

Evolucija gljiva

Majić, Boris

Undergraduate thesis / Završni rad

2010

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:119086>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-17**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

Evolucija gljiva
Evolution of Fungi

SEMINARSKI RAD

Boris Maji
Preddiplomski studij biologije
Mentor: prof. dr. sc. Mirjana Kalafati
Zagreb, 2010.

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. SUKLADNOST I SUKOBLJAVANJE GENA KORISNIH U FILOGENIJI GLJIVA.....	3
2.1. Ribosomske ponavljajuće regije unutar jezgre.....	3
2.2. Kada ribosomski geni nisu dovoljni?.....	3
2.3. Protein – kodirajuć i geni.....	4
3. FILOGENETSKO ZAKLJUČIVANJE I VRIJEME DIVERGENCIJE GLJIVA NA OSNOVI 18S rRNA GENSKIH SEKVENCI.....	7
3.1. Vremensko stablo gljiva pod pretpostavkom molekularnog sata.....	7
3.2. Porijeklo gljiva.....	11
3.2.1. Bičevci i bazalne gljive.....	12
3.2.2. Naseljavanje kopna.....	12
3.3. Radijacija kopnenih gljiva: porijeklo Ascomycota.....	12
3.3.1. Euascomycetes.....	14
3.4. Radijacija Basidiomycota.....	15
4. ZAKLJUČCI.....	16
5. LITERATURA.....	17
6. SAŽETAK.....	18
7. SUMMARY.....	19

1. UVOD

Gljive žive u slatkoj vodi ili na kopnu, vrlo rijetko u moru. Vole područja povišene ili visoke vlažnosti, iako su izolirane i iz pustinjskih tala, snijega i leda. Razvile su se iz prabi aša. Mogu biti moneci ne – jednodomne (heterokarija ili razno jezgrenost) ili dieci ne – dvodomne (homokarija ili isto jezgrenost). Fiziološki su vrlo dobro adaptirane na ekstremne uvjete, te po toj karakteristici razlikujemo psihrofile (vole niske temperature) i kserofile (vole okoliš siromašan vodom).

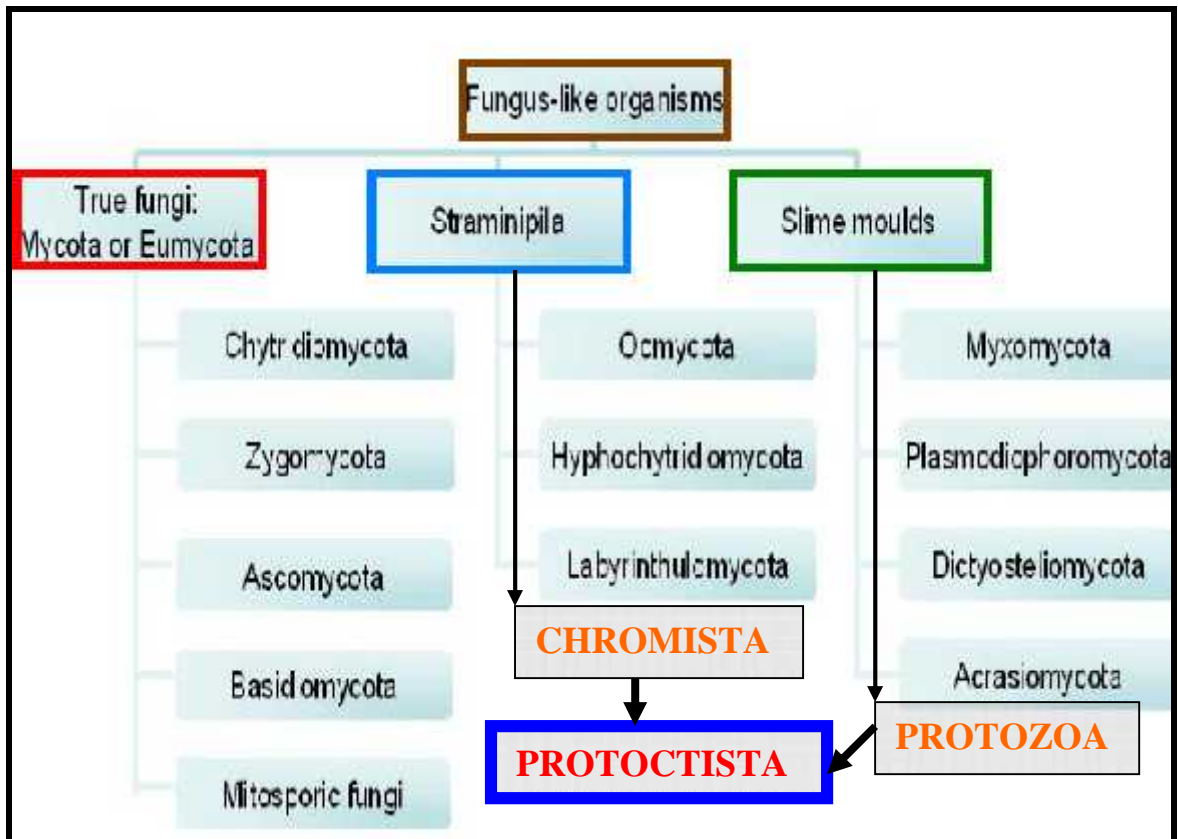
Zbog nemogućnosti samostalne produkcije organskih tvari, gljive pripadaju obligatnim heterotrofima. Većinom su: saprofiti, paraziti, nekrofiti i simbionti. Saprofitske gljive se hrane uginulom organskom materijom pomoću ekstracelularne probave. Parazitske gljive parazitiraju na biljkama, životinjama i ovjeku. Nekrofitske gljive su paraziti koji napadaju živi organizam, ubijaju ga mikotoksinima, te potom apsorbiraju hranjive tvari. Gljive mogu biti mikorizni, endofitski i mutualistički simbionti ili živjeti u simbiozi s lišajevima.

Organeli gljiva su: jezgra, tjelešca diobenog vretena, centrioli, mitohondriji, Golgijeva tjelešca, ribosomi, endoplazmatski retikulum, vakuole, lipidna tjelešca, tjelešca za spremanje glikogena i mikrotubuli. Rezervne tvari su glikogen i kapljice masti, ponekad manit, ali nikada škrob.

Kod gljiva nalazimo nespolni i spolni način razmnožavanja. Nespolno se gljive razmnožavaju pomoću različitih spora. Vodeni oblici imaju gole i pokretne zoospore, a terestrički oblici imaju nepokretne aplanospore koje se razvijaju unutar sporangija (endospore) ili septiranjem hifa (egzospore). Spore su lagane i najčešće brojne. Gljive posjeduju i dodatno nespolno razmnožavanje raspadanjem micelija koje nastaju oidiji. Hlamidospora (dio jedne hife) i sklerocij (agregat hifa) su trajni oblici spora. Spolno razmnožavanje gljiva se uglavnom odvija fuzioniranjem dviju hifa. „+“ je oznaka za „muškeke“ hife, a „-“ za „ženske“ hife. „+“ označava donora jezgre, a „-“ akceptora jezgre. Razlikujemo nekoliko vrsta spolnog razmnožavanja gljiva, a to su: gametogamija, gametangiogamija i somatogamija.

