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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:119086

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**



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 Majić
Preddiplomski studij biologije
Mentor: prof. dr. sc. Mirjana Kalafatić
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 – kodirajući 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. Bičevi 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 prabičaša. Mogu biti monecične – jednodomne (heterokarija ili razno jezgrenost) ili diecične – 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).

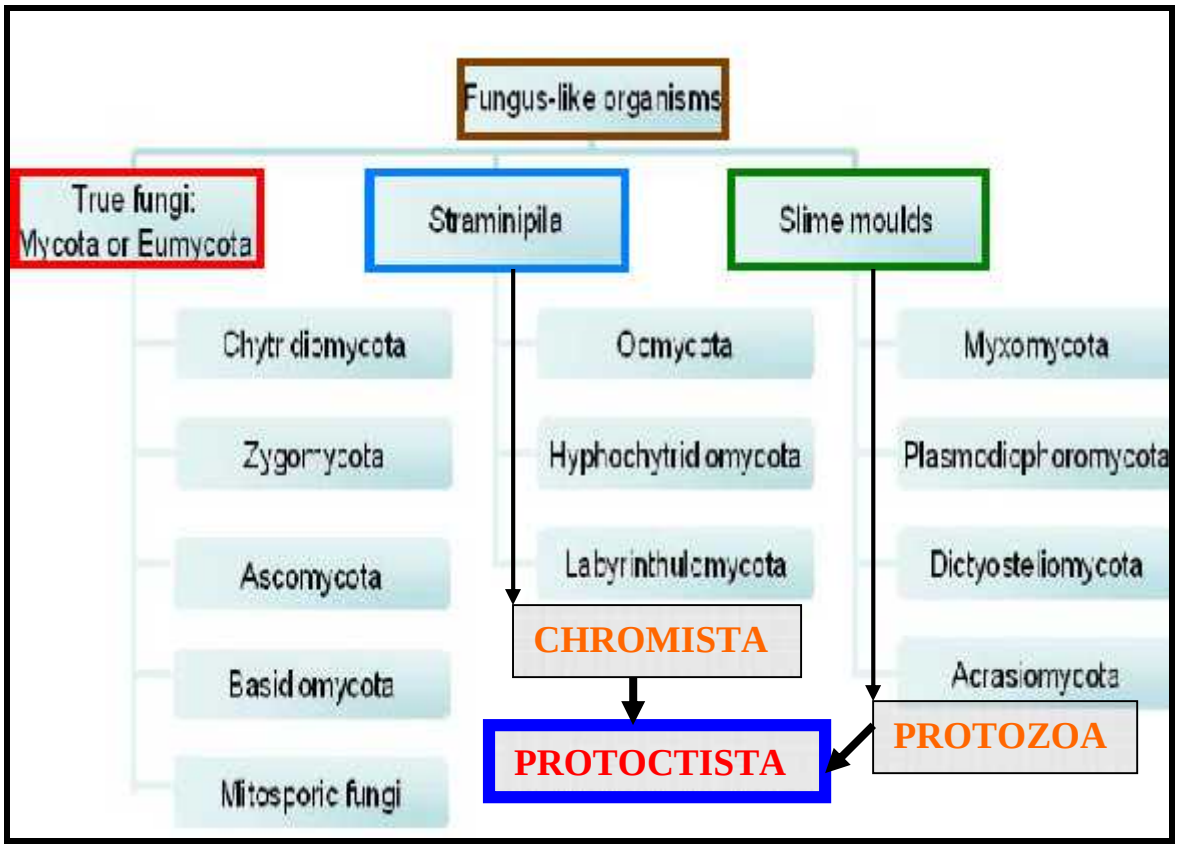
Zbog nemogućnosti samostalne produkcije organskih tvari, gljive pripadaju obligatnim heterotrofima. Većinom su: saprofiti, paraziti, nekrofiti i simbionti. Saprofitske gljive se hrane uginulom organskom materijom pomoću ekstracelularne probave. Parazitske gljive parazitiraju na biljkama, životinjama i čovjeku. 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 sepritanjem hifa (egzospore). Spore su lagane i najčešće brojne. Gljive posjeduju i dodatno nespolno razmnožavanje raspadanjem micelija čime 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 učvršćivanja stručka. Tako razlikujemo gljive bez stručka, te one kod kojih je stručak pričvršćen lateralno, ekscentrično ili centralno.

