

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
Přírodovědecká fakulta
Studijní program Biologie
Studijní obor Biologie



Barbora Bílková

Evoluce molekulární interakce hostitele a parazita
Evolution of molecular interaction between host and parasite

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Školitel: RNDr. Michal Vinkler, Ph.D.

Praha 2012

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 21.8.2012

.....

Barbora Bílková

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucímu práce RNDr. Michalu Vinklerovi, Ph.D za odborné vedení, pomoc, věnovaný čas a cenné rady, které mi poskytl při zpracování této práce. Dále bych ráda poděkovala Marie Pizzalové za korekturu a pomoc s jazykovou složkou práce a Marku Sýkorovi za formální úpravu práce. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat své rodině a přáteli za podporu během celého studia.

Abstrakt

Vzájemný vývoj (koevoluce) hostitele a parazita je dlouhodobě předmětem zájmu biologického výzkumu, a to zejména z důvodu negativního vlivu parazitů na hostitele a potřebě člověka se tomuto negativnímu působení bránit. Přesto jsou doklady o fungování koevoluce stále neúplné a teorie a modely nejsou chápány jednotně. Vedle všeobecně známých teorií o koevoluci jako jsou teorie „Červené královny“ či koevoluční „závody ve zbrojení“, existují další modely jako např. „gene-for-gene“ nebo „matching allele“, které detailněji popisují společný vývoj hostitele a parazita a podstatu udržování genetické variability v jejich evoluční interakci. Přestože existují studie mapující vzájemný vývoj parazitů a hostitelů, často chybí jejich propojení s teoretickými modely a naopak práce popisující modely často postrádají dostatek relevantních příkladů. Tato práce proto shrnuje teoretické poznatky a uvádí příklady systémů hostitele a parazita a příklady molekul, které odpovídají chování popisovaných modelů.

Klíčová slova: parazit, hostitel, antagonistická koevoluce, parazity zprostředkovaná selekce, Červená královna, závody ve zbrojení, model gene-for-gene, model matching-allele

Abstract

Coevolution between host and parasite is a long-term object of scientific interest, mostly because of negative influence of parasites and human need to defend against it., The evidence concerning host-parasite coevolution mechanisms is, however, still incomplete and various models and theories are considered separately, out of the general concept. Beside generally well-known theories such as the “Red queen” theory or the coevolution “arms race” theory, several other models were proposed, e.g. the “gene for gene” model or the “matching allele” model, which describe detailed aspects of host-parasite coevolution and principles of genetic-variability maintenance in their interaction. Although there are many studies mapping reciprocal evolution of hosts and parasites, the connection between empirical evidence and theoretical models is often missing. Therefore, this thesis covers theory on host-parasite evolutionary interactions and provides examples of host-parasite systems and molecules, which correspond to behavior of described models.

Key words: parasite, host, antagonistic coevolution, parasite mediated selection, Red queen, arms race, gene-for-gene model, matching-allele model

Obsah

Úvod	1
1. Podmínky koevoluce mezi parazitem a hostitelem.....	2
2. Základní teorie koevoluce hostitele a parazita	2
2.1. Teorie Červené královny.....	3
2.2. Koevoluční závody ve zbrojení.....	4
2.3. Trench warfare	9
3. Náklady na rezistenci	9
3.1. Fyziologická nákladnost	10
3.2. Evoluční nákladnost.....	12
4. Náklady na virulenci	14
5. Modely molekulární interakce, vzniku a udržování polymorfismu	14
5.1. Gene-for-gene	15
5.1.1. Multilokusový model gene-for-gene	16
5.1.2. Inverse-gene-for-gene	18
5.1.3. Příklady systémů odpovídajících modelu gene-for-gene	19
5.2. Matching-allele	22
5.2.1. Příklady systémů odpovídajících modelu matching-allele.....	23
5.3. Kombinace modelů gene-for-gene a matching-allele	26
5.3.1. Příklady komplexnějších interakcí	27
6. Další faktory ovlivňující interakci	28
Závěr	30
Literatura	31
Seznam obrázků.....	36

Úvod

Parasitismus je nejspíše nejčastější životní strategií organismů (Windsor 1998). Paraziti netvoří taxonomickou skupinu, ale skupinu ekologickou, v této práci jsou proto pojmem parazit označovány organismy mnohobuněčné, jednobuněčné i viry. Jedná se o organismy, které jsou se svým hostitelem v těsném fyzickém kontaktu po významnou část svého života, žijí na úkor tohoto hostitele, způsobují mu újmu a snížení biologické zdatnosti (fitness). Předpokládá se, že paraziti kvůli ztrátám, které svým hostitelům způsobují, vytvářejí jeden z nejsilnějších selekčních tlaků na organismy, tzv. parazity zprostředkovanou selekci (parasite-mediated selection), zvýhodňující jedince s lepší schopností odolávat parazitům. Můžeme ji rozdělit na parazity zprostředkovanou přírodní selekci (parasite-mediated natural selection), a sexuální selekci (parasite-mediated sexual selection). Při parazity zprostředkované přírodní selekci jsou ve výhodě neparazitovaní jedinci, a to díky lepší schopnosti přežívání, u sexuální selekce jsou neparazitovaní jedinci upřednostňováni svými sexuálními partnery, což zvyšuje jejich biologickou zdatnost. Proto také hostitel, ve snaze se parazitovi ubránit, vytváří obranné mechanismy, především imunitní systém, čímž vytváří selekční tlak na parazita. Tento reciproční selekční tlak mezi parazitem a hostitelem se nazývá antagonistická koevoluce. I přes silný selekční tlak můžeme v populacích hostitele i parazita sledovat variabilitu. To znamená, že pozorujeme vzájemnou koexistenci jedinců schopných lépe a hůře odolávat parazitům. Vysvětlit tento jev je jedním z hlavních úkolů současné evoluční biologie, především díky přesahu do medicínských a epidemiologických oborů. Základní teorie o vzájemném soužití a evoluci parazita a hostitele byly popsány již v průběhu minulého století a i přes všeobecné přijímání jejich platnosti nebyly mnohé z nich dostatečně ověřeny. Také příklady jejich fungování byly zaznamenány jen velmi zřídka, zvláště ve volně žijících populacích. Některé z modelů dokonce nejsou ani všeobecně známy a používány. Teorie a modely jsou bohužel pojímány volně a nepřesně, proto je nutné v nich ustanovit určitou hierarchii a rozlišovat mezi obecnými teoriemi o koevoluci a teoriemi, potažmo modely, které se snaží popsat nejen způsob udržení polymorfismu v populacích, ale i způsob interakce molekul hostitele a parazita. V dnešní době, díky propojení evoluční biologie, ekologie a molekulární biologie, máme možnost lépe ověřit platnost navržených hypotéz a podrobněji prozkoumat vzájemný vývoj vztahu mezi parazitem a hostitelem na všech jeho úrovních. Cílem této práce je shrnout

modely a teorie koevoluce hostitele a parazita, pokusit se je uspořádat, najít vhodné příklady demonstrující jejich platnost a navrhnout směr dalšího výzkumu interakcí hostitele a parazita. Z důvodu omezeného rozsahu bakalářské práce nebylo možné zahrnout a detailně diskutovat všechny aspekty dané problematiky.

1. Podmínky koevoluce mezi parazitem a hostitelem

Vývoj, kterému hostitel a parazit podléhají díky recipročnímu selekčnímu tlaku, který vzájemně vytvářejí se označuje jako antagonistická koevoluce. Koevoluce je neustálý vývoj parazita a jeho genotypu, který je díky úzké interakci ovlivňován genotypem hostitele a zároveň vývoj hostitelského genotypu, který je způsoben selekcí ze strany parazita. Antagonistou je pro hostitele parazit a pro parazita hostitel, což znamená, že mají ve vzájemném vývoji opačné zájmy. Jeden z nejzásadnějších systémů, který se u hostitele vytváří jako reakce na selekční tlak ze strany parazita, se nazývá imunitní systém (Danilova 2006). Aby mohla koevoluce probíhat, musí být znaky do ní zapojené dědičné. Těmito znaky jsou především schopnost parazita nakazit hostitele (v této práci popisovaná jako virulence) a schopnost hostitele parazitovi odolávat (rezistence). Nutným požadavkem je také genetická variabilita v interagujících znacích parazita a hostitele, především je ale nutný nezanedbatelný vzájemný efekt těchto znaků na fitness obou z antagonistů, přičemž tento efekt musí záviset na kombinaci znaků hostitele a parazita (Woolhouse et al. 2002). Pokud probíhá mezi dvěma druhy koevoluce, každý z koevolujících druhů odpovídá na změnu znaku druhého druhu svou změnou. Koevoluci organismů lze tedy pozorovat a popisovat na úrovni molekul a genů, které tyto molekuly kódují.

2. Základní teorie koevoluce hostitele a parazita

Teorie uvedené v této kapitole vysvětlují, jakým způsobem může probíhat koevoluce mezi hostitelem a parazitem. Většina z těchto teorií je používána nejen pro popis interakcí hostitele a parazita, ale také obecně pro popis antagonistické koevoluce druhů. Tyto teorie se nezabývají detailně principem a způsobem vzájemného působení molekul, ale spíše obecně možnými výstupy antagonistické koevoluce.

2.1. Teorie Červené královny

Teorie Červené královny (Red Queen hypothesis) je nejen principem popisujícím koevoluční interakci, ale také jednou z teorií vzniku pohlavního rozmnožování (Hamilton 1980, Brockhurst 2011). Výraz Červená královna je v literatuře používán nejednotně, někdy jako koevoluční princip pohánějící vývoj druhů vedoucí k sexuálnímu rozmnožování, jindy jako konkrétní mechanismus a dynamika interakce hostitele a parazita.