Gljive koje formiraju klobuk i stručak možemo razlikovati po boji i obliku klobuka, te po mjestu u vršivanju stručaka. Tako razlikujemo gljive bez stručaka, te one kod kojih je stručak pri vršenju lateralno, ekscentrično ili centralno.

Carstvo Mycota se sastoji od organizama nalik gljivama i podjelili smo ga na prave gljive, Straminipila i sluzave plijesni (Sl. 1.).



Slika 1. Sistematika gljiva (preuzeto i prilago eno iz <http://hirc.botanic.hr/botanika/Predavanja/BOTANIKA-MB-07a-%20Mycota%202.pdf>).

2. SUKLADNOST I SUKOBLJAVANJE GENA KORISNIH U FILOGENIJI GLJIVA

2.1. Ribosomske ponavljanje e regije unutar jezgre

Naj eš e korištena DNA u filogenetskim istraživanjima gljiva je ona smještena u ponavljanje im regijama ribosomske DNA u jezgri. Jedan od razloga este korištenosti ove DNA u filogenetskim istraživanjima jest taj što su ribosomske genske nakupine gljiva raspore ene u oko 200 uzastopnih ponavljanja. Zahvaljuju i tome, svaka jezgra sadži 200 ili više jednakih kopija regije što pove ava šansu pronalaska netaknute kopije u uzorku koja se može upotrijebiti u molekularnim analizama. Još jedna prednost rDNA regija je ta što one nude mogu nost uspore ivanja na mnogim taksonomskim razinama. Unutar rDNA ponavljanja nalaze se 3 kodiraju a gena (18S, 5.8S i 28S) i 2 razmaka (ITS 1 i ITS 2), dok se tre i razmak (IGS) nalazi izme u parova ponavljanja. 18S, 5.8S i 28S geni, visoko konzervirani i op e prisutni, kodiraju rRNA molekule koje postaju strukturni dijelovi ribosoma i esencijalne su za sintezu proteina. Razmaci ITS 1 i ITS 2 su mnogo varijabilniji, zbog izrezivanja njihovih transkripata, te su korisni za taksonomsku usporedbu blisko srodnih vrsta i rodova. IGS razmak se ne transkribira i on je visoko varijabilan.

Jedan od razloga uspješnosti filogenetskih istraživanja gljiva baziranih na rRNA leži u lako i dizajniranja po etnica. Naime, univerzalne 18S rRNA genske po etnice, npr., umnažaju DNA molekule insekata kao i DNA molekule crvenih algi.

U nekim slu ajevima, presudan razlog odabira rRNA gena jest taj što mnoge sekvence, pohranjene u geneti koj bazi podataka, mogu biti ponovo korištene kako bi se pronašli odgovori na nova pitanja. Tako npr. sekvencioniranje gena za samo nekoliko svojti ingrupe, a formiranje preostalih ingrupa i autgrupa iz baza podataka može odgovoriti na mnoga pitanja uz utrošak minimalnog napora.

2.2. Kada ribosomski geni nisu dovoljni?

Rezolucija odnosa gljiva bi bila bolja kada bi bile dostupne potpune sekvence svih 3 rRNA gena iz ribosomskih ponavljanja. Me utim, taj slu aj e ostati hipotetski još neko vrijeme zbog skupo e i dugotrajnosti sekvencioniranja DNA. Kompletne sekvence su dostupne za kra e 5.8S i 18S gene, ali ne i za duže 28S gene.

ak i kada bi kompletne rRNA sekvence bile dostupne za sve gljive, ribosomska ponavljanja ne bi odgovorila na sva pitanja o odnosu me u gljivama. Uzrok tome, iako je broj nukleotida u ribosomskim ponavljanjima znatan (oko 9000), je mali broj svojstava korisnih za odgovor na odre eno pitanje. Na mali broj korisnih svojstava utje u: visoka varijabilnost IGS

i ITS nukleotida, ve ina pozicija se ne razlikuje me u gljivama jer su funkcionalno važne i mutacije na tim pozicijama su letalne, sli na stopa supstitucije 28S i 5.8S gena i injenica da samo neke pozicije uspiju zabilježiti određene događaje supstitucijom nukleotida. Gore navedene injenice govore kako za odgovore na pojedina pitanja trebamo gledati izvan ribosomskih gena i ponavljanja, tj. trebamo istraživati ostatak genoma.

2.3. Protein – kodiraju i geni

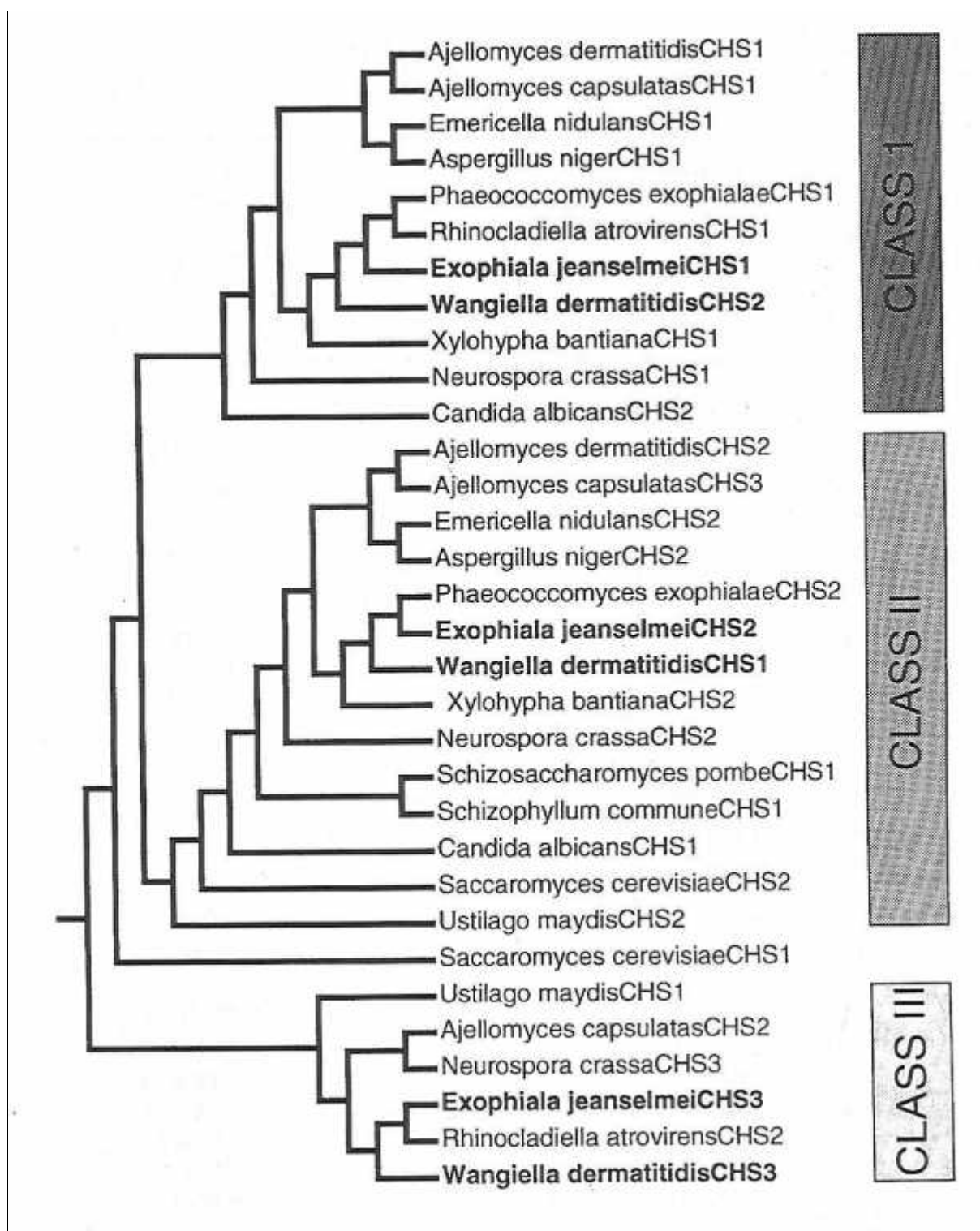
Proteinske sekvence, u svrhu filogenetskih istraživanja, posjeduju nekoliko prednosti u odnosu na rRNA genske sekvence. Tako je homologiju i konvergenciju lakše prepoznati u proteinskim sekvencama izgrađenim od 20 aminokiselina nego u DNA sekvencama napravljenim od 4 nukleotida. Trajne promjene u protein – kodirajućim genima su rijetke jer insercije i delecije esto dovode do fatalnih pomicanja okvira i eliminacije putem prirodnog odabira. Eukariotski genomi nude širok spektar protein – kodirajućih gena, ali filogenetska istraživanja gljiva moraju savladati manje prepreke po evši od dizajniranja po etnice.