Carstco 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 prilagođeno 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 ponavljajuće regije unutar jezgre

Najčešće korištena DNA u filogenetskim istraživanjma gljiva je ona smještena u ponavljajućim regijama ribosomske DNA u jezgri. Jedan od razloga česte korištenosti ove DNA u filogenetskim istraživanjima jest taj što su ribosomske genske nakupine gljiva raspoređene u oko 200 uzastopnih ponavljanja. Zahvaljujući tome, svaka jezgra sadrži 200 ili više jednakih kopija regije što povećava šansu pronalaska netaknute kopije u uzorku koja se može upotrijebiti u molekularnim analizama. Još jedna prednost rDNA regija je ta što one nude mogućnost uspoređivanja na mnogim taksonomskim razinama. Unutar rDNA ponavljanja nalaze se 3 kodirajuća gena (18S, 5.8S i 28S) i 2 razmaka (ITS 1 i ITS 2), dok se treći razmak (IGS) nalazi između parova ponavljanja. 18S, 5.8S i 28S geni, visoko konzervirani i opće 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 lakoći dizajniranja početnica. Naime, univerzalne 18S rRNA genske početnice, npr., umnažaju DNA molekule insekata kao i DNA molekule crvenih algi.

U nekim slučajevima, presudan razlog odabira rRNA gena jest taj što mnoge sekvence, pohranjene u genetičkoj 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. Međutim, taj slučaj će ostati hipotetski još neko vrijeme zbog skupoće i dugotrajnosti sekvencioniranja DNA. Kompletne sekvence su dostupne za kraće 5.8S i 18S gene, ali ne i za duže 28S gene.