Teorii Červené královny nazval Van Valen (1973) podle postavy červené šachové figurky z knihy Alenčina dobrodružství v říši divů a za zrcadlem (Carroll 1996), která Alence říká, že je nutné běžet co nejrychleji, abychom zůstali alespoň na místě. V evoluční biologii tato parafráze znamená, že pro přežití každého organismu je nutností být schopen neustálého evolučního vývoje nejméně stejně rychlého jako ostatní organismy, aby se jim dokázal přizpůsobit. Tento princip se neuplatňuje pouze mezi parazitem a hostitelem, ale obecně v koevoluci mezi všemi druhy. Sexuální rozmnožování a rekombinace, díky kterým vznikají v každé generaci nové kombinace genotypů, vytváří obrovskou variabilitu v rámci druhu, která je v měnícím se biotickém prostředí výhodná, protože právě díky ní může vzniknout alespoň několik jedinců přizpůsobených aktuálním podmínkám (Lively 2009, Flegr 2009). Protože paraziti vytvářejí obrovský selekční tlak na hostitele, mohla by dle teorie Červené královny právě koevoluce mezi parazitem a hostitelem být příčinou vzniku sexuálního rozmnožování (Hamilton 1980, Hamilton, Axelrod and Tanese 1990, Ladle 1992).

Teorie Červené královny se v koevoluci mezi hostitelem a parazitem používá jako teorie vysvětlující vysokou variabilitu v genech pro rezistenci hostitele a pro virulenci parazita (tedy v genech účastnících se interakce hostitel-parazit). Dle popisované teorie jsou populace (parazitická i hostitelská) neustále polymorfní a tento polymorfismus je udržován negativní frekvenčně závislou selekcí (Woolhouse et al. 2002, Decaestecker et al. 2007), tedy jevem, při kterém výhodnost alely pro jejího nositele závisí na tom, s jakou frekvencí je zastoupena v populaci. Čím častěji se v populaci alela vyskytuje, tím méně výhodná je pro svého nositele (závislost je negativní). Pro parazita je výhodné adaptovat se na nejčastější variantu genu přítomnou v populaci, protože mu to přináší možnost napadnout největší množství hostitelů. Ve výhodě jsou tedy hostitelé nesoucí jinou, vzácnou alelu. Vzniká tak efekt popisovaný jako výhoda vzácného genotypu. Díky tomu, že vzácná alela přináší svému nositeli výhodu, začne se v populaci hostitele šířit. Jakmile její frekvence v populaci stoupne, začne být pro parazita výhodné se na ni přizpůsobit a daná hostitelská alela tak svou výhodu ztrácí. Takový vývoj dokumentuje například koevoluce

mezi sladkovodním plžem písčanicem novozélandským (*Potamopyrgus antipodarum*) a jeho parazity motolicemi rodu *Microphallus*. Nejčastější genotyp plže byl nejvíce napadán parazity (Dybdahl and Lively 1998), ale pouze svými sympatrickými parazity (Lively and Dybdahl 2000). Experimentální nákaza parazity z jiného prostředí neukázala rozdíl mezi napadením častých a méně častých genotypů. To ukazuje, že parazité se přizpůsobují nejčastějšímu hostitelskému genotypu, se kterým jsou v koevoluci (Lively and Dybdahl 2000).

Výsledkem popsaného mechanismu je podle teorie Červené královny koexistence většího množství variant genů hostitele interagujících s parazitem, a stejně tak většího množství variant genů parazita. Pro hostitele je tedy výhodné produkovat geneticky co nejrozmanitější potomstvo, což je umožněno právě sexuálním rozmnožováním.

Jedna z mála studií, které testují teorii Červené královny, byla provedena na vodním korýši *Daphnia magna* a bakteriálním endoparazitovi *Pasteuria ramosa* (Decaestecker et al. 2007). Parazit i hostitel tvoří banku dormantních propagulí, které se hromadí na dně jezera, ve kterém žijí. Z různých vrstev sedimentu na dně jezera byly odebrány vzorky hostitele i jeho parazita, což umožnilo infikovat hostitele parazitem z jeho vlastní evoluční minulosti, přítomnosti a budoucnosti. Hostitel odebraný z jedné vrstvy byl vystaven parazitovi z vrstvy ve větší hloubce (minulost), ve stejné hloubce (přítomnost) a v menší hloubce (budoucnost). Parazit byl nejefektivnější v nákaze hostitele ze stejné vrstvy, ale už ne z následující, ani z předchozí. Tyto výsledky představují doklad o tom, že jeden genotyp není univerzálně výhodný, ale jeho výhodnost se v průběhu času mění, a parazit se přizpůsobuje vždy svému současnému hostiteli (Decaestecker et al. 2007). Protože však neznáme genotypy parazitů a hostitelů, ani polymorfismus v jednotlivých časových úsecích, nemůžeme s jistotou určit, zda se skutečně jedná o vývoj podle teorie Červené královny, přestože to výsledky naznačují.

2.2. Koevoluční závody ve zbrojení

Koevoluční závody ve zbrojení jsou teorií, která je v určitém smyslu s teorií Červené královny spojována jako jedna z jejích součástí, tyto dvě teorie ale mohou být rovněž stavěny do opozice, protože koevoluce probíhající podle jednoho nebo druhého modelu může pokaždé vést k rozdílným výsledkům.

Neustálá snaha parazita napadnout co největší množství hostitelů za účelem maximalizace své reprodukční zdatnosti a snaha hostitele se těmto útokům bránit (se stejným záměrem), by měla vést k neustálému vylepšování schopnosti parazita napadnout hostitele a k vylepšování hostitelského imunitního systému. Zjednodušeně řečeno, na každý parazitární

útok reaguje hostitel protiútokem. Tento evoluční princip uplatňující se nejen v koevoluci hostitele a parazita se označuje jako koevoluční závody ve zbrojení (v anglické literatuře arms race) (Dawkins and Krebs 1979, Woolhouse et al. 2002). Vylepšení obranného mechanismu hostitele vytváří tlak na parazita k přizpůsobení tomuto mechanismu. Z tohoto zápasu není cesty zpět, protože jakékoli zhoršení nebo návrat mechanismu na původní úroveň by znamenalo prohru v zápase (Lythgoe and Read 1998). Reciproční zvyšování obrany hostitele i parazita v průběhu vzájemné koevoluce lze sledovat například na porovnání dvou hostitelských populací plže *Biomphalaria glabrata* a jejich sympatrických parazitů *Schistosoma mansoni* (Mone et al. 2011). Jednou ze složek imunitního systému měkkýšů, které likvidují parazitické larvy, je ROS (reactive oxygen species) produkovaný cirkulujícími buňkami imunitního systému hemocyty. V obraně měkkýše *B. glabrata* před parazitem *S. mansoni* hraje z ROS zásadní roli především H_2O_2 (Hahn, Bender and Bayne 2001). Jako obranu proti volným radikálům produkuje *S. mansoni* ROS-detoxifikační enzymy tedy antioxidanty (Mourao et al. 2009). U parazitů odebraných z populace měkkýšů s celkově zvýšenou produkcí volných radikálů i H_2O_2 byla prokázána vyšší produkce detoxifikačních enzymů a zároveň vyvinuta menší náchylnost k H_2O_2 . Naopak u populace měkkýšů, kteří produkovali menší množství volného radikálu H_2O_2 , se vyskytovali parazité náchylnější, produkující menší množství ROS-detoxifikačních enzymů. Stupeň obrany proti parazitovi v obou populacích tedy koreluje s obranou parazita proti imunitnímu systému hostitele (Mone et al. 2011).

Koevoluční závody ve zbrojení a princip Červené královny ve smyslu vzniku sexuálního rozmnožování, jsou často spojovány do jedné teorie. Sexuální rozmnožování vedoucí ke vzniku různorodého potomstva je pravděpodobně adaptací rozšířenou díky neschopnosti hostitelů vyvíjet se v koevolučním zápase tak rychle jako parazité, kteří jsou zvýhodněni rychlejším rozmnožováním, kratší generační dobou a také silnějším selekčním tlakem ze strany hostitele. I přesto je nutné definovat zvlášť podstatu těchto dvou procesů, protože dynamika koevolučního zápasu ve zbrojení se liší od dynamiky Červené královny. Díky zápasům ve zbrojení by mělo docházet k fixaci nejvýhodnějších alel v populaci a k takzvanému vymetení polymorfismu (Woolhouse et al. 2002, Gandon et al. 2008, Aguileta et al. 2009, Thrall et al. 2012). To znamená, že převládne pouze nejvýhodnější alela jak pro hostitele, tak pro parazita, následkem čehož se v populaci přestane vyskytovat více variant genu. Polymorfismus v populaci hostitele i parazita je podle hypotézy zápasů ve zbrojení pouze přechodný, neboť jakmile se objeví v populaci alela výhodnější než ostatní, dojde postupně k jejímu rozšíření. Na rozdíl od teorie Červené královny je výhodná alela

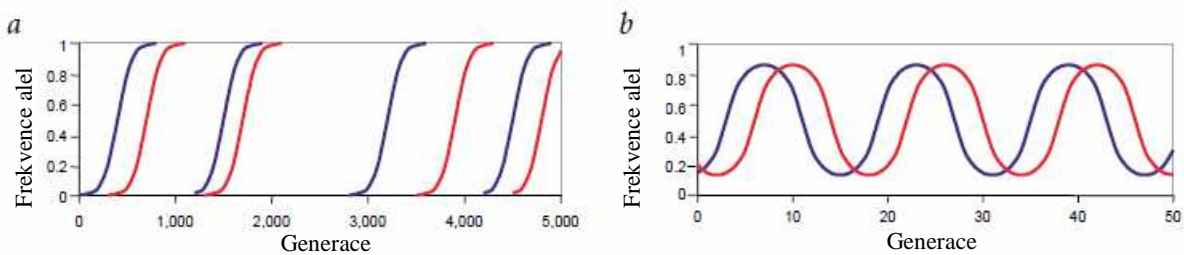
oproti ostatním výhodnější vždy, bez ohledu na frekvenci, a proto dochází k její fixaci. Koevoluce řízená zápasem ve zbrojení je pod vlivem takzvané přímé selekce (directional selection), která vede ke vzniku hostitele rezistentního ke všem parazitům a parazita schopného infikovat všechny hostitele (na rozdíl od fluktuující selekce, což je selekce vedoucí k variabilitě v populaci) (Thompson 1994). Antagonista, který rychleji získá evoluční novinku zvyšující jeho vlastní zdatnost, se dostává do výhody, proto koevoluční závody ve zbrojení vystavují hostitele i parazity selekci vedoucí k tvorbě nových mutací, tedy k vyšším mutačním rychlostem. Pomocí mutací se hromadí změny v obou koevolujících populacích (Woolhouse et al. 2002), proto teorie zápasů ve zbrojení předpokládá vysokou mutační rychlost genů imunitního systému i interagujících parazitárních genů a jejich rychlou adaptivní evoluci. Analýza genomu *Drosophila melanogaster* ukázala, že u tohoto druhu sice můžeme sledovat vysokou rychlost adaptivní evoluce genů imunitního systému, avšak pouze u zlomku těchto genů (Obbard et al. 2009). Patří mezi ně především geny pro interferenční RNA (RNAi), které zajišťují obranu proti virům (Obbard et al. 2006). RNAi kódující sekvence mají též velmi malou diverzitu, a to patrně kvůli selektivnímu vymetení. Většina ostatních genů kódující molekuly imunitního systému se v substitučních rychlostech neliší od zbytku genomu (Obbard et al. 2009). To je pravděpodobně dáno vysokou mutační rychlostí virů, kterým se musí hostitel přizpůsobit. Nelze ale tvrdit, že pro všechny geny účastníci se hostitelsko-parazitární interakce platí předpoklad o vysokých mutačních rychlostech a selektivním vymetení (tedy rychlejšímu vývoji oproti zbytku genomu), který vychází z teorie zápasů ve zbrojení. Některé z genů účastníci se interakce mezi hostitelem a parazitem ani takovým změnám podléhat nemohou, protože by to vzhledem k jejich funkci nebylo prospěšné.