Poput rRNA sekvenci jezgre, tako su i mitohondriji i njihovi protein – kodirajući geni prisutni u više kopija unutar veine stanica. Mitohondrijski geni imaju kvalitetu lakog uvišestruavanja uz odgovarajuću po etnicu, a taj postupak se može provesti čak i na DNA uzorku loše kvalitete. Primjer korištenja mitohondrijskih protein – kodirajućih gena u svrhu filogenije gljiva su istraživanja Paquina i suradnika koji su izveli vjerojatna stabla iz mitohondrijskih gena koji kodiraju podjedinice 1 i 3 citokrom oksidaze i podjedinicu 5 NADH dehidrogenaze. U nedavnim istraživanjima, Paquin i suradnici su koristili podjedinice 1 – 3 i citokrom b u filogenetskim istraživanjima, a rezultat istraživanja bila je snažna potpora teoriji gljiva i životinja kao sestrinskih svojti. Unutar gljiva, Paquin i suradnici, na temelju istraživanja, predlažu postavljanje Spizellomycetales kao bazu gljivara e nego Blastocladales.

Jezgrini protein – kodirajući geni su obino prisutni u jednoj kopiji po jezgri, tako da njihovo uvišestruenje zahtjeva kvalitetan uzorak DNA. Samo nekoliko istraživanja odnosa me u gljivama bilo je bazirano na jednoj kopiji jezgrinih gena. Jedno od takvih istraživanja su proveli Baldauf i Palmer, koriste i konzervirane gene jezgre za aktin, i – tubulin, histone i translacijski, elongacijski faktor Ef - 1 , kako bi dokazali da životinje i gljive dolaze kao sestrinske grupe. Drugo istraživanje, bazirano na 53 različita gena koji kodiraju enzime, proveli su Dollittle i suradnici zaključivši kako su gljive divergirale od životinja prije oko 965 milijuna godina.

Geni, korišteni u gore navedenim istraživanjima, bili su odabrani jer je zaključeno da nisu prošli horizontalni transfer gena i iste genske duplikacije. Naime, geni koji dupliciraju tvore i genske obitelji zahtjevaju dodatni napor pri sekvencioniranju. Primjer istraživanja genskih obitelji jest istraživanje Bowena i suradnika koji su istraživali gene hitin sintaze koji pripadaju trima genskim obiteljima. Uvišestru avanjem gena hitin sintaze dobili su smjesu hitin sintaza iz 2 ili 3 obitelji, te su ih potom razdvojili kloniraju i produkte PCR – a i razvrstavaju ih na temelju sli nosti. Klonovi koji su predstavljali svaku obitelj bili su sekvencionirani i stablo sekvenci je izvedeno korištenjem UPGMA (slika 2.).

Genska stabla i stabla organizama dolaze u sukob kada postoji horizontalni transfer genetskog materijala. Primjer toga su cvjetnice kod kojih su geni podjedinice F1 – ATP – aze polifiletski iako cvjetnice imaju jedinstveno porijeklo. Tako u F1 – ATP – aza stablu, mrkva tvori klaster s krušnom plijesni *Neurospora*, dok duhan i špinat tvore klaster s bakterijama. Razlog tome je što geni *Neurospora* i mrkve dolaze iz jezgre i vertikalno su preneseni, dok geni duhana i špinata dolaze iz kloroplasta. Dakle, biljke su stekle svoje kloroplastne genome horizontalnim transferom sa simbiotskim cijanobakterijama. Tako su geni kloroplasta zadržali tragove svog cijanobakterijskog porijekla, tvore i klaster s *E. coli* ra e nego s eukariotima.



Slika 2. Filogenetske analize triju obitelji gena hitin sintaze (preuzeto iz K. Esser and P:A: Lemke, 2001. The Mycota Systematics and Evolution VII, Part B).

3. FILOGENETSKO ZAKLJU IVANJE I VRIJEME DIVERGENCIJE GLJIVA NA OSNOVI 18S rRNA GENSKIH SEKVENCI

Kako bi se pokazale ja ina i ograni enost stvaranja stabala pomo u 18S gena, uz korištenje štedljivosti i kompjuterskog programa PAUP 4.0d55, izvedena je filogenija 49 gljiva i 3 autgrupe (Tablica 1.). Dodane su sekvence velikog broja vrsta iz Ascomycota i Basidiomycota, iz nekoliko vrsta Chytridiomycota i Zygomycota, te iz Trichomycetes i Entomophthorales (Tablica 1.). Autgrupe su uklju ivale jednog bi aša s ovratnikom (Choanoflagellate) i 2 lana grupe ribljih parazita. Prona eno je 45 jednako štedljivih stabala koja se razlikuju u redosljedu grananja (Slika 3.). Tako je redosljed grananja unutar Ascomycota razli it u svim stablima, unutar Archiascomycota varira od stabla do stabla, dok unutar Euascomycetes redosljed grananja nije dosljedan.

3.1. Vremensko stablo gljiva pod pretpostavkom molekularnog sata

Ako je stopa nukleotidne supstitucije približno konstantna za sve sojeve i ako je fosilni dokaz dostupan za kalibraciju stope nukleotidnih supstitucija, onda se podatak supstitucije izme u parova vrsta može koristiti za procjenu njihovih vremena divergencije. Ova tvrdnja je bila korištena u istraživanjima bakterija, biljaka, gljiva, životinja i ljudi.