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

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

2.3. Protein – kodirajući geni

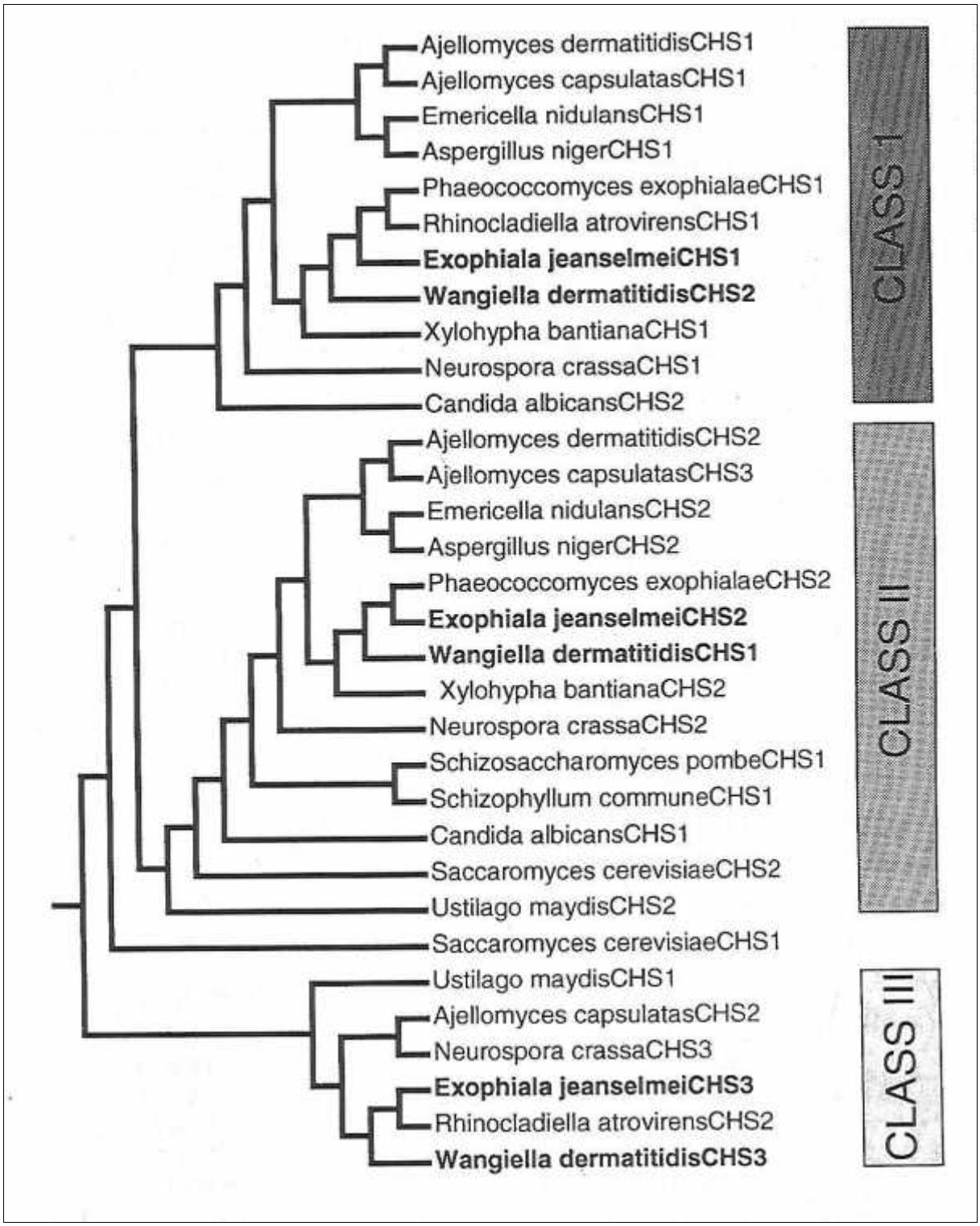
Proteinske sekvence, u svrhu filogenetskih istraživanja, posjeduju nekoliko prednosti u odnosu na rRNA genske sekvence. Tako je homologiju i konvergenciju lakše prepoznati u proteinskim sekvencama izgrađenim od 20 aminokiselina nego u DNA sekvencama napravljenim od 4 nukleotida. Trajne promjene u protein – kodirajućim genima su rijetke jer insercije i delecije često 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 počevši od dizajniranja početnice.

Poput rRNA sekvenci jezgre, tako su i mitohondriji i njihovi protein – kodirajući geni prisutni u više kopija unutar većine stanica. Mitohondrijski geni imaju kvalitetu lakog uvišestručavanja uz odgovarajuću početnicu, 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 Pquina 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 gljiva rađe nego Blastocladiales.

Jezgrini protein – kodirajući geni su obično prisutni u jednoj kopiji po jezgri, tako da njihovo uvišestručenje zahtjeva kvalitetan uzorak DNA. Samo nekoliko istraživanja odnosa među gljivama bilo je bazirano na jednoj kopiji jezgrinih gena. Jedno od takvih istraživanja su proveli Baldauf i Palmer, koristeći konzervirane gene jezgre za aktin, α i β – tubulin, histone i translacijski, elongacijski faktor Ef - 1α, 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 miliuna godina.

Geni, korišteni u gore navedenim istraživanjima, bili su odabrani jer je zaključeno da nisu prošli horizontalni transfer gena i česte genske duplikacije. Naime, geni koji dupliciraju tvoreći 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. Uvišestručavanjem gena hitin sintaze dobili su smjesu hitin sintaza iz 2 ili 3 obitelji, te su ih potom razdvojili klonirajući produkte PCR – a i razvrstavajući ih na temelju sličnosti. 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 β 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, tvoreći klastere s *E. coli* rađe 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 ZAKLJUČIVANJE I VRIJEME DIVERGENCIJE GLJIVA NA OSNOVI 18S rRNA GENSKIH SEKVENCI