Čím déle je hostitelská populace v koevoluci s parazitickou pod působením přímé selekce, tím odolnější by měl být hostitel a infekčnější parazit (Buckling and Rainey 2002). Tuto přímou selekci působící v koevolučních závodech ve zbrojení můžeme testovat, pokud experimentálně nakazíme hostitele parazitem z jeho minulosti, přítomnosti a budoucnosti, podobně jako v příkladu u teorie Červené královny, avšak u koevolučních závodů ve zbrojení budeme očekávat oproti Červené královně odlišný výsledek. Větší infekčnost parazita se neprojeví jeho schopností účinněji napadnout současného hostitele, protože hostitel současně s vývojem parazita zlepšuje svou rezistenci, ale lepší schopností parazita napadnout hostitele ze své minulosti. Stejně tak neustále se vyvíjející hostitelova rezistence způsobí, že hostitel nejlépe odolává parazitovi ze své minulosti. Pokus s takovýmto výsledkem byl proveden na bakterii *Pseudomonas fluorescens SBW25*

a bakteriofágu SBW25Φ2 (Buckling and Rainey 2002). Bakterie se v několika oddělených populacích v laboratorních podmínkách vyvíjela společně s bakteriofágem po několik generací. Parazit se stal v průběhu koevoluce infekčnějším a bakterie vyvíjela stále vyšší míru rezistence. Bakterie se stala nejrezistentnější k sympatrickému parazitovi, což opět ukazuje koevoluční přizpůsobení společně se vyvíjejících populací (Buckling and Rainey 2002).

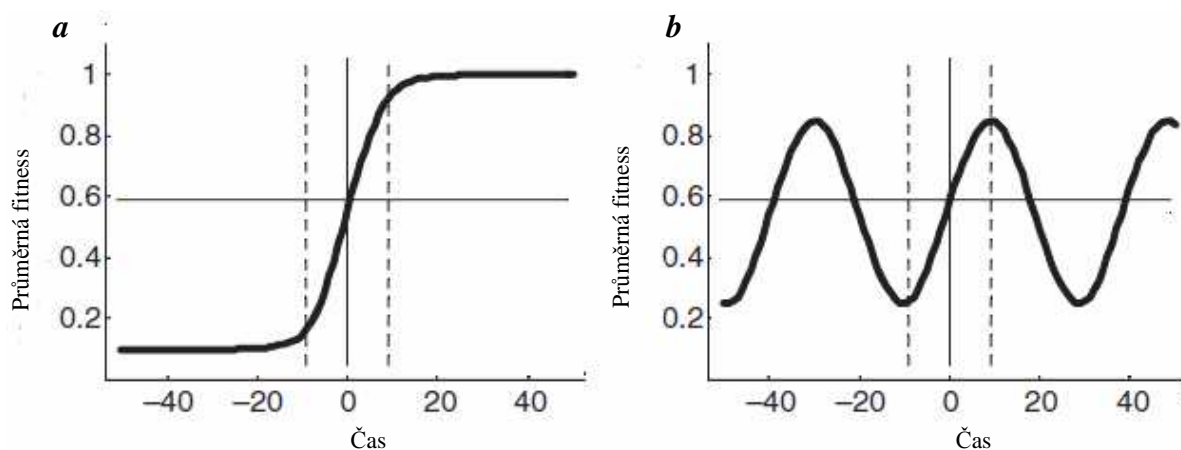
Neustálý nárůst virulence a rezistence byl pozorován spíše v laboratorních podmínkách, naopak ve volné přírodě jsou pozorovány spíše fluktuace a variabilita v populaci. Stejný bakteriální typ *P. fluorescens* SBW25, který se vyvíjel s bakteriofágem přímo v půdním ekosystému, podléhal oproti předchozímu pokusu odlišné koevoluční dynamice. Rezistence k bakteriofágu se v přirozených podmínkách neustále jednosměrně nezvyšuje společně s bakteriofágní infekčností, nýbrž oba znaky v čase fluktuují, což se projevuje tím, že hostitel je nejlépe přizpůsoben svému současnému parazitovi, mnohem lépe než svému antagonistovi z předchozích i budoucích generací (Gomez and Buckling 2011).

Přímá selekce je pravděpodobně možná pouze za stálých laboratorních podmínek, zatímco ve volně žijících populacích je koevoluce ovlivňována dalšími faktory. I pokud by hostitelsko-parazitická koevoluce fungovala na principu zápasů ve zbrojení, nebylo by patrně možné v reálných podmínkách pozorovat selektivní vymetení polymorfismu, ale spíše variabilitu v populaci způsobenou dalšími faktory, jak abiotickými, tak biotickými jako je nedostatek zdrojů nebo heterogenita prostředí (Buckling and Rainey 2002; viz kapitola 6). Důvodem, proč se vývoj jeví jako podléhající zápasům ve zbrojení, může být také krátká doba pozorování koevoluce. Pokud pozorujeme vývoj populací pouze po krátký časový interval, dynamika Červené královny a zápasů ve zbrojení se zdánlivě nemusí lišit (Gandon et al. 2008). Různé studie tedy ukazují, že v koevoluci mezi parazitem a hostitelem můžeme sledovat známky teoretických modelů, Červené královny i závodů ve zbrojení. Skutečná koevoluce mezi parazitem a hostitelem se ale pravděpodobně nechová pouze podle jednoho nebo druhého modelu a mohou v ní současně hrát roli principy popsané v obou teoriích.



Obr.č.1. Koevoluční závody ve zbrojení vs. teorie Červené královny (Woolhouse et al. 2002)

- a) koevoluční závody ve zbrojení: fixace a vymetení polymorfismu u hostitele (modře) a parazita (červeně).
- b) Červené královna: udržování polymorfismu v populaci hostitele i parazita



Obr č.2. Krátký časový interval koevoluce (Gandon et al. 2008)

Po určitý časový interval (ohraničeno přerušovanou čarou) se dynamika Červené královny neliší od dynamiky koevolučních závodů ve zbrojení.

- a) koevoluční závody ve zbrojení: schopnost parazita napadnout hostitele neustále stoupá. To se projeví jako schopnost parazita lépe nakazit hostitele ze své evoluční minulosti.
- b) Červená královna: parazitární schopnost nákazy se neustále nezvyšuje, parazit je nejlépe přizpůsoben svému současnému hostiteli.

2.3. Trench warfare

Další teorie, popsaná jako protiklad k závodům ve zbrojení na modelovém organismu *Arabidopsis thaliana*, je nazvána trench warfare (lze přeložit jako zákopová či poziční válka). Tento název odráží představu dlouhodobého stabilního a neměnného zápasu (Stahl et al. 1999). U *A. thaliana* byl nalezen polymorfismus v takzvaných R genech imunitního systému, tedy genech zajišťujících aniparazitární rezistenci (Grant et al. 1995). Jedinci nesoucí alelu *Rpm1* jednoho z těchto R genů jsou rezistentní k patogenům rodu *Pseudomonas*, naopak náchylní jedinci alelu *Rpm1* postrádají. I přesto byla nalezená frekvence alely *Rpm1* v populaci pouze 0.52. Výzkum ukázal, že rezistentní a náchylný typ se oddělily asi před 9,8 miliony lety (Stahl et al. 1999). Dlouhodobá koexistence dvou různě výhodných alel není ve shodě s teorií koevolučních závodů ve zbrojení, stejně jako zjištění, že alela *Rpm1* má nízkou substituční rychlost, tedy vysoký poměr synonymních ku nesynonymním substitucím (Stahl et al. 1999). Proto byl zaveden nový pojem „trench warfare“ jako název pro teorii opozitní k teorii koevolučních závodů ve zbrojení. Vzhledem k stabilně udržovanému polymorfismu by mohl být tento model součástí teorie Červené královny (viz kapitola 2.1.). Narozdíl od Červené královny ale trench warfare nemluví o proměně frekvence alel v populaci, nezmiňuje ani frekvenčně závislou selekci, přestože by zde mohla být mechanismem udržení polymorfismu. Model trench warfare se ve vysvětlení vzniku polymorfismu nijak neliší od modelu gene-for-gene (viz kapitola 5.1.), proto je otázkou, zda by měl být vůbec jako samostatný model definován. Spíše než na mechanismus interakce genotypů (kterou popisuje model gene-for-gene) klade model trench warfare důraz na fakt, že variabilita v populaci může dlouhodobě přetrvávat a že geny účastníci se koevoluční interakce nemusí být pod selekčním tlakem, který by vedl k fixaci a vymetení polymorfismu a k vysokým mutačním rychlostem. To vše ovšem, jak již bylo zmíněno, koresponduje s teorií Červené královny a modelem gene-for-gene (viz kapitola 5.1.).