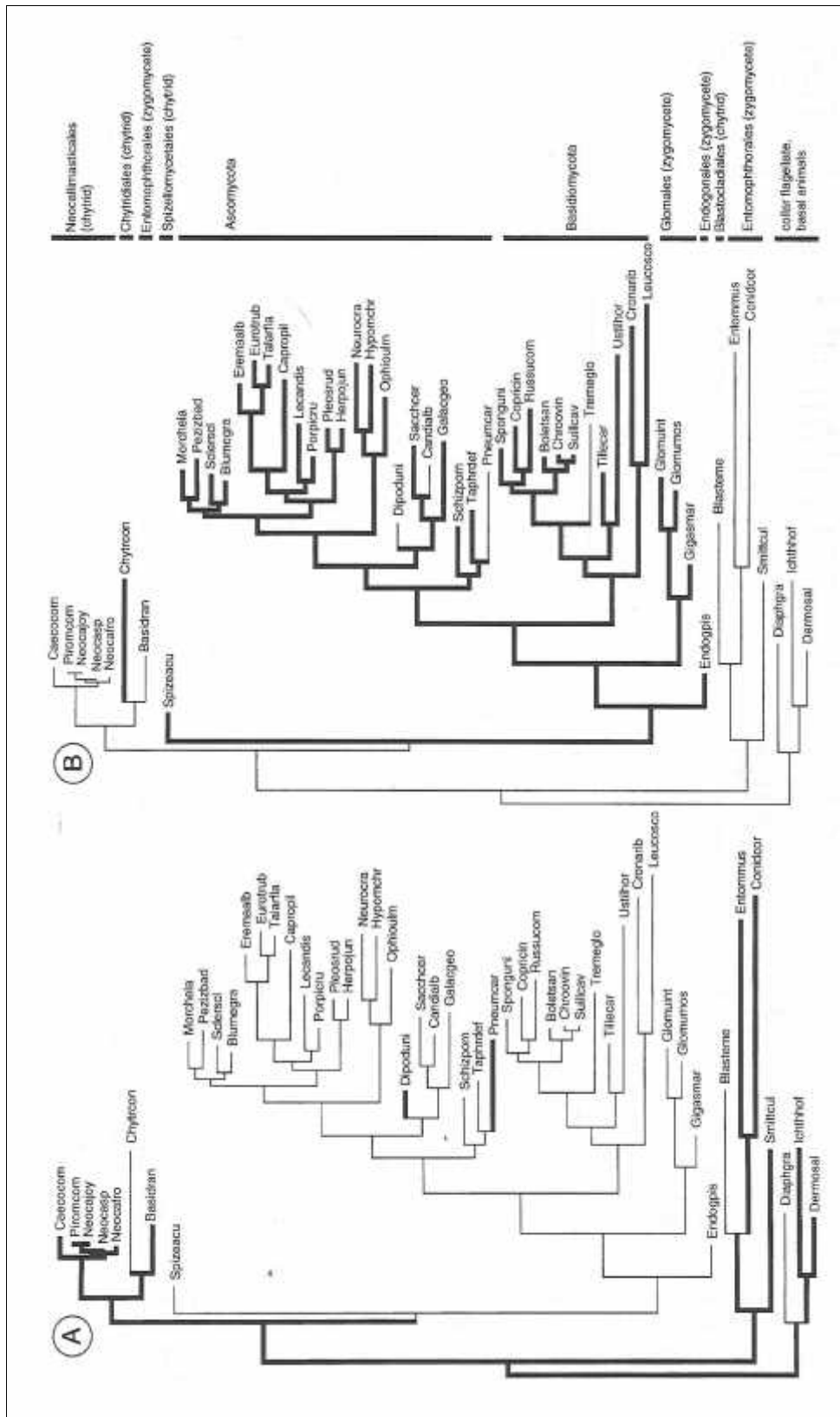
Kako bi se dobilo vremensko stablo gljiva pod pretpostavkom molekularnog sata, korišten je filogenetski skup podataka i jedno od 45 jednako skromnih stabala iz tog skupa podataka (opisano gore). Potom je korištena maksimalna vjerojatnost (PAUP 4.0d55) kako bi se izra unale duljine grana stabla (Slika 4.). Pretpostavke ovog istraživanja bile su: a) molekularni sat je djelovao i b) stopa promjene je varirala od mjesta do mjesta u skupu podataka.

Kako bi se provela kalibracija molekularnog sata, utvr ena je povezanost izme u to aka u geološkoj skali vremena i postotka supstitucija važnih za divergenciju gljiva. Ukupni odnos izme u geološkog vremena i supstitucije nukleotida procjenjen je na 1,26 % na 100 miliuna godina (Slika 5.). Iz slike 5. se tako da pro itati kako je npr. rod Glomales divergirao od Ascomycota i Basidiomycota prije oko 600 miliuna godina.

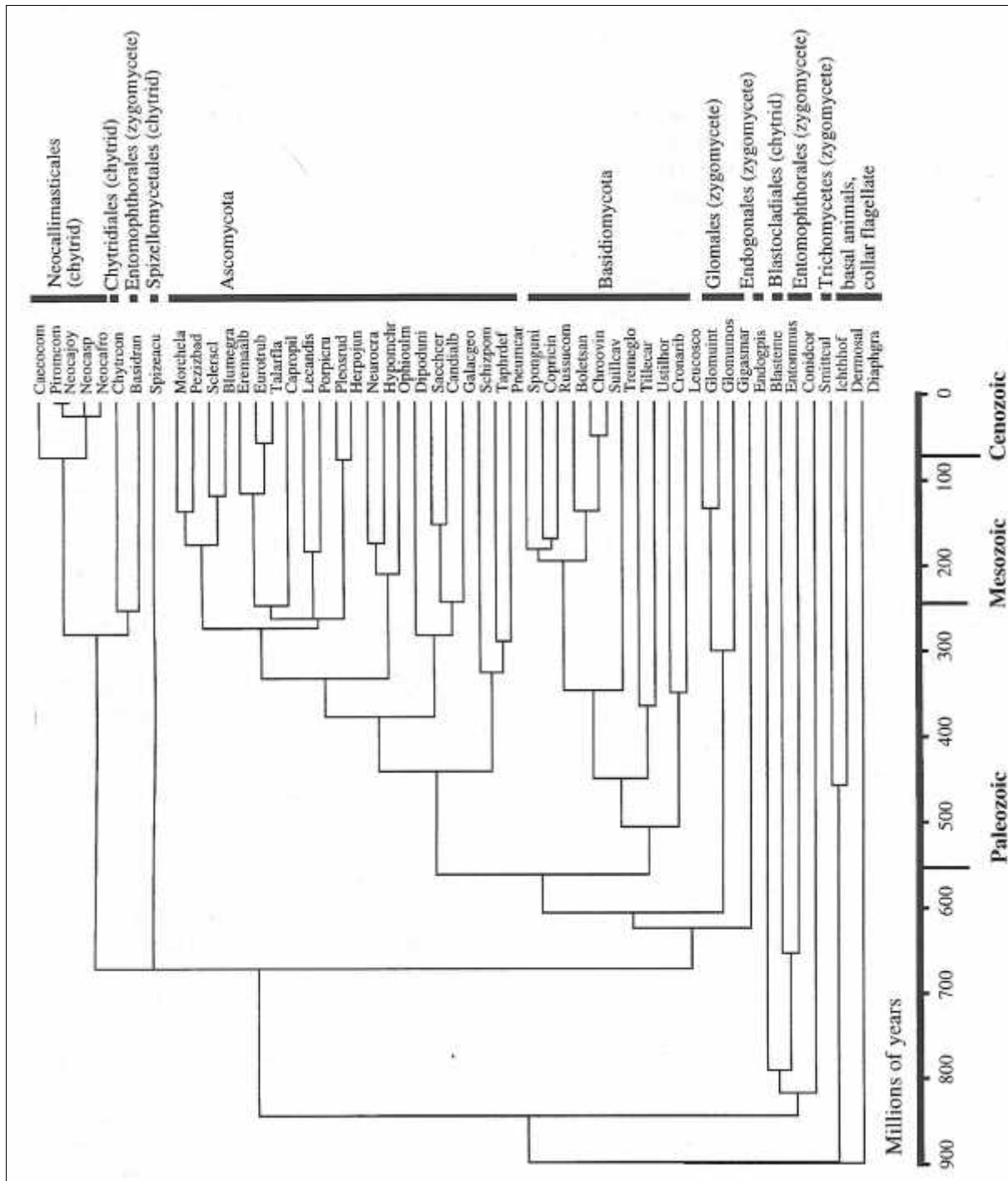
Tablica 1. Korištene vrste u filogenetskim analizama i pristupni brojevi njihovih 18S rRNA gena (preuzeto iz K. Esser and P.A: Lemke, 2001. The Mycota Systematics and Evolution VII, Part B).