Kako bi se pokazale jačina i ograničenost stvaranja stabala pomoću 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 uključivale jednog bičaša s ovratnikom (Choanoflagellate) i 2 člana grupe ribljih parazita. Pronađeno je 45 jednako štedljivih stabala koja se razlikuju u redoslijedu grananja (Slika 3.). Tako je redoslijed grananja unutar Ascomycota različit u svim stablima, unutar Archiascomycota varira od stabla do stabla, dok unutar Euascomycetes redoslijed 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 između parova vrsta može koristiti za procjenu njihovih vremena divergencije. Ova tvrdnja je bila korištena u istraživanjima bakterija, biljaka, gljiva, životinja i ljudi.

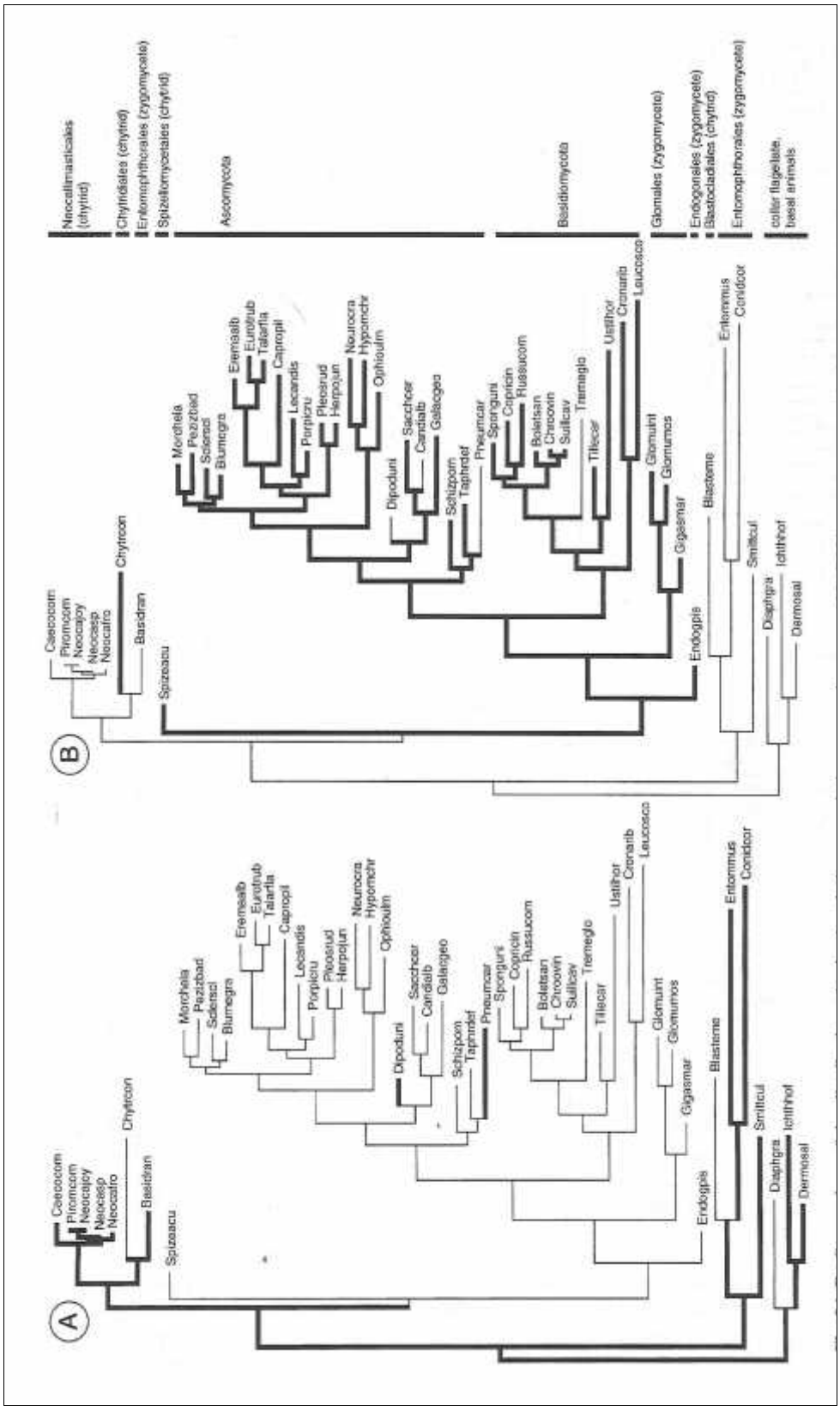
Kako bi se dobilo vremensko stablo gljiva pod pretpostavkom molekularnog sata, korišten je filogenetski skup podataka i jedno od 45 jednako skromnih stabala iz tog skupa podataka (opisano gore). Potom je korištena maksimalna vjerojatnost (PAUP 4.0d55) kako bi se izračunale duljine grana stabla (Slika 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, utvrđena je povezanost između točaka u geološkoj skali vremena i postotka supstitucija važnih za divergenciju gljiva. Ukupni odnos između geološkog vremena i supstitucije nukleotida procjenjen je na 1,26 % na 100 miliuna godina (Slika 5.). Iz slike 5. se tako da pročitati kako je npr. rod Glomales divergirao od Ascomycota i Basidiomycota prije oko 600 miliuna godina.