3. Náklady na rezistenci

Existence nákladů na rezistenci je jedním z faktorů, které by mohly hrát roli v udržování polymorfismu v populacích hostitele. Za náklady na rezistenci je považováno zhoršení fitness rezistentních hostitelů oproti fitness náchylnějších hostitelů za absence parazita (Brown 2003, Strauss et al. 2002). To znamená, že znaky zvyšující fitness hostitele

tím, že zajišťují obranu proti parazitovi, s sebou nesou také náklady, které mají na zdatnost svého nositele opačný efekt. Pokud je zvýšení rezistence spojeno se ztrátami, které jsou vyšší než zisk, který tato rezistence přináší, přestává platit pozitivní závislost mezi schopností eliminace parazita a zdatností hostitele. To vede organismus ke kompromisům (trade-offs) mezi investicemi do imunitního systému a ostatními znaky, které ovlivňují reprodukční zdatnost, protože maximální rezistence nemusí být vždy rezistencí optimální (Buckling and Rainey 2002, Wegner, Reusch and Kalbe 2003, Sadd and Schmid-Hempel 2009). Náklady nemusí být dány pouze energetickým trade-off, ale i adaptací na parazita, která způsobí znevýhodnění organismu v jiném ohledu. Pokud pro hostitele existuje určitá cena rezistence, musí volit, zda je pro něj výhodné být rezistentní, či zda je pro něj rezistence zbytečně nákladná (Sadd and Schmid-Hempel 2009).

Je nutné rozlišovat mezi fyziologickou a evoluční nákladností rezistence (Schmid-Hempel 2003, Sadd and Schmid-Hempel 2009, McKean et al. 2008). Fyziologická nákladnost rezistence pramení z energetické nákladnosti imunitního systému. Evoluční náklady na rezistenci jsou dány genetickou výbavou jedinců a jejich přítomnost může způsobovat genetickou variabilitu v populaci. Evoluční nákladnost rezistence může být jedním z důvodů, proč nedochází k fixaci alel přinášejících výhodu v boji proti parazitovi.

3.1. Fyziologická nákladnost

Fyziologické náklady na rezistenci jsou náklady nutné ke správné funkci imunitního systému, jsou tedy určeny množstvím zdrojů, které je nutné investovat, pokud se chce organismus účinně bránit parazitovi. Nepřímým důkazem nákladnosti imunitního systému je častá náchylnost jedinců k parazitaci v prostředí chudém na zdroje (Sheldon and Verhulst 1996). Nákladnost imunitního systému je obecně rozdělována na náklady na udržení a náklady na aktivaci (Sadd and Schmid-Hempel 2009). Nákladnost udržování systému spočívá v nutnosti neustále investovat zdroje do mechanismů zajišťujících rezistenci i v nepřítomnosti parazita. Přestože je tato složka nákladů těžko měřitelná (Lochmiller and Deerenberg 2000), existují o ní nepřímé doklady i doklady o schopnosti organismů měnit množství zdrojů do ní investované (Demas and Nelson 1998, Nelson, Demas and Klein 1998). Náklady na aktivaci imunitního systému se projeví v přítomnosti parazita, kdy je nutné uvést imunitní systém v činnost. Fyziologické náklady na rezistenci by se měly projevit především v limitujících podmínkách, kdy organismus nemá dostatečné množství zdrojů. V přírodě mohou být těžko pozorovatelné, protože organismus je svým chováním, například výběrem

potravy, schopen ztráty do určité míry kompenzovat (Povey et al. 2009). Experimentálně byly fyziologické náklady na rezistenci u některých organismů doloženy. Například dělnice čmeláka zemního (*Bombus terrestris*), které byly drženy v hnízdě a nemohly létat, byly schopny lepší imunitní odpovědi než včely zabývající se energeticky nákladným krmením kolonie (Konig and Schmidhempel 1995). U potemníka *Tenebrio molitor* byla zaznamenána závislost intenzity imunitní odpovědi na dostupnost zdrojů. Hladovějící brouci měli sníženou produkci fenoloxidázy v hemolymfě. Na druhou stranu, na schopnost enkapsulace (opouzdření parazita) neměl nedostatek výživy žádný efekt, což může značit buď nenákladnost tohoto procesu, nebo také jeho důležitost. Eliminace parazita enkapsulací může být dle autorů tak významným obranným prostředkem, že do něj nepřestává organismus investovat zdroje ani v limitujícím prostředí (Siva-Jothy and Thompson 2002). Stejně tak hlemýžďi *Lymnaea stagnalis* snížili v podmínkách bez potravy aktivitu imunitního systému, avšak toto snížení nemělo stejný efekt na všechny sledované znaky. Největší dopad měl nedostatek zdrojů na aktivitu fenoloxidázy, mnohem méně se projevil na koncentraci hemocytů a humorálních antibakteriálních proteinů (Seppala and Jokela 2010). To ukazuje na rozdílnou alokaci zdrojů do různých systémů obrany.

Na hostitelovu schopnost obrany má vliv nejen množství zdrojů, ale i jejich kvalita. Výživa ovlivnila například schopnost skokana amerického (*Lithobates sphenoccephalus*) odolávat parazitům. Skokani, kteří byli chováni za podmínek s nízkoproteinovou stravou, měli mnohem vyšší prevalenci kožního houbového onemocnění *Batrachochytrium dendrobatidis* oproti skokanům krmeným vysokoproteinovou stravou (Venesky et al. 2012).

Heterogenita prostředí může díky existenci energetické náročnosti imunitního systému vytvářet variabilitu v rezistenci hostitelů vůči parazitům i u geneticky se nelišících jedinců. Pokus provedený na sýkoře koňadře (*Parus major*) ale ukazuje, že zvýšená imunitní odpověď nemusí nutně znamenat větší energetické ztráty. Sýkorám byl do křídla vpraven mitogen phytohemaglutinin, což způsobilo zvýšení klidového metabolismu (resting metabolic rate, RMR) pouze o 5 %, což je patrně hodnota příliš malá, aby mohla způsobit trade-off s ostatními znaky (Nilsson, Granbom and Raberg 2007). V podobném pokusu provedeném na vrabci domácím (*Passer domesticus*) bylo ale zaznamenáno zvýšení RMR o 29 % (Martin, Scheuerlein and Wikelski 2003). Ovšem sýkory, kterým bylo injekčně vpraveno více phytohemaglutininu do křídla a reagovaly větším otokem než sýkory s menším množstvím phytohemaglutininu, RMR zvýšený neměly – množství tohoto mitogenu a velikost otoku tedy s RMR nekorelovala (Nilsson et al. 2007). To by znamenalo, že samotná aktivace imunitního

systému s sebou nese náklady, ale zvýšená aktivace imunitního systému už s sebou nemusí nutně nést zvýšené fyziologické náklady.

3.2. Evoluční nákladnost

Evoluční nákladnost imunitního systému je pravděpodobně způsobena propojením imunitních mechanismů s neimunitními znaky, genetickou pleiotropií či epistází mezi geny kódujícími mechanismy imunitního systému a další znaky ovlivňující fitness (Sadd and Schmid-Hempel 2009). Další příčinou nákladnosti mohou být imunopatologie a autoreaktivity, které vznikají při přílišné produkci některých molekul (Brown 2003, Wegner et al. 2003, Sears et al. 2011). Znak, který zajišťuje hostiteli lepší rezistenci, zároveň působí negativně na jiné znaky ovlivňující fitness jedince. Evoluční náklady na rezistenci mohou tvořit variabilitu v antiparazitární rezistenci hostitele, ovlivněnou výší těchto nákladů a množstvím parazitů a mírou parazitace hostitele (Boots and Haraguchi 1999, Frank 2000, Duncan, Fellous and Kaltz 2011). Seleční tlak ze strany prostředí organismu může vést až ke zvýhodnění jedinců s nižší mírou antiparazitární rezistence.

Evoluční nákladnost se u rezistentních jedinců může projevit například snížením plodnosti (McKean et al. 2008), sníženou životností spermatu (Simmons and Roberts 2005) nebo nižším počtem šeušulí a semen v šeušulích (Tian et al. 2003). U octomilek *Drosophila melanogaster* selektovaných k vyšší rezistenci k parazitoidovi se tvoří mnohem větší počet hemocytů, buněk, které hrají hlavní roli v enkapsulaci parazita (Kraaijeveld, Limentani and Godfray 2001). Zároveň bylo pozorováno, že takto selektované octomilky mají sníženou schopnost přežít v podmínkách kompetice o potravu (Kraaijeveld and Godfray 1997). I projev evolučních nákladů na rezistenci může být ovlivněn prostředím a nemusí se projevit ve všech podmínkách. Například negativní genetická korelace mezi plodností a imunitními znaky byla u octomilek pozorována pouze v prostředí s omezeným množstvím potravy (McKean et al. 2008).

Evoluční náklady na rezistenci dokládají i případy, kdy selekce ve prospěch jiného znaku snižuje schopnost antiparazitární rezistence. Výkalnice hnojní (*Scathophaga stercoraria*), které byly experimentálně donuceny množit se polyandricky, vyvinuly větší rozmnožovací orgány oproti mouchám rozmnožujícím se monogamicky, byly tedy uměle vyšlechtěny k vyšší investici do reprodukce (Hosken 2001). Polygamní rozmnožování v tomto případě nahradilo seleční tlak, který vede k evolučnímu trade-off mezi rozmnožováním a ostatními znaky. U polyandrických much byla v porovnání

s monogamickými prokázána snížená schopnost imunitní odpovědi (Hosken 2001). Podobně selekce na různý věk kuklení ukázala, že snížená schopnost melanizace a enkapsulace u komára *Aedes aegypti* je spjata s nízkým věkem kuklení (Koella and Boete 2002). Věk, ve kterém se komár kuklí, je jedním ze znaků určujících reprodukční úspěšnost tohoto druhu (Stearns 1992). Cenou za lepší schopnost obrany proti parazitům je pomalejší vývoj komára.

Evoluční náklady se nemusí projevit pouze jako trade-off mezi schopností antiparazitární rezistence a jiným znakem, ale dokonce i jednotlivé typy imunitní odpovědi mohou být mezi sebou provázané, což při zvýšení jednoho typu obranného mechanismu může vést ke snížení jiného typu (Cotter, Kruuk and Wilson 2004).