Group	Name	Accession no.*
Ascomycota	<i>Blumeria graminis</i>	L26253
Ascomycota	<i>Candida albicans</i>	X53497
Ascomycota	<i>Capronia pilosella</i>	U42473
Ascomycota	<i>Dipodascopsis uninucleata</i>	U00969
Ascomycota	<i>Eremascus albus</i>	M83258
Ascomycota	<i>Eurotium rubrum</i>	U00970
Ascomycota	<i>Galactomyces geotrichum</i>	U00974
Ascomycota	<i>Herpotrichia juniperi</i>	U42483
Ascomycota	<i>Hypomyces chrysospermus</i>	M89993
Ascomycota	<i>Lecanora dispersa</i>	L37734
Ascomycota	<i>Morchella elata</i>	L37537
Ascomycota	<i>Neurospora crassa</i>	X04971
Ascomycota	<i>Ophiostoma ulmi</i>	M83261
Ascomycota	<i>Peziza badia</i>	L37539
Ascomycota	<i>Pleospora rudis</i>	U00975
Ascomycota	<i>Pneumocystis carinii</i>	X12708
Ascomycota	<i>Porpidia crustulata</i>	L37735
Ascomycota	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	J01353
Ascomycota	<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	X54866
Ascomycota	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	X69850
Ascomycota	<i>Talaromyces flavus</i>	M83262
Ascomycota	<i>Taphrina deformans</i>	U00971
Basidiomycota	<i>Boletus satanas</i>	M94337
Basidiomycota	<i>Chroogomphus vinicolor</i>	M90822
Basidiomycota	<i>Coprinus cinereus</i>	M92991
Basidiomycota	<i>Cronartium ribicola</i>	M94338
Basidiomycota	<i>Leucosporidium scottii</i>	X53499
Basidiomycota	<i>Russula compacta</i>	U59093
Basidiomycota	<i>Spongipellis unicolor</i>	M59760
Basidiomycota	<i>Suillus cavipes</i>	M90828
Basidiomycota	<i>Tilletia caries</i>	U00972
Basidiomycota	<i>Tremella globospora</i>	U00976
Basidiomycota	<i>Ustilago hordii</i>	U00973
Chytridiales (Chytridiomycota)	<i>Chytridium confervae</i>	M59758
Blastocladales (Chytridiomycota)	<i>Blastocladiella emersonii</i>	M54937
Neocallimasticales (Chytridiomycota)	<i>Caecomyces (Shaeromonas) communis</i>	M62707
Neocallimasticales (Chytridiomycota)	<i>Neocallimastix frontalis</i>	X80341
Neocallimasticales (Chytridiomycota)	<i>Neocallimastix joynii</i>	M62705
Neocallimasticales (Chytridiomycota)	<i>Neocallimastix sp.</i>	M59761
Neocallimasticales (Chytridiomycota)	<i>Piromyces (Piromonas) communis</i>	M62706
Spizellomycetales (Chytridiomycota)	<i>Spizellomyces acuminatus</i>	M59759
Endogonales (Zygomycota)	<i>Endogone pisiformis</i>	X58724
Entomophthorales (Zygomycota)	<i>Basidiobolus ranarum</i>	D29946
Entomophthorales (Zygomycota)	<i>Conidiobolus coronatus</i>	D29947
Entomophthorales (Zygomycota)	<i>Entomophthora muscae</i>	D29948
Glomales (Zygomycota)	<i>Gigaspora margarita</i>	X58726
Glomales (Zygomycota)	<i>Glomus intraradices</i>	X58725
Glomales (Zygomycota)	<i>Glomus mosseae</i>	Z14007
Trichomycetes (Zygomycota)	<i>Smittium culisetae</i>	D29950
Basal animal	<i>Dermocystidium salmonis</i>	U21337
Basal animal	<i>Ichthyophonus hoferi</i>	U25637
Collar flagellate	<i>Diaphanoeca grandis</i>	L10824

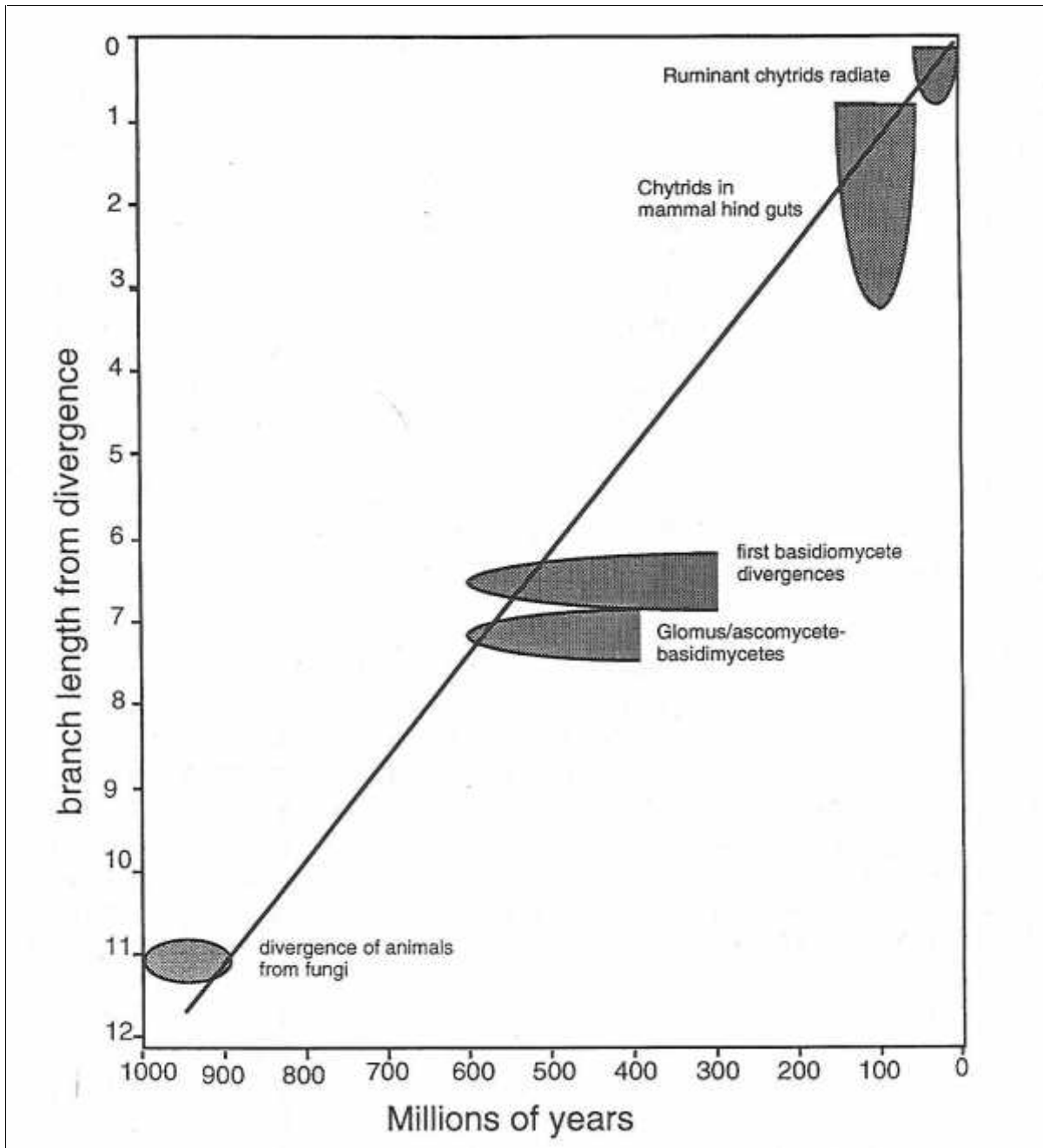
* GenBank database accession numbers (<http://www3.ncbi.nlm.nih.gov/Entrez/>).