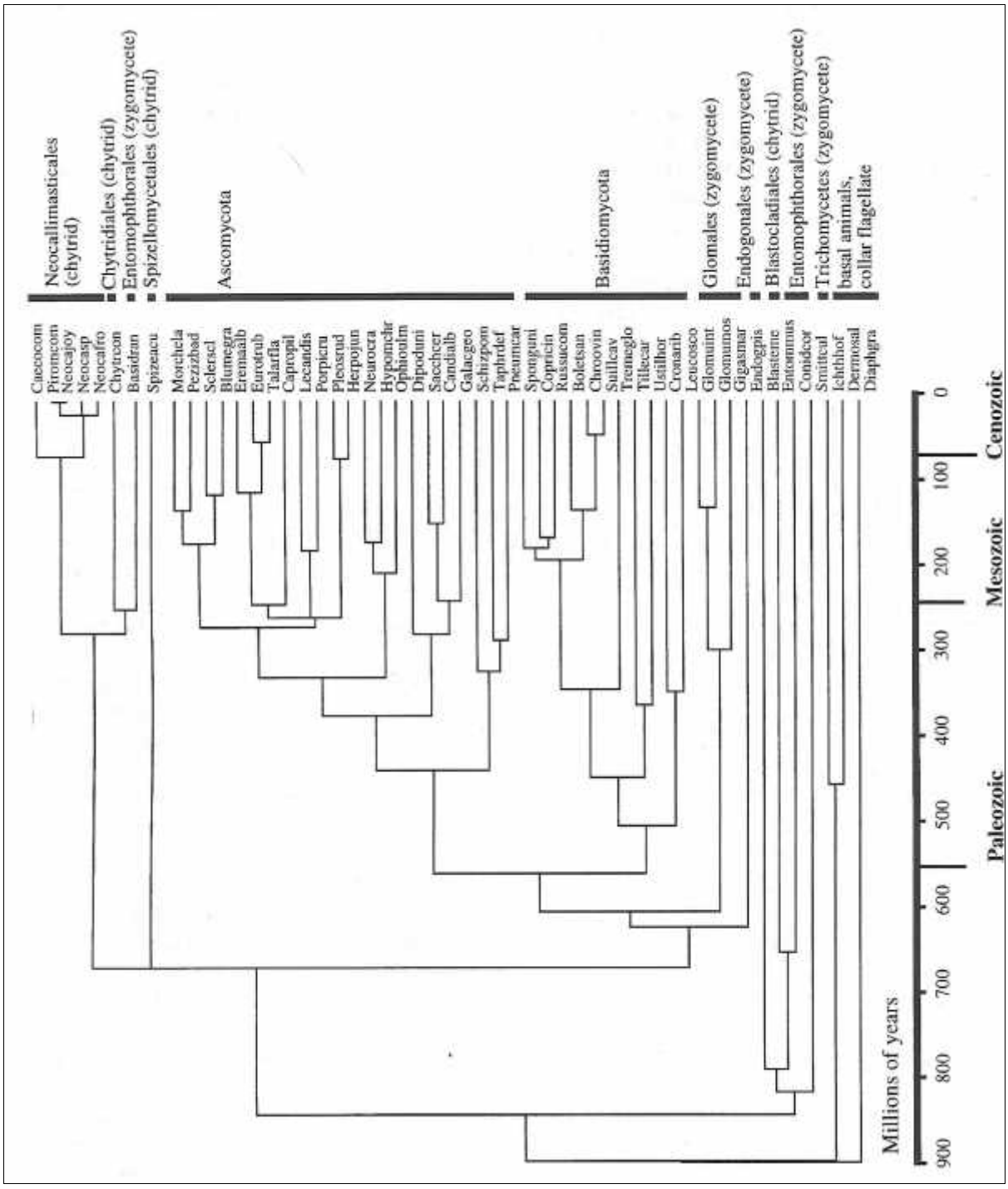
Tablica 1. Korištene vrste u filogenetskim analizama i pristupni brojevi njihovih 18S rRNA gena (preuzeto iz K. Esser and P:A: Lemke, 2001. The Mycota Systematics and Evolution VII, Part B).