Jestliže je rezistence skutečně spojena s určitou nevýhodou a ztrátou fitness, rezistentní populace by po uvolnění selekčního tlaku ze strany parazita měly postupně ztrácet nabytou rezistenci, aby optimalizovaly svou zdatnost. Ve shodě s touto teorií je porovnání populací trepky velké (*Paramecium caudatum*), z nichž jedna se vyvíjela osm let v přítomnosti parazitické bakterie *Holospora undulata*, druhá nepřišla do styku s parazitem a třetí byla nejdříve nakažena a posléze parazitů zbavena. Trepky v evoluci s *H. undulata* sice vykazovaly vyšší fitness, ale rychlost jejich asexuálního rozmnožování byla v porovnání s naivní, nenakaženou populací nižší. Populace zbavená parazitů se rozmnožovala stejně dobře jako populace naivní (Duncan et al. 2011). Stejně tak se u zavíječe paprikového (*Plodia interpuncte*) po odstranění granuloviru začala opět zvyšovat životaschopnost vajíček, která se v předchozí koevoluci se zvýšenou rezistencí snížila (Boots and Begon 1993).

Náklady na rezistenci nebyly prokázány u všech druhů. Například u hrotnatky *Daphnia magna*, jejíž populace jsou variabilní v náchylnosti k bakteriálnímu parazitu *Pasteuria ramosa*, nebyl mezi náchylnými a rezistentními klony pozorován rozdíl v mortalitě, věku první reprodukce, počtu snůšek ani ve schopnosti kompetice v podmínkách s nedostatkem potravy (Little et al. 2002). K podobnému výsledku dospělo i porovnání konkurenceschopnosti mezi hrotnatkami náchylnými k nákaze a nenakaženými hmyzomorkou *Octosporea bayeri* (Altermatt and Ebert 2007). Je možné, že heterogenita v populaci může být způsobena i jinými mechanismy než náklady na rezistenci. Pokud ale nebyly náklady na rezistenci objeveny, nemusí to nutně znamenat jejich absenci, nýbrž například dosavadní neschopnost je odhalit.

4. Náklady na virulenci

Stejně tak, jako je obranyschopnost hostitele spojena s určitými náklady, může i schopnost nakazit hostitele určitým způsobem snižovat fitness parazita. Existenci evolučních nákladů na virulenci tedy evoluční trade-off parazita mezi schopností napadat hostitele a dalšími znaky dokládá experimentální koevoluce mezi háďátkem obecným (*Caenorhabditis elegans*) a bakterií *Bacillus thuringiensis*. Po několika generacích společného vývoje byly populace bakterií sice prokazatelně virulentnější než kontrolní populace (vyvíjející se bez přítomnosti antagonisty), ale měly také sníženou rychlost růstu (Schulte et al. 2010). Cena virulence byla pozorována například i u háďátek *Meloidogyne incognita*, kde linie neschopné nakazit odolné kultivary rajčete mají (při kultivaci na nerezistentních rostlinách) vyšší reprodukční zdatnost oproti liniím schopným nákazy rezistentních rajčat (Castagnone-Sereno, Bongiovanni and Wajnberg 2007). Podobně kompetičně znevýhodněné jsou i rzi *Puccinia striiformis f.sp.tritici* nesoucí některé geny, zajišťující zvýšenou schopnost nákazy rostlin (Bahri et al. 2009). Náklady na virulenci mohou mít na populace parazita stejný vliv jako náklady na rezistenci u hostitelských populací, tedy mohou vytvářet variabilitu populací.

5. Modely molekulární interakce, vzniku a udržování polymorfismu

Modely molekulární interakce hostitele a parazita popisují způsob evoluce interakce zúčastněných molekul, její výstupy a způsob udržování polymorfismu. Každý model se zaměřuje vždy na vývoj pouze jedné specifické interakce jednoho hostitele a jednoho parazita. Imunitní systém hostitele je velmi komplexní systém, parazit s hostitelem interagují velkým množstvím molekul a všechny nelze do modelů zahrnout. Modely jsou vždy značným zjednodušením, přičemž zanedbávají mnohé proměnné a jejich výstupy závisí na zvolení parametrů, které jsou v reálných populacích někdy těžko měřitelné či jinak určitelné.

Základem modelů evoluční interakce mezi hostitelem a parazitem je její genotypová specifita, tedy předpoklad, že výsledek střetu hostitele s parazitem závisí především genotypu hostitele a genotypu parazita. Takovéto interakce jsou označovány jako genotype by genotype (GxG) (Wolinska and King 2009, Berenos, Schmid-Hempel and Wegner 2012). Zda dokáže

parazit nakazit hostitele či zda dokáže hostitel nákaze odolávat, závisí jak na formě genu, kterou nese parazit, tak na formě genu hostitele, ale zásadní roli hraje jejich kombinace.

5.1. Gene-for-gene

Jedním z nejstarších modelů je model gene-for-gene (GFG), který byl původně popsán na základě interakce mezi lnem a jeho parazitickou rzí (Flor 1956, Flor 1971 ex Frank 1993a). Model GFG se stal základem prvních matematických modelů koevoluce hostitele a parazita (Thompson and Burdon 1992), a to především pro svou jednoduchost (Frank 1993a).

Jedna ze základních myšlenek modelu říká, že pro každý gen rozhodující o rezistenci hostitele existuje korespondující gen parazita, který určuje jeho virulenci (Flor 1956, Thompson and Burdon 1992). Geny parazita a hostitele, které se koevoluční interakce účastní, se proto označují jako korespondující geny. GFG předpokládá, že v populaci hostitele i parazita se vyskytuje genetická variabilita ve znacích zajišťujících hostitelskou rezistenci i parazitickou schopnost napadnutí hostitele. Alely kódující tyto znaky se liší výhodností, kterou přinášejí svému nositeli při interakci s antagonistou, ale i náklady, které jsou s nimi spojeny. Právě nákladnost rezistence a virulence vysvětluje udržení polymorfismu v modelu GFG. V genomu parazita se vyskytuje gen zajišťující interakci s hostitelem buď ve formě avirulentní (A) (označované též jako úzce infekční) či virulentní (V) (široce infekční). Formy genů kódující molekuly, které zajišťují hostiteli obranu, se označují jako rezistentní (R) a náchylná alela (S, susceptible) (Flor 1971 ex Frank 1993a, Agrawal and Lively 2002). Zjednodušující představou fungování modelu na molekulární úrovni je interakce mezi parazitárním elicitem a hostitelským receptorem. Elicitor a receptor jsou proteinové produkty korespondujících alel hostitele a parazita. Parazitární elicitor kódovaný alelou A je rozpoznáván hostitelským receptorem kódovaným alelou R. Pokud hostitel nese alelu R, nýbrž S, znamená to, že receptor postrádá, nebo nese receptor nefunkční, který není schopný parazita rozpoznat. Takový hostitel je náchylný a dochází u něj k infekci. Parazitární virulentní alela kóduje elicitor nerozpoznatelný hostitelským receptorem, a tak je parazit s alelou V schopný nakazit hostitele s jednou i druhou formou genu (Frank 1993b). Systém, se kterým pracuje model GFG, tedy předpokládá interakci jednoho hostitelského produktu s jedním korespondujícím produktem parazitárním. Protože genotyp parazita, ve kterém se vyskytuje virulentní alela, je schopen infikovat všechny hostitele, označuje se jako generalista či UVG – univerzálně virulentní genotyp (Agrawal and Lively 2003, Fenton, Antonovics and Brockhurst 2009). Pojem virulence je v modelu GFG používán ve smyslu schopnosti parazita

napadnout hostitele, neboli překonat jeho imunitní obranu způsobenou rezistentní alelou. Virulence parazita v tomto modelu znamená přítomnost virulentní alely v jeho genomu.

5.1.1. Multilokusový model gene-for-gene

Komplexnějším rozvinutím modelu GFG je multilokusový model gene-for-gene, který předpokládá, že výsledek interakce mezi hostitelem a parazitem nezávisí pouze na jednom páru korespondujících genů, ale u obou antagonistů je do interakce zapojen více než jeden lokus. V každém takovémto lokusu může být hostitel opět rezistentní nebo náchylný, parazit virulentní či avirulentní. Rezistence hostitele nastává, pokud se setkají genotypy, u nichž alespoň jedna rezistentní alela interaguje s alelou avirulentní a tak zabrání nákaze (Sasaki 2000).

V systému, který zahrnuje více parazitárních a hostitelských lokusů, však setkání avirulentní a rezistentní alely nemusí zajistit hostiteli kompletní obranu. Každá z rezistentních alel v lokusu korespondujícím s parazitovou avirulentní alelou přispívá pouze určitou měrou k hostitelově rezistenci, která závisí na součtu účinku těchto alel. Interakce mnoha lokusů pak vede k získání rezistence, která není na rozdíl od jednolokusového modelu kvalitativní, ale kvantitativní. Genotyp hostitele a parazita neurčuje pouze, zda k nákaze dojde či nikoli (kvalitativní rezistence), ale v jaké míře nákaza propukne (kvantitativní rezistence). Rezistence nemusí znamenat plnou odolnost proti parazitovi, ale pouze snížení jeho negativního vlivu na hostitele (Westerdahl et al. 2012).

V GFG modelech jsou zahrnuty náklady na rezistenci i virulenci, které zásadně ovlivňují dynamiku chování celého systému, tedy zda se v populacích hostitele a parazita vyskytuje variabilita a zda se vyskytuje stabilně či cyklicky. Vysoká nákladnost rezistentních alel hostitele způsobí, že v populaci nepozorujeme žádný polymorfismus (Sasaki 2000). Náklady hostitele na rezistentní alelu jsou v tomto případě tak vysoké, že převáží výhodu, kterou hostiteli přináší jedna rezistentní alela snížením pravděpodobnosti nákazy a snížením ztrát, které s sebou nákaza parazitem nese. Výhodnost alely nezávisí pouze na její ceně, ale také na míře rezistence, kterou konkrétní alela přispívá k zmírnění ztrát způsobených parazitem. Výhodnost alely závisí proto i na projevech parazitárního onemocnění. K absenci polymorfismu může dojít nejen, pokud jsou rezistentní alely velmi nákladné, ale i pokud je projev parazitárního onemocnění velmi mírný. V případě, kdy se v populaci hostitele nevyskytuje rezistentní alela, nepřináší virulentní alela parazitovi žádnou výhodu, naopak je spojena pouze se ztrátami. Parazit nesoucí pouze avirulentní alely je stále schopen nakazit hostitele, který nenese rezistentní alely, proto na parazita nepůsobí selekce zvýhodňující

jedince s virulentní alelou. Za podmínek vysoké nákladnosti rezistentních alel se tak nebudou v populacích vyskytovat žádné virulentní ani rezistentní alely (Sasaki 2000).

