (11). Foto P. Bartošová-Sojková (obr. 9 a 11) a I. Fiala (10)

12 Schematické znázornění přerušené dráhy aerobní respirace v mitochondrii *Henneguya salminicola* v důsledku chybějících podjednotek cytochrom *c* oxidázy. Acetyl-CoA – acetylkoenzym A, ATP – adenosintrifosfát, ADP – adenosindifosfát, CI až CV – podjednotky I–V dýchacího řetězce, PDH – pyruvát dehydrogenáza, Q – koenzym Q neboli ubichinon, TCA – cyklus trikarboxylových kyselin, tedy Krebsův cyklus. Upraveno podle: D. Yahalomi a kol. (2020). Orig. I. Fiala

také další důkaz starobylého původu rybomork, které se pravděpodobně oddělily od evoluční linie vedoucí k Medusozoa před linearizací jejich mitochondriální molekuly. Fragmentace genomu byla pozorována jen u druhu *Kudoa iwatai*, a to do dvou kruhových molekul. Zbýlé tři druhy mají mitochondriální genom na jedné kruhové molekule.

Vůbec nejpozoruhodnější je situace s mitochondriálním genomem u druhu *Henneguya salminicola* (obr. 4E). Tato rybomorka veškerou mitochondriální genetickou informaci ztratila (obr. 12). Je vůbec prvním živočichem, který ztratil jeden z hlavních živočišných znaků, a to mitochondriální geny pro aerobní respiraci v mitochondriích. Jinak řečeno, buňky tohoto mnohobuněčného parazita nedokážou dýchat. Druhotná ztráta aerobní respirace přitom není tak neobvyklá. S tímto fenoménem se setkáváme u řady jednobuněčných organismů (např. u parazitů měňavky úplavíčné – *Entamoeba histolytica*, lamblie střevní – *Giardia intestinalis* nebo mikrosporidií), které různými způsoby řeší strategii svého přežití za podmínek s nízkým či téměř nulovým množstvím kyslíku v prostředí, kde žijí. V živočišné říši se s tímto jevem setkáváme vůbec poprvé.

Za tento objev vděčíme mezinárodnímu týmu složenému z izraelských, amerických a francouzských vědců (Yahalomi a kol. 2020). Ke svému studiu mitochondriálního genomu si vybrali dvě rybomorky z linie evolučně vzdálenější od těch rybomork, u kterých již genom popsán byl. Jejich objev byl částečně dílem náhody, že jedním z druhů byl právě ten, u něhož později popsali ztrátu mitochondriálního genomu. Dokázat ve vědě, že něco není, je vždy mnohem těžší, než dokázat, že něco existuje. A v daném případě to platilo dvojnásobně. Jak jsme již zmínili, rych-



obrovská a u mitochondriálních genů ještě o něco vyšší. Z toho důvodu je nalezení mitochondriálních genů, jejichž sekvence se mohou zásadně lišit od známých genů rybomork, v milionech nukleotidových bází celkové genetické informace organismu velmi nesnadné. Proto neúspěšná identifikace neznačí bezprostředně absenci genů, ale nejprve musíme vyloučit všemožné metodické chyby potenciálně také související s neobvyklým charakterem mitochondriálního genomu myxozoi. Vše ale naznačuje, že u této rybomorky skutečně došlo ke ztrátě celého genomu mitochondrie. Pro jeho absenci svědčí i další molekulárněgenetický objev. V jaderném genomu *H. salminicola* byl totiž identifikován pseudogen mitochondriální DNA polymerázy s několika bodovými mutacemi vnějšními stop kodony do jejího čtecího rámce a znemožňující tím syntézu funkčního proteinu. V běžné buňce je úkolem této DNA polymerázy zajišťovat syntézu mitochondriální DNA. Přítomnost stop kodonů je jasným důkazem, že tento gen neplní svou funkci, a tedy nedochází k přepisu mitochondriální DNA. Dalším důkazem absence mitochondriálního genomu bylo i mikroskopické pozorování preparátů vývojových stadií *H. salminicola* a příbuzného druhu rybomorky z rodu *Myxobolus*, jenž mitochondriální genom má. Na rozdíl od myxobola, u heneguye kromě jádra s jadernou DNA na preparátu „nesvítla“ (nebyla vizualizována fluorescenční barvou DAPI) žádná jiná organela, což dokládá nepřítomnost mitochondriální DNA v buňkách.

Při absenci mitochondriálního genomu není *H. salminicola* schopna vytvořit proteiny kódované mitochondrií, které jsou součástí biochemické dráhy zajišťující buněčnou dýchání. Bez přítomnosti proteinů tvořících respirační komplex není možná oxidativní fosforylace, při níž se spotřebovávají molekuly kyslíku a vznikají molekuly adenosintrifosfátu (ATP), které jsou pro buňku zdrojem energie. Je zajímavé, že u této rybomorky nebyly nalezeny ani žádné geny nebo homology genů, které by kódovaly proteiny zajišťující alternativní cestu pro výrobu energie v mitochondrii, jako jsou hydrogenázy nebo pyruvát formát

buněčných organismů umožňující ve specifických organelách produkci ATP. Takové organely neobsahují typické mitochondriální krysty (membránové přepážky, záhyby) a nazýváme je např. hydrogenozomy. Faktem je, že mitochondrie *H. salminicola* obsahují klasické krysty. Pseudogen mitochondriální DNA polymerázy přítomný v jaderném genomu navíc naznačuje, že ztráta mitochondriální DNA a aerobní respirace může být evolučně velmi recentní událost. Tuto domněnku podporuje i její způsob parazitismu. Definitivním hostitelem *H. salminicola* je pravděpodobně nitěnka ze skupiny Naididae, která žije v anoxickém prostředí zavrtaná v bahně. Mezihostitelem jsou lososovitě ryby, u nichž se *H. salminicola* vyskytuje v bílém masě – tkáni charakteristické anaerobním metabolismem. Je tedy pravděpodobné, že tato rybomorka, stejně jako mnohé jednobuněčné organismy žijící v anaerobním prostředí, sekundárně ztratila mitochondriální genom v důsledku adaptace na podmínky nízké dostupnosti kyslíku u obou hostitelů.

Rybomorky nás nepřestávají překvapovat svými biologickými vlastnostmi, evolučními ději a nyní i extrémním charakterem mitochondriálního genomu. Ten u jednoho druhu nemá enormní velikost mezi živočichy obdoby a u druhého úplně chybí, a tím jsou rybomorky mezi dosud studovanými mnohobuněčnými organismy naprosto unikátní.

Výzkum rybomork v České republice je realizován v Laboratoři rybí protistologie Parazitologického ústavu BC AV ČR v Českých Budějovicích. Více informací najdete na webové stránce www.paru.cas.cz/sekce/rybi-parazitologie/laborator-rybi-protistologie. Příspěvek vznikl s podporou programů Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy ČR (program Inter-excellence, grant č. LTAUSA17201) a Grantové agentury ČR (projekty excelence v základním výzkumu EXPRO, grant č. 19-28399X).

Seznam použité literatury uvádíme na webové stránce Živý. K dalším čtení např. Živa 2015, 5: 201–203; 2016, 3: LVI–LIX; 2017, 5: 257–261;