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

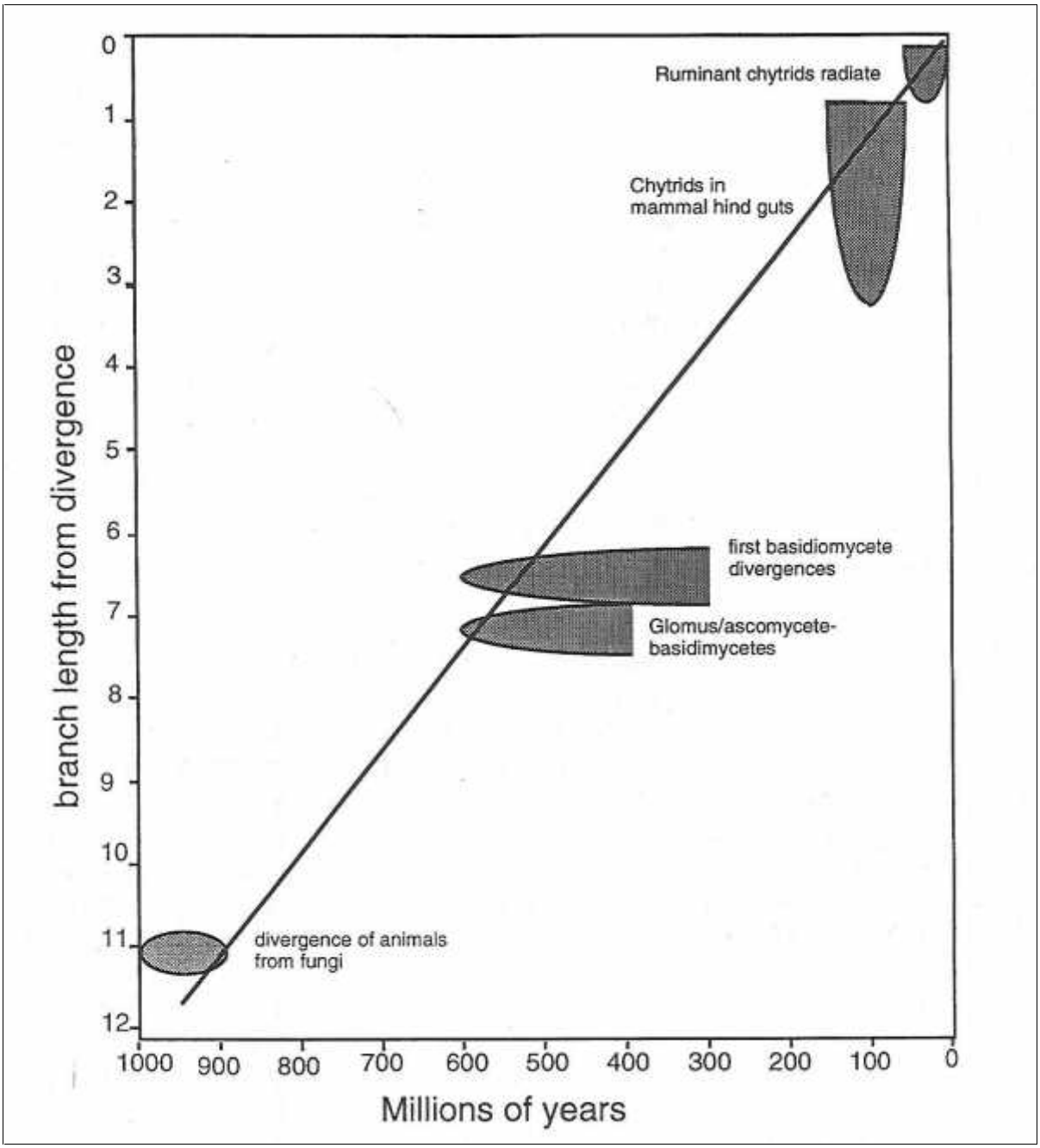
* GenBank database accession numbers (http://www3.ncbi.nlm.nih.gov/Entrez/).