Vysoké náklady spojené s virulentními alelami parazita mají podobný stabilizační vliv na hostitelsko-parazitickou koevoluční dynamiku. Vysoká cena virulence způsobí u parazita fixaci avirulentních alel ve všech lokusech. V závislosti na ceně rezistentních alel hostitele nesou jedinci v populaci hostitele jednu, případně více alel rezistentních. Rezistentní alely tak zajišťují částečnou obranu proti avirulentním parazitům, a proto k jejich úplné ztrátě nedochází (Sasaki 2000, Segarra 2005).

Cyklickou dynamiku ve frekvenci alel lze podle multilokusového modelu GFG sledovat v případě relativně nízkých nákladů na rezistenci i virulenci (Sasaki 2000). Model předpokládá vznik cyklu, v němž fluktuuje frekvence rezistentních/náchylných a virulentních/avirulentních alel následujícím způsobem: Počáteční stav, kdy má většina parazitů jednu avirulentní alelu a zbytek alel virulentních a hostitel má jednu alelu rezistentní a zbytek tvoří náchylné, je narušen rozšířením UVG – parazita, který má virulentní všechny alely. Tento genotyp je výhodný, protože dokáže napadat všechny hostitele v populaci. Jeho přítomnost vede v další fázi k rozšíření hostitelského genotypu s úplnou absencí rezistentních alel – ty jsou v přítomnosti parazita, nesoucího virulentní alelu ve všech lokusech neúčinné (nepřinášejí zvýšenou rezistenci) a tedy i zbytečně nákladné. Následně začne klesat i frekvence virulentních alel, ze stejného důvodu – populace hostitelů je náchylná a virulentní alely nejsou nezbytné k její nákaze. V další fázi se opět šíří rezistentní alely, které se nyní stávají výhodnými pro hostitele a cyklus se uzavírá (Sasaki 2000).

Zda se objeví v populaci cyklická dynamika či rovnovážný stav, nezávisí pouze na nákladnosti alel ale také na tom, zda je mezi těmito alelami epistatická interakce a jakou má tato interakce formu (Frank 2000, Fenton and Brockhurst 2007).

Podle modelu je průměrný počet virulentních alel parazita za podmínek, které vytvářejí cyklickou dynamiku, vždy vyšší než průměrný počet hostitelských rezistentních alel (Sasaki 2000). Rezistence hostitele může dle matematického modelu procházet cykly, při nichž se nemění počet rezistentních alel, ale objevují se v různých lokusech. Parazit, který je univerzálně virulentní, se tak vyhne náhlým a neustálým změnám svého životního prostředí a univerzálně virulentní genotyp je pro něj výhodný i přes vysokou nákladnost (Sasaki 2000).

Virulentní a avirulentní (případně rezistentní a náchylná) forma genu nemusí být nutně dvěma alelami jednoho lokusu. Například bakterie *Pseudomonas viridiflava*, častý patogen huseničku (*Arbidopsis thaliana*) nese v genomu vždy pouze jednu z variant „patogenního ostrova“ (PAI, pathogenicity islands), S-PAI či T-PAI, přičemž každý z nich se nachází v jiné

části genomu *P. viridiflava*. PAI jsou genomové ostrovy bakterií, které kódují nejrůznější produkty zajišťující jejich schopnost nakazit hostitele (Gal-Mor and Finlay 2006). T-PAI je pro *P. viridiflava* avirulentním faktorem, pokud napadá tabák, a spouští mnohem rapidnější imunitní odpověď rostliny. Naopak pokud napadá *P. viridiflava A.thaliana*, je avirulentním faktorem S-PAI (Araki et al. 2006).

5.1.2. Inverse-gene-for-gene

Model nazvaný inverse-gene-for-gene (IGFG), tedy obrácený model gene-for-gene vychází z multilokusového modelu GFG (Fenton et al. 2009). V každém lokusu, který ovlivňuje střetnutí parazita a hostitele, může mít hostitel opět alelu rezistentní či náchylnou, parazit virulentní či avirulentní. V IGFG je ovšem hostitel bráněn před infekcí parazitem pokud má rezistentní alelu, a to i v případě, že parazit nese v korespondujícím lokusu virulentní alelu. Rezistenci získává i hostitel s náchylnou alelou vůči alele avirulentní. V multilokusovém modelu IGFG každá rezistentní alela v genomu hostitele, která je v korespondujícím lokusu s virulentní alelou, částečně zvyšuje jeho odolnost vůči parazitovi a snižuje vliv parazita na hostitele. Zásadním rozdílem oproti modelu GFG je, že i náchylné alely zvyšují odolnost proti avirulentnímu parazitovi.

Výstupy modelů GFG a IGFG jsou odlišné především proto, že v modelu IGFG není žádný z hostitelů náchylný ke všem parazitům, ani žádný parazit není schopný infikovat všechny hostitele. Na rozdíl od modelu GFG i v případech, kdy hostitelská populace vykazuje nízkou frekvenci rezistentních alel, se může objevit vysoká virulence u parazita, protože virulentní alely stále představují velkou výhodu svojí schopností napadat náchylné hostitele. Pokud je nositel virulentní alely znevýhodněn příliš velkými náklady, v populaci se nebudou objevovat ani virulentní nebo rezistentní alely. V případě relativně nízkých nákladů na rezistenci i virulenci se objeví koevoluční cykly, podobně jako v modelu GFG. Tento model by měl koevoluci mezi hostitelem a parazitem popisovat lépe než GFG v případech, kdy je rezistence hostitele na molekulární úrovni dána absencí hostitelského produktu, který umožňuje (u náchylných jedinců) parazitovi infikovat hostitele (Fenton et al. 2009). Jako IGFG by se mohla například chovat evoluce mezi bakterií a bakteriofágem, kde infekce závisí na rozpoznání povrchového receptoru bakterie fágem a změna či absence takového receptoru zajistí bakterii rezistenci (Fenton et al. 2009).

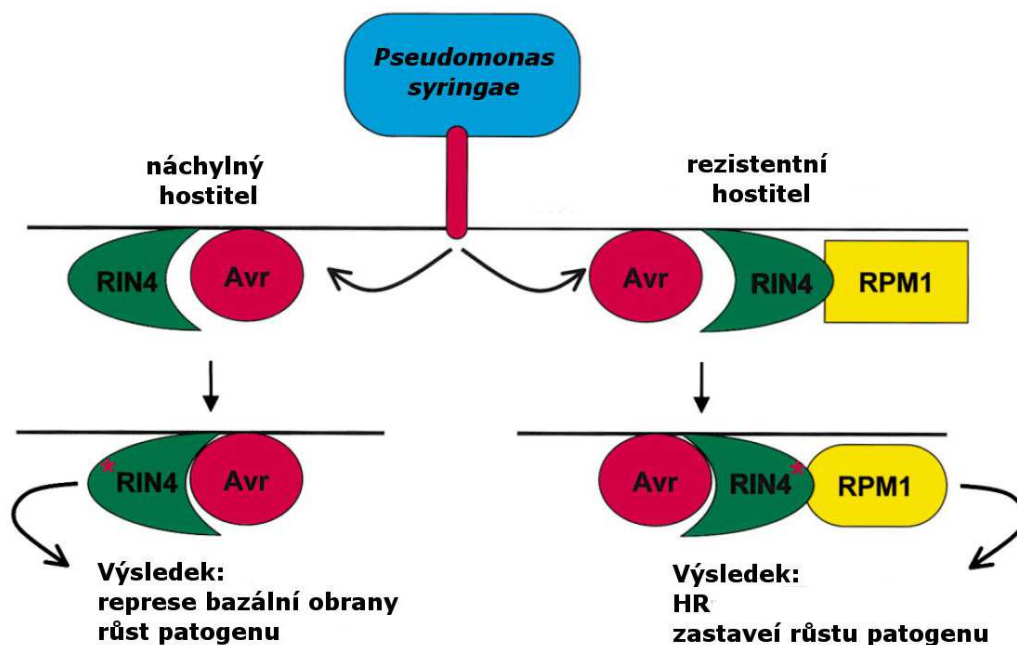
5.1.3. Příklady systémů odpovídajících modelu gene-for-gene

Vzájemné působení hostitele a parazita odpovídající modelu GFG bylo popsáno u mnoha druhů rostlin a jejich patogenů (Thompson and Burdon 1992). V rostlinné říši je proto tento model velmi dobře zaveden a často používán.

U rostlin byla na základě modelu GFG celá skupina genů, zajišťující jejich rezistenci proti bakteriálním patogenům, nazvána R geny. Všechny R proteiny (proteiny kódované R geny) mají podobnou strukturu – skládají se z oblasti vázající nukleotidy (NBS, nucleotid binding site) a v karboxyl-terminální (C-terminální) doméně obsahují sekvenci bohatou na leucin (LRRs, leucine rich repeats). LRR zajišťují specifitu proteinů k parazitárním produktům. R proteiny se proto označují také jako NBS-LRR proteiny, přičemž se dále dělí dle sekvencí v amino-terminální (N-terminální) doméně. Jako LZ jsou označovány proteiny se strukturami homologními s leucinovým zipem, jako TIR struktura homologní s cytoplazmatickými doménami receptoru Toll a receptoru pro interkulin 1 a jako CC domnělé coiled-coil struktury (Mackey et al. 2002). NBS-LRR proteiny zajišťují rostlinám obranu proti bakteriálním, virovým i houbovým patogenům. Proteiny s touto strukturou byly popsány u mnoha druhů rostlin (Boyes, Nam and Dangl 1998). Patogenní geny, jejichž produkty jsou rozpoznávány produkty R genů, jsou označovány jako Avr – avirulentní geny (opět dle terminologie modelu GFG). Pro patogenní organismus může být Avr gen nutný, a může být dokonce nezbytný pro způsobení nákazy u rostlin, které rezistentní alelu nenesou (Ritter and Dangl 1995). Bakteriální produkty kódované avirulentními geny se dostávají do buňky hostitele pomocí bakteriálního transferu typu III (Galan and Collmer 1999). Rostlina, která rozpozná patogen, reaguje obranným mechanismem – tzv. hypersenzitivní odpovědí (HR). HR spočívá v indukci programované buněčné smrti v buňkách napadených patogenem, která vede jak ke zničení vlastních buněk rostliny, tak k zabránění šíření patogenu (Morel and Dangl 1997).