Slika 3A,B. Usporedba distribucije životinjskih i biljnih asocijacija preslikana na 18S rRNA gensko stablo. Stablo A prikazuje grane koje vode do životinjskih parazita ili komenzala, tamnije otisnuto. Stablo B prikazuje gljive asociirane s biljkama, uključujući i endosimbionte, patogene i saprofitne, tamnije otisnuto. (Preuzeto iz K. Esser and P.A: Lemke, 2001. The Mycota Systematics and Evolution VII, Part B).



Slika 4. Procjena vremena divergencija gljiva. Stablo je jedno od 45 jednako skromnih stabala izvedenih uporabom PAUP 4.0d55. (Preuzeto iz K. Esser and P.A: Lemke, 2001. The Mycota Systematics and Evolution VII, Part B).



Slika 5. Kalibracija molekularnog sata (preuzeto iz K. Esser and P:A: Lemke, 2001. *The Mycota Systematics and Evolution VII, Part B*).

3.2. Porijeklo gljiva

Stablo izvedeno iz 18S rRNA sekvenci pokazuje kako su životinje najbliži ro aci gljivama. Naime, gljive ne nalikuju životinjama na prvi pogled, ali po svom ponašanju i posjedovanju bi eva, one nalikuju nekima od bazalnih predstavnika životinjskog carstva. Tako npr. rodovi *Dermocystidium* i *Ichthyophonus* parazitiraju na ribama i beskraljšnjacima kao i neke od bazalnih gljiva.

3.2.1. Bi evi i bazalne gljive

Me u gljivama, jedino predstavnici Chytridiomycota imaju bi eve, a to je vjerojatno karakteristika zadržana od pretka protista. Da li je tokom evolucije kopnenih gljiva došlo do jednog ili više gubitaka bi eva jest pitanje na koje znanstvenici još uvijek traže odgovor. Pošto se Chytridiomycota ne pojavljuju u podnožju 18S stabla, dolazi se do zaključka kako sve grupe gljiva bez bi eva, koje čine klaster ispod Chytridiomycota ili su njihove sestrične, dolaze od istog pretka sa bi evima koji je iznjedrio i Chytridiomycota.

3.2.2. Naseljavanje kopna

Mikorizna simbioza, parazitizam i saprofitizam su najčešća stanja monofiletske grupe kopnenih gljiva koja uključuje Endogonales, Glomales, Ascomycota i Basidiomycota. Endomikorizne Endogonales i Glomales predstavljaju grupu unutar Zygomycetes čiji su predstavnici izgubili bi eve, kao samostalni organizmi, najvjerojatnije za vrijeme naseljavanja kopna i susretu sa kopnenim biljkama. U tom slučaju, dolazi se do pitanja dostupnosti biljaka kao izvora hrane u razdoblju radijacije tih gljiva. Najnoviji fosilni nalazi (Ordovicij, prije oko 460 milijuna godina) dolaze u oblicima raspršenih mikrofosila spora i struktura nalik na traheide. Najnovije stablo predlaže da se su se prve divergencije među kopnenim gljivama, divergencije Endogonales i Glomales, dogodile prije oko 600 milijuna godina pa čak i ranije. To je oko 140 milijuna godina ranije od bilo kojeg dokaza vaskularnih biljaka koje su sada dostupne tim obligatnim endomikoriznim gljivama. Razlika između vremenskih procjena, za gljive i dostupne biljke, može biti uzrokovana varijacijama stope u evoluciji sekvenci ili može biti da su gljive početno bile u simbiozi sa precima vaskularnih biljaka sljedeći ih na kopno.