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 asocirane s biljkama, uključujući endosimbionte, patogene i saprofite, 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 rođaci gljivama. Naime, gljive ne nalikuju životinjama na prvi pogled, ali po svom ponašanju i posjedovanju bičeva, 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. Bičevi i bazalne gljive

Među gljivama, jedino predstavnici Chytridiomycota imaju bičeve, a to je vjerojatno karakteristika zadržana od pretka protista. Da li je tokom evolucije kopnenih gljiva došlo do jednog ili više gubitaka bičeva 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 bičeva, koje čine klaster ispod Chytridiomycota ili su njihove sestrinske svojte, dolaze od istog pretka sa bičevima 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 bičeve, 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 miliuna 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 miliuna godina pa čak i ranije. To je oko 140 miliuna godina ranije od bilo kojeg dokaza vaskularnih biljaka koje su sada domaćini tim obligatnim endomikoriznim gljivama. Razlika između vremenskih procjena, za gljive i domaćine, može biti uzrokovana varijacijama stope u evoluciji sekvenca ili može biti da su gljive početno bile u simbiozi sa precima vaskularnih biljaka sljedeći ih na kopno.

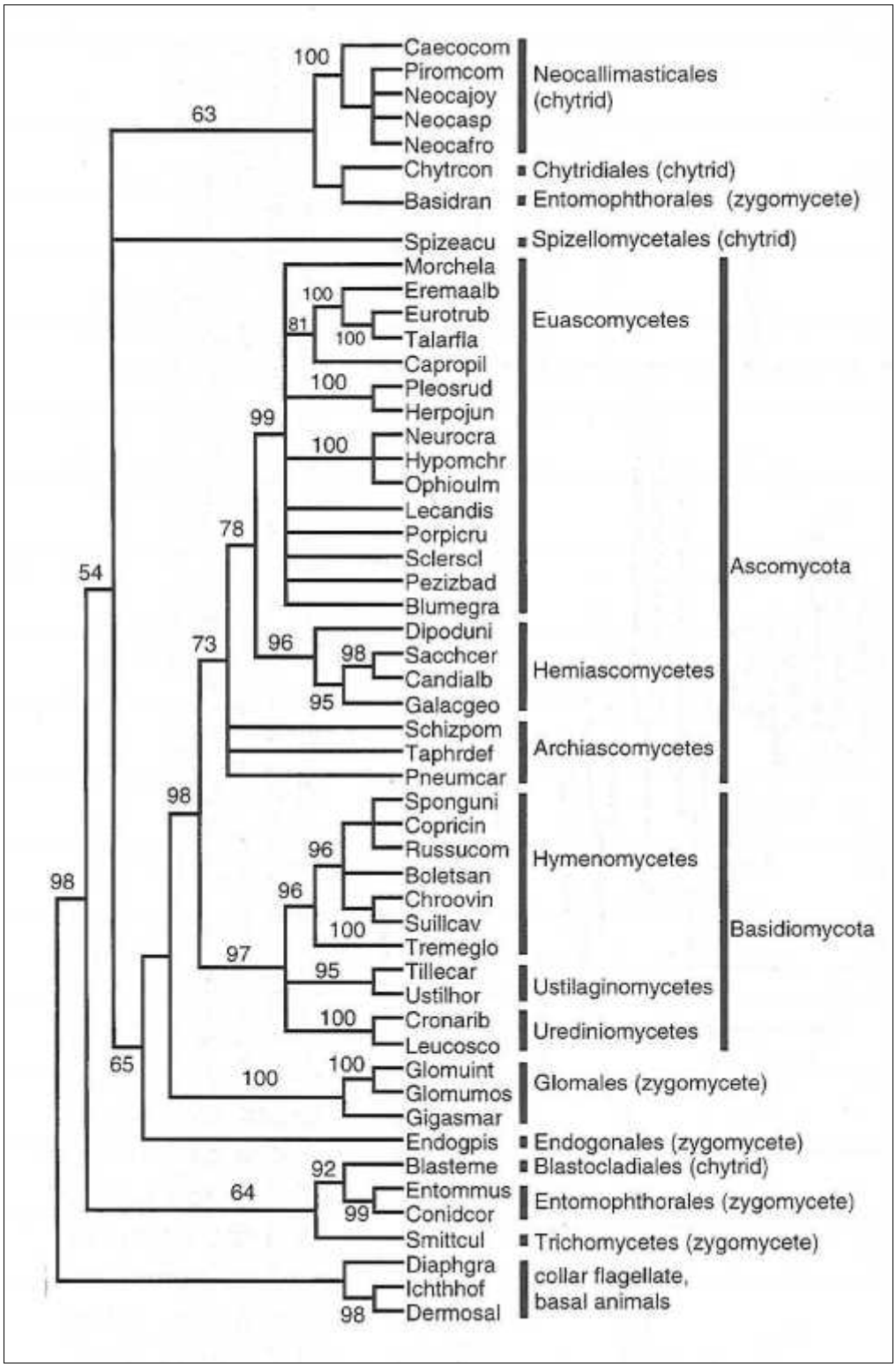
3.3. Radijacija kopnenih gljiva: porijeklo Ascomycota

Stablo, izvedeno iz 18S rRNA sekvenci, pokazuje kako su Ascomycota i Basidiomycota divergirali jedni od drugih u Paleozoiku, prije oko 500 miliuna godina (Slika 4.). U Ascomycota, rana radijacija je iznjedrila Archiascomycetes (raznolika grupa gljiva sa i bez tijela sa hifama. Osim što nema očitih morfoloških osobina koje ujedinjuju tu svojtu, one čak 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 pupajuće 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 pupajući 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 redoslijeda 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 (uključujući *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 konidia (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 učena. 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 Hypocreles, 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 doliporama 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 miliuna godina. U slučaju da je ova procjena filogenije i vremena točna, onda bi trebalo biti moguće pronaći fosilizirane spore mnogo starije od 290 miliuna godina koliko su stare one pronađene u pensilvanijskom ugljenu.

4. ZAKLJUČCI

Kako bi se približili što točnijoj 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 miliuna 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 vertikalan 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 točaka u geološkoj skali 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 rađe nego Blastocladiales. 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 i β – tubulin, histone i translacijski, elongacijski faktor Ef - 1α. 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 miliuna 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, koristeći 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 β 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 čovječanstvu i koja će, bar djelomično, ponuditi odgovor na čovjekova 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 Blastocladiales. 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, α and β - tubulin, histones, and the translation, elongation factor Ef - 1α. 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 β 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.