Jedním ze systémů, jehož se účastní R a Avr proteiny, je interakce rostliny huseníčku a bakteriálního patogenu *Pseudomonas syringae* způsobujícího skvrnitost listů. *P. syringae* pv. *maculicola* napadá huseníček pomocí proteinu označovaného AvrRPM1, který je po vpravení do buňky hostitele zakotven v membráně (Nimchuk et al. 2000). Tam AvrRPM1 interaguje s proteinem huseníčku RIN4 a indukuje jeho fosforylaci (Mackey et al. 2002). Protein RIN 4 je negativním regulátorem imunitní odpovědi na PAMPs- pathogen-associated molecular patterns, což je imunitní odpověď na molekuly asociované s patogeny (chitin, ergosterol, flagelin a další). Jeho ovlivnění interakcí s AvrRpm1 vede k zastavení imunitní

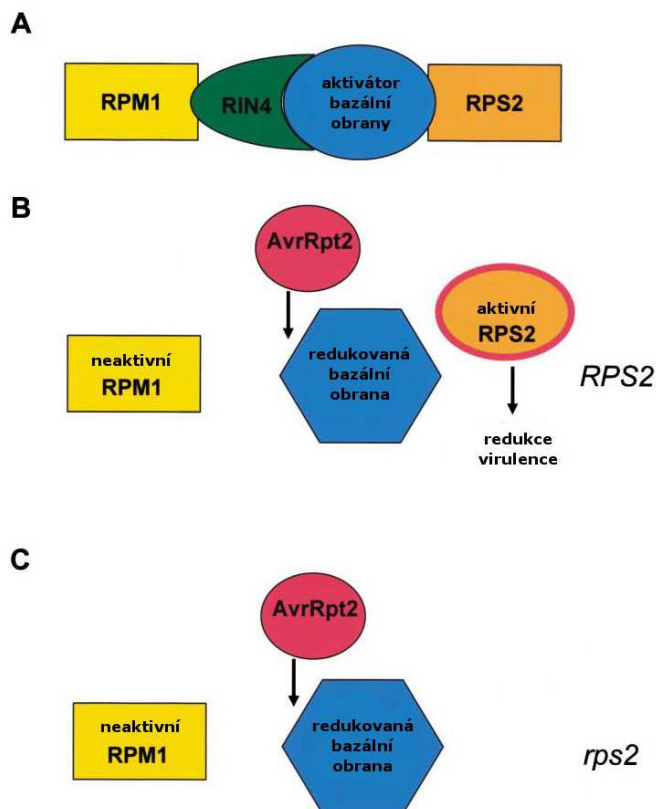
odpovědi proti PAMPs (Kim et al. 2005). Fosforylace proteinu RIN4 je ale signálem pro RPM1 protein, který díky ní spouští hypersenzitivní reakci zastavující další šíření patogenu (Chung et al. 2011). RPM1 je transmembránový R protein (Boyes et al. 1998) patřící do skupiny CC-NB-LRR (Chung et al. 2011, Mackey et al. 2002). Huseníček ale může nést alelu s delecí v kódující oblasti genu RPM1 (Grant et al. 1998). Rostliny s takovou alelou nejsou schopné se bránit *P.syringae* a protein AvrRPM1 u nich způsobí propuknutí nákazy. U rostlin nesoucích alelu kódující RPM1 protein byla oproti rostlinám, které tento protein nekódují zjištěna snížená produkce semen, tedy snížení fitness způsobené náklady spojenými s vlastnictvím této alely (Tian et al. 2003). Alelu s delecí tedy můžeme označit za náchylnou (S) a alelu kódující RPM1 protein za resistantní (R).



Obr. 3 Schéma reakce huseníčku na napadení bakterií *Pseudomonas syringae* pomocí proteinu *AvrRpm1* (Mackey et al. 2002). Protein *AvrRpm1* se dostává do rostliny. Asociace s proteinem RIN4 způsobuje fosforylaci (*). U náchylné rostliny dochází k represí obranných mechanismů. U rezistentní rostliny protein *RPM1* způsobí zahájení hypersenzitivní reakce.

Dalším bakteriálním efektozem *P. syringae* (nezávislým na *AvrRpm1*) je *AvrRpt2*. Cílem tohoto bakteriálního produktu je opět protein RIN4 v buňce hostitele *A. thaliana*. *AvrRpt2* dokáže tento protein eliminovat, což zabrání jeho interakci s *RPM1* a bakterie tak obejde obranný mechanismus rostliny zajištěný *RPM1* (Mackey et al. 2003). *AvrRpt2* je virulentním faktorem i u rostlin nenesoucích *RPM1* alelu. Není však jisté, zda virulence

zajišťovaná alelou *AvrRpt2* je skutečně způsobena eliminací RIN4 proteinu (Lim and Kunkel 2004). Nákaza způsobená *AvrRpt2* propukne pouze u rostlin s S alelou označovanou jako *rps2*. Rezistentní alela *RPS2* kóduje další ze skupiny R proteinů. R protein *RPS2* reaguje na eliminaci proteinu RIN4 a aktivuje obranu reakci rostliny proti patogenu (Mackey et al. 2003). Obě rezistentní alely prostřednictvím svých produktů „střeží“ protein RIN4 (Mackey et al. 2002, Chung et al. 2011).



Obr. 4 Schéma reakce huseníčku na napadení *Pseudomonas syringae* pomocí proteinu *AvrRpt* (Mackey et al. 2003)

- A) schéma interakce proteinů
 B) *AvrRpt2* působí eliminaci proteinu RIN4 a redukcí bazální obrany rostliny. U rezistentních rostlin to vede k aktivaci proteinu RPS2.
 C) u náchylných *rps2* rostlin vede eliminace RIN4 k zamezení aktivity RPM1 a redukcí obrany proti patogenu

Příkladem koevoluce hostitele a parazita dle modelu GFG u živočichů je rezistence a náchylnost octomilek *Drosophila melanogaster* vůči sigma viru, způsobená polymorfismem genu *ref(2)P*. Jedinci nesoucí variantu *ref(2)P* se změnou sekvence CAG–AAT (glutamine–asparagine) na GGA (glycine) získávají rezistenci k sigma viru (Bangham et al. 2007). Gen *ref(2)P* hraje roli v samčí sterilitě octomilek (Dezelee et al. 1989) a v autofágím odstraňování cytoplasmatických proteinů (Bartlett et al. 2011), což značí, že jeho mutace mohou znamenat i určité znevýhodnění, tedy náklady na rezistenci. Již dříve byl doložen polymorfismus i u sigma viru ve schopnosti nakazit rezistentní genotyp octomilek (Fleuriet

1980). To znamená, že i genotypy viru lze nejspíše rozdělit na virulentní a avirulentní. Ačkoliv přesný mechanismus koevoluce v tomto vztahu hostitel-parazit není zatím znám, na základě uvedených informací lze předpokládat platnost modelu GFG.

5.2. Matching-allele

Model matching-allele (MA) pojmenoval Frank (1993b) jakožto alternativu k modelu GFG. Podle tohoto autora některé případy koevoluce rostlinných hostitelů a parazitů do té doby popsané pomocí modelu GFG je možné popsat lépe podle modelu MA.

V MA je každý jednotlivý genotyp parazita schopný infikovat určité genotypy hostitele a v infekci ostatních genotypů selhává. Stejně tak každý genotyp hostitele zajišťuje rezistenci pouze vůči konkrétním genotypům parazita (Frank 1993b). Pokud se budeme držet terminologie zavedené pro model GFG, chová se každá alela v modelu MA jako virulentní či avirulentní až v závislosti na tom, s jakou hostitelskou alelou se dostává do kontaktu (Frank 1993b).

Jestliže v modelu GFG mohl být elicitor rozeznáván všemi receptory, v modelu MA rozeznává konkrétní varianta receptoru pouze konkrétní variantu elicitoru. Receptor a ligand (elicitor) fungují na principu zámku a klíče – zámek (receptor) je přístupný pouze pro určitý klíč (ligand) a zapadnutí zámku do klíče způsobí spuštění imunitní reakce. Na rozdíl od modelu GFG v modelu MA neexistuje genotyp parazita, který by byl schopen infikovat všechny genotypy hostitele a ani neexistuje genotyp hostitele, který by byl rezistentní vůči všem genotypům parazita. Jeden genotyp parazita je vždy schopen lépe infikovat určitý genotyp hostitele, což vede k udržování variability frekvenčně závislou selekcí (Carius, Little and Ebert 2001). To znamená, že probíhá selekce ve prospěch parazitů schopných infikovat nejčastěji se vyskytující genotyp hostitele, čímž zároveň získává výhodu hostitel s nejvzácnějším genotypem. Polymorfismus v populaci je tedy udržován negativní frekvenčně závislou selekcí, a variabilita v populaci neumožňuje antagonistovi adaptovat se na všechny vyskytující se varianty genotypu (Agrawal and Lively 2003). V systému fungujícím jako MA může koexistovat větší množství alel kódujících proteiny účastnící se střetu mezi hostitelem a parazitem, než pouze rezistentní, náchylná, virulentní a avirulentní varianta, které se objevovaly v modelu GFG.

V MA systému není zavedena cena za virulenci či rezistenci, na rozdíl od GFG modelu jsou totiž všichni parazité specializovaní na určitý genotyp (Agrawal and Lively 2003). Samotná specializace a adaptace na určitý parazitický (případně hostitelský) genotyp

ale může být pokládána za náklad. Přínos, který nese rezistence či virulence k jednomu antagonistickému genotypu je vyvážen neschopností se bránit nebo napadnout genotypy ostatní.