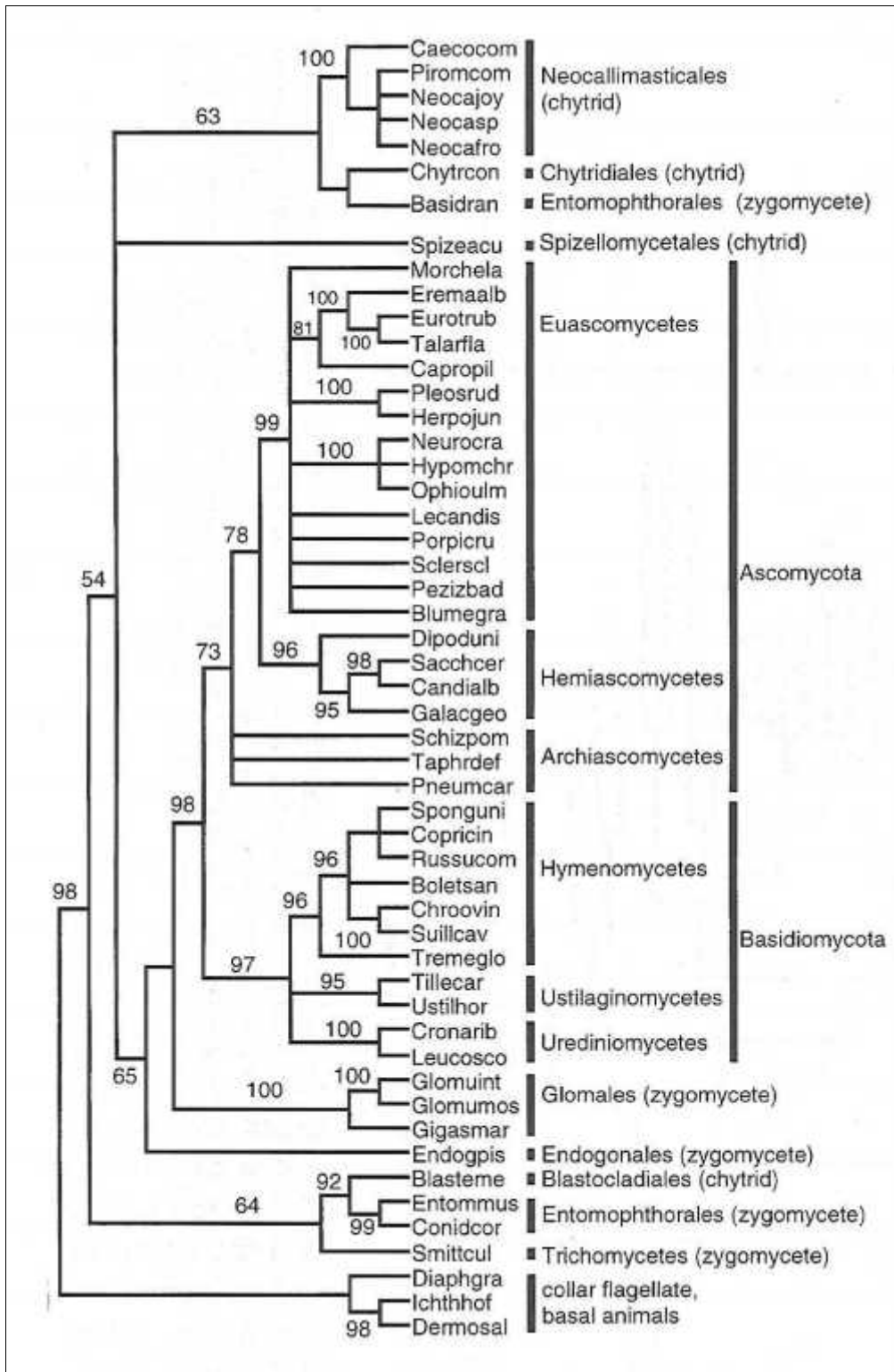
3.3. Radijacija kopnenih gljiva: porijeklo Ascomycota

Stablo, izvedeno iz 18S rRNA sekvenci, pokazuje kako su Ascomycota i Basidiomycota divergirali jedni od drugih u Paleozoiku, prije oko 500 milijuna godina (Slika 4.). U Ascomycota, rana radijacija je iznjedrila Archiascomycetes (raznolika grupa gljiva sa i bez tijela sa hifama. Osim što nema običnih morfoloških osobina koje ujedinjuju tu svojtu, one ipak ni ne čine uvijek klaster korištenjem 18S rRNA sekvenci (Slika 6.).

Dvije ostale osnovne grupe Ascomycota, kvasci ili Hemiascomycetes (poznati i kao Saccharomycetales) i nitaste Ascomycetes ili Euascomycetes, su jasno monofiletske.

Hemiascomycetes uključuju pupaju i kvasce (npr. pekarski kvasac, *Saccharomyces cerevisiae*) i kvasce sa hifama (npr. *Dipodascopsis uninucleata* i *Galactomyces geotrichum*).

Kvasci s hifama su baza stabala gljiva, te sugeriraju kako su pupaju i kvasci mogli nastati iz predaka s hifama.



Slika 6. Strogi konsenzus o stablima (brij stabala je 531) duljine 1210 (jedan korak dalje od najskromnijeg stabla). Mnoga isprekidana mjesta označavaju regije gdje 18S rRNA geni pružaju slabu pomoć pri razrješavanju redosljeda grananja. (Preuzeto iz K. Esser and P.A: Lemke, 2001. The Mycota Systematics and Evolution VII, Part B).

3.3.1. Euascomycetes

Iako se predstavnici Euascomycetes uvijek pojavljuju kao monofiletska skupina, redoslijed grananja duž njihove okosnice baze je još uvijek neriješen (Slika 6.). Oko te regije se sukobljavaju filogenije iz različitih laboratorija svijeta, a problem je u tome što niti jedna od tih filogenija nema jaku bootstrap podršku. Tako se u svakom od 45 jednako skromnih stabala, opisanih prethodno, Pyrenomycetes (uključuju i *Neurospora crassa*) pojavljuju na bazi Euascomycetes, ali bez bootstrap podrške (Slika 3.).

Iako redoslijed divergencija za linije Euascomycetes nije jasan, sve grupe Euascomycetes imaju zajedničke karakteristike koje bi trebale biti naslijeđene od zajedničkog pretka. Tako osnovni članovi linija Euascomycetes imaju duge, vitke asci koje su raspoređene u pojedinačnom ovoju u plodištu koje izbacuje njihove spore snažno u zrak. Još jedna zajednička karakteristika većine predstavnika Euascomycetes jest proizvodnja konidija (mitospore).

Porijeklom iz okosnice Euascomycetes su nekoliko dobro podržanih, monofiletskih skupina od kojih neke odgovaraju tradicionalnim Ascomycota razredima. Plectomycetes je jedan od tradicionalnih razreda kojeg karakteriziraju kleistotecijska plodišta s tankostjenim ascima. Monofiletsko porijeklo Plectomycetes je vidljivo u 18S rRNA stablu (Slika 6.) i stablima ostalih gena (Slika 2.). Plectomycetes tako obuhvaćaju gljive u rasponu od lažnih tartufa unutar Elaphomycetales, preko humanih patogena unutar Onygenales sve do *Penicillium* vrsta Trichocomaceae. Kao i Plectomycetes, tako su i Pyrenomycetes tradicionalni razred snažno podržan podacima sekvenci u svim istraživanjima. Tipičan predstavnik Pyrenomycetes ima duge, tanke, tankostjene asci smještene unutar pojedinačnog ovoja na bazi plodišta koje ima oblik kivete. Snažno izbacivanje askospora sugerira da su oblik plodišta, oblik i položaj askusa funkcionalno povezani u svrhu snažnog sijanja askospora. Naime, gljive koje izgube snažno sijanje askospora, često gube i ostale karakteristike, tako da nalikuju na Plectomycetes.

Nasuprot navedenim primjerima, Discomycetes (cup fungi) su tradicionalan razred kojem nedostaje podrška od većine 18S rRNA istraživanja. Tako 2 reda Discomycetes, Leotiales i Pezizales ponekad čine klaster (Slika 2.), ali bez bootstrap podrške (Slika 6.). Unutar reda Leotiales, praškaste plijesni (Erysiphales) često čine klaster iako nisu bile svrstane u Discomycetes, ali uz slabu bootstrap podršku.

Sve donedavno, klasifikacija Euascomycetes gljiva bila je bazirana na spolnim stadijima gljiva koja su bila promatrana i u žena. Problem se javljao prilikom nailaženja na gljive koje nemaju spolnog stadija (preko 5000 vrsta). Za Ascomycota, sekvencioniranje

rDNA regija postaje sve korisnije u integraciji nespolnih i spolnih vrsta u isti klasifikacijski sustav temeljen na ključnim sličnostima na razini nukleotida. Tako su npr. Seifert i suradnici (1997.) koristili sekvence 18S i 28S ribosomskih gena kako bi zaključili da je nespolna *Trichothecium roseum* vjerojatno član Pyrenomycetes reda Hypocreales, a Kuhls i suradnici (1996.) su zaključili da je nespolna *Trichoderma reesei* vjerojatno klonalna izvedenica spolne vrste *Hypocrea jecorina*.