5.2.1. Příklady systémů odpovídajících modelu matching-allele

Zatímco model GFG je používán především pro popis koevoluce v rostlinné říši, model MA byl zprvu používán spíše jako model koevoluční interakce u živočichů, zejména bezobratlých. Příkladem koevoluce hostitele a parazita, který podporuje fungování modelu MA je vzájemné působení bakterie *Pasteuria ramosa* a vodního korýše *Daphnia magna*. Pokus, ve kterém byly různé klony *D. magna* infikovány bakterií *P. ramosa*, ukázal variabilitu klonů ve schopnosti odolávat infekci a byla rovněž prokázána specifita ve schopnosti parazitů infikovat daný hostitelský klon a stejně tak specifita schopnosti rezistence hostitele k bakteriálnímu izolátu. Žádný z klonů *D. magna* nedokázal odolat infekci všech parazitárních izolátů (Carius et al. 2001). Vzhledem k tomu, že v tomto příkladu neznáme molekulární základ variability a specifity nákazy, nemůžeme s jistotou tvrdit, že se jedná o koevoluci přesně odpovídající MA modelu. Některé aspekty interakce tomu však napovídají.

Zástupcem molekul, u kterých je možné předpokládat, že jejich evoluce podléhá modelu MA, jsou molekuly hlavního histokompatibilního komplexu (MHC, major histocompatibility complex). MHC proteiny jsou součástí imunitního systému všech obratlovců a patří k nejdůležitějším molekulám, které zajišťují odolnost vůči parazitům. Geny, kódující MHC molekuly jsou pravděpodobně nejpolymorfnějšími molekulami vůbec a je tedy velmi pravděpodobné, že podléhají selekci ze strany parazita a hrají velkou roli v koevoluční interakci mezi hostitelem a parazitem.

MHC proteiny třídy I se nacházejí na povrchu všech buněk organismu a hrají zásadní roli v rozpoznávání patogenů, tím, že vážou proteiny, které se nacházejí uvnitř buněk. MHC II proteiny se vyskytují pouze na povrchu takzvaných buněk prezentujících antigen a spíše slouží k rozpoznávání extracelulárních patogenů.

Způsob rozpoznávání parazita pomocí MHC molekul odpovídá představě zámku a klíče mezi hostitelem a parazitem. Hlavní funkcí MHC proteinů je vázat proteinové fragmenty a předkládat je T buňkám. Proteinové fragmenty se váží na část MHC molekuly, která se označuje PBR (peptide binding region, oblast vázající peptid). Specifita PBR určuje, jaký proteinový zbytek bude MHC molekula vázat, což významně ovlivňuje, zda bude patogen rozpoznán. Vysoká variabilita v PBR zajišťuje vazbu různých proteinových zbytků.

Oblast PBR podléhá pozitivní selekci a je zde větší podíl nesynonymních mutací ku mutacím synonymním (Hughes and Yeager 1998, Amills et al. 2008, Fraser, Ramnarine and Neff 2010, Xu, Sun and Chen 2010, Li et al. 2011). Vysoká mutační rychlost ukazuje na selekční tlak ze strany parazitů (viz kapitola 2.2.). Mnoho příkladů dokládá variabilitu MHC alel ve schopnosti rozpoznávat parazitární onemocnění. U lososa obecného (*Salmo salar*), bylo ukázáno, že některé z 20 alel MHC IIB se vyskytují více u rodin rezistentních ke Gram-negativní proteobakterii *Aeromonas salmonica*. Další alela byla naopak spojena s nákazou touto bakterií (Lanfords et al. 2001). Některé alely HLA (lidské leukocytární antigeny) jsou pravděpodobně asociovány se zvýšenou rezistencí k viru HIV-1 (Luo et al. 2012). U síha (*Coregonus*) byla nalezena spojitost mezi MHC II alelami a náchylností larev k infekci *Pseudomonas fluorescens* (Wedekind et al. 2004). Stejně tak některé alely MHC II byly nalezeny s větší prevalencí u jazykoců (*Cynoglossus semilaevis*), kteří rychleji podleli nákaze bakterií *Vibrio anguillarum* (Li et al. 2011).

Polymorfismus v MHC je nejspíše řízen balancující selekcí, která je s největší pravděpodobností tvořena selekčním tlakem ze strany parazita (Klein and Ohuigin 1994), stejně tak jako je balancující selekce zdrojem polymorfismu v modelu MA. Předpokládá se, že kromě frekvenčně závislé selekce (popsané u modelu MA) hraje ve vzniku polymorfismu MHC roli ještě další mechanismus balancující selekce, výhoda heterozygotů (Lanfords et al. 2001, Bernatchez and Landry 2003, Garamszegi and Nunn 2011). Výhoda heterozygotů spočívá v tom, že jedinec nesoucí dvě různé alely – je tedy heterozygotem pro daný znak - má oproti homozygotovi vyšší fitness. V případě, že na hostitele působí selekce ze strany parazita, je heterozygot zvýhodněn schopností rozpoznávat více parazitů díky tomu, že jeho genotyp kóduje více typů MHC alel. Příkladem může být losos čavyča (*Oncorhynchus tshawytscha*), u nějž přežívá nákazu viru nekrózy krvetvorné tkáně větší procento heterozygotů v MHC II nežli homozygotů (Arkush et al. 2002).

Působení balancující selekce dokládá i to, že počet MHC alel koreluje s počtem druhů parazitů, který hostitelský druh napadá. Například u druhů hlodavců čelících většímu množství druhů parazitárních helmintů, byl prokázán i větší počet alel kódujících MHC II (de Bellocq, Charbonnel and Morand 2008), stejně tak vyšší variabilita v exonu 2 MHC u ryb skupiny *Cyprinidae* (kaprovití) korelovala s diverzitou ektoparazitů napadajících tuto skupinu (Šimková, Ottová and Morand 2006). Stejný jev byl pozorován i na koljušce tříostné (*Gasterosteus aculeatus*) v souvislosti s makroparazity (Wegner et al. 2003) i u lidských populací (Prugnolle et al. 2005). To ukazuje, že hostitelé, kteří jsou koevolučně spjati s větším množstvím parazitárních druhů, si udržují vyšší variabilitu v MHC II proteinech, což

pravděpodobně umožňuje ochranu každému jedinci proti různým parazitům. V rozporu je porovnání diverzity helmintárních parazitů primátů a množstvím alel MHC skupiny II, kde tato závislost nebyl nalezena (Garamszegi and Nunn 2011).

Různé MHC alely jsou spojeny také s rezistencí lidské populace ke smrtelnému onemocnění malárií způsobeného parazitem *Plasmodium falciparum* (Ghosh 2008). Jedním z nich je HLA-B53, který byl identifikován jako leukocytární antigen zvyšující rezistenci k tomuto parazitovi. Výskyt tohoto antigenu především u populací subsaharské Afriky, kde je vysoký výskyt malárie, ukazuje, že je předmětem parazity zprostředkované selekce. HLA-B53 váže region Th3R cirkumsporozoitárního proteinu (CSP) *P.falciparum*. V oblasti Gambie byla ovšem objevena variabilita v CSP malárie, objevují se zde minimálně 4 varianty CSP (Hill et al. 1994). HLA-B53 je schopen vázat varianty cp26 a cp29 tohoto proteinu. Varianty cp27 a cp28 se ale nevážou k HLA-B53 a nemůžou být tedy předloženy T buňkám, které by zahájily imunitní odpověď. Je tedy pravděpodobné, že polymorfismus genů kódujících CSP u *P.falciparum* vznikl jako adaptace na vysoce rozšířenou alelu HLA-B53 (Hill et al. 1994).

Dalším systémem, který se jeví jako fungující dle modelu MA, je interakce iniciačního faktoru eIF-4E papriky roční (*Capsicum annuum*) s proteinem VPg jejího virového patogenu. Různé izoláty viru Y brambor (PVY) dokáží specificky nakazit pouze některé genotypy papriky, v závislosti na svém genotypu (Ayme et al. 2007, Ben Khalifa et al. 2012). Proniknutí PVY do rostliny závisí na přímé interakci eukaryotického iniciačního faktoru eIF-4E s virovým proteinem VPg (Charron et al. 2008). eIF-4E slouží v buňce jako regulátor translace a váže 5' čepičku na mRNA. Díky proteinu VPg je virus schopen navázat svou RNA na místo čepičky. Změna sekvence v oblasti kódující eIF-4E, označované jako alela *pvr2*, nebo změna v oblasti kódující VPg způsobí, že tyto dva proteiny nejsou schopny vazby a nedojde k napadení rostliny virem (Charron 2008). Různé izotypy viru lišící se v sekvenci kódující VPg protein se liší ve schopnosti nakazit rostlinu nesoucí různé *pvr2* alely. Stejně tak některé z genotypů papriky odolávají nákaze pouze některými izotypy virů a k jiným jsou náchylné (Ayme et al. 2007). Jeden z genotypů papriky je ovšem nespecificky náchylný ke všem virům a některé viry jsou schopny nakazit všechny genotypy papriky, což je v rozporu s modelem MA. Zda interakci označíme jako specifickou či nespecifickou, ale bohužel velmi závisí na detekčních metodách a šíři zkoumaného vzorku (Frank 2000). Pokud by do analýzy bylo zahrnuto větší množství genotypů viru či rostlin, mohlo by vyjít najevo, že žádný z virů není schopen nakazit všechny genotypy rostliny. V této koevoluci můžeme sledovat vysokou specifitu, příznačnou pro model MA, některé rysy v této interakci však

připomínají spíše model GFG. Interakce tedy může být také příkladem propojení obou modelů.

5.3. Kombinace modelů gene-for-gene a matching-allele

Jak dokládá poslední zmíněný příklad, interakce mezi parazitem a hostitelem nemusí mít vlastnosti jen jednoho z výše popsaných modelů, ale mohou se v ní objevit prvky obou dvou. Případy, kdy se interakce chová striktně jako jeden z předešlých modelů, si pak lze představit jako dva extrémní konce jednoho kontinua (Agrawal and Lively 2002). Proto vznikla syntéza modelů GFG a MA, model, který ukazuje, že není nutné je od sebe oddělovat. Systém, ve kterém se alely nachází uprostřed spektra mezi dvěma modely, je charakterizován vznikem parciální infekce, ke které může dojít tímto způsobem: Hostitel nese alelu, která by v modelu GFG byla označena jako rezistentní. Tato alela kóduje protein – receptor, který zabraňuje infekci parazitem. Receptor ale nemusí přesně rozpoznávat parazitární elicitor – to znamená, že mezi nimi není plná shoda, která by byla zapotřebí k úplné (kvalitativní) rezistenci popsané v modelu MA. Receptor ale elicitor částečně rozpozná a organismus se dokáže parazitovi do