3.4. Radijacija Basidiomycota

Jedna od prvih molekularnih filogenetskih analiza gljiva, iz 5S rRNA podataka, podjelila je Basidiomycota u dvije grupe. Jedna posjeduje napuhane rubove i doliporame koje okružuju septu između susjednih stanica hifa, a druga nema napuhane rubove. Stabla izrađena na 18S i 28S ribosomskim RNA sekvencama pružaju višekarakteristika i bolju rezoluciju od onih izrađenih na temelju 5S sekvenci. Tako stabla 18S i 28S sekvenci pokazuju 3 linije unutar Basidiomycota koje su divergirale rano u povijesti grupe ali ne razjašnjavaju jasno redoslijed grananja za 3 linije (Slika 6.). Te 3 linije su: Uredinomycetes, Ustilaginomycetes i Hymenomycetes. Spona na septi, koja je pronađena u barem nekoliko članova svih triju grupa, mogla bi biti primitivna osobina koljena koja se razvila prije prve radijacije Basidiomycota, prije oko 440 milijuna godina. U slučaju da je ova procjena filogenije i vremena točna, onda bi trebalo biti moguće pronaći i fosilizirane spore mnogo starije od 290 milijuna godina koliko su stare one pronađene u pensilvanijskom ugljenu.

4. ZAKLJUČCI

Kako bi se približili što to nije evoluciji gljiva, znanstvenici u suvremenim evolucijskim metodama koriste ribosomske ponavljajuće regije unutar jezgre, te mitohondrijske i jezgrine protein – kodirajuće gene.

Korištenjem 18S rRNA sekvenci izvedeno je stablo u kojem se gljive i životinje pojavljuju kao sestrinske grupe. Teoriju sestrinskih grupa su snažno poduprli rezultati istraživanja temeljenih na mitohondrijskim genima i na pojedinim, konzerviranim genima jezgre. Istraživanja, provedena na genima koji kodiraju enzime, pokazala su kako su gljive divergirale od životinja prije oko 965 milijuna godina, dok je stablo genskih obitelji hitin sintaze podijelilo gljive u tri razreda. Uporabom 18S i 28S ribosomskih gena moguće je nespolne i spolne gljive svrstati u isti klasifikacijski sustav. Dokazan je vertikalni transport gena kod mrkve i krušne plijesni što ukazuje na zajedničkog pretka.

Kako bi se prikazali i ujedinili rezultati istraživanja filogenije gljiva, izvedeno je vremensko stablo gljiva pod pretpostavkom molekularnog sata, te je utvrđena povezanost između geološke skale vremena i postotka supstitucija važnih za divergenciju gljiva.

Upornost znanstvenika i što veće ulaganje u znanost i razvoj tehnologija koje su znanosti potrebne ključni su u rasvjetljavanju evolucijskih događaja i njihovog redoslijeda.

5. LITERATURA

K. Esser and P:A: Lemke, 2001. The Mycota Systematics and Evolution VII, Part B

<http://croatica.botanic.hr/~toni/botanika-PDF/botanika-MB-09.pdf>

<http://hirc.botanic.hr/botanika/Predavanja/BOTANIKA-MB-07-%20Mycota%201.pdf>

<http://hirc.botanic.hr/botanika/Predavanja/BOTANIKA-MB-07a-%20Mycota%202.pdf>

6. SAŽETAK

Intenzivnim bavljenjem filogenijom gljiva, znanstvenici su došli do brojnih otkrića. Tako su Paquin i suradnici, korištenjem mitohondrijskih gena koji kodiraju podjedinice 1 – 3 i citokrom b, na temelju rezultata istraživanja pružili snažnu potporu teoriji gljiva i životinja kao sestrinskih grupa, te su predložili postavljanje Spizellomycetales kao bazu gljiva ra nego Blastocladales. Još jedna snažna potpora gljivama i životinjama kao sestrinskim grupama dolazi iz istraživanja Baldaufa i Palmera koji su koristili konzervirane gene jezgre za aktin, α -tubulin, histone i translacijski, elongacijski faktor Ef - 1 . Dollittle i suradnici su proveli istraživanje bazirano na 53 različita gena koji kodiraju enzime, te su rezultati pokazali kako su gljive divergirale od životinja prije oko 965 milijuna godina. Bowen i suradnici su sekvencionirali gene hitin sintaze, pripadaju trima genskim obiteljima, te su izveli stablo sekvenci u kojem gljive dijele na 3 razreda. Seifert i suradnici, te Kuhls i suradnici, koriste i sekvence 18S i 28S ribosomskih gena, utvrđuju filogenetske odnose između spolnih i nespolnih gljiva koje su prije bile smatrane različitim vrstama. Provedeno je i istraživanje temeljeno na genima podjedinice F1 – ATP – aze koje je pokazalo prisustvo vertikalnog prijenosa gena (sa pretka na potomke) kod mrkve i krušne plijesni.

Za mnoga filogenetska pitanja sekvence ribosomskih gena ne nude jasne odgovore, te su sekvence drugih gena i razne karakteristike poželjne i dobrodošle. Red, rad, disciplina, nove spoznaje, nove ideje, novi tehnološki napretci, povećanje svote novca namjenjene znanosti, što bolja povezanost i suradnja znanstvenika cijelog svijeta, mogu nam pomoći i olakšati put približavanja istinitoj evoluciji koja je bitna cjelokupnom životu i koja će, bar djelomično, ponuditi odgovor na vječna pitanja njegovog postanka, razvoja, srodstvenih odnosa i konačno svrhovitosti života.

7. SUMMARY

Working intensively on the phylogeny of fungi, scientists have come up with a number of discoveries. Thus, Paquin et al, using the mitochondrial genes encoding subunits 1-3 and cytochrome b, provided strong support for the theory of fungi and animals as sister groups, and proposed setting Spizellomycetales as fungi base rather than Blastocladales. Another strong support for fungi and animals as sister groups comes from Baldauf's and Palmer's studies who used conserved nucleus genes for actin, and - tubulin, histones, and the translation, elongation factor Ef - 1 . Dollittle et al. conducted a study based on 53 different genes that encode enzymes, and the results showed that the fungi have divergated from animals less than about 965 million years ago. Bowen et al. sequenced chitin synthase genes, belong to three gene families, and they performed tree in which the fungi are divided into 3 classes. Seifert et al., and Kuhls et al, using a sequence of 18S and 28S ribosomal genes, determined phylogenetic relationships between sexual and asexual fungi that have previously been regarded as different species. The study with carrots and bread mold, based on genes of subunits of F1 - ATP – ase, showed the presence of vertical gene transfer.

For many phylogenetic questions ribosomal gene sequences do not offer clear answers. The sequences of other genes and different characteristics are wanted and welcome. Order, work, discipline, new knowledge, new ideas, new technological advances, increasing amounts of money intended for science, better linkages and cooperation of scientists around the world, can help us and also alleviate our way of approaching the true evolution that is essential to all of humanity and will, at least in part, offer an answer to man's eternal questions of his origin, development, relationships and ultimately purposefulness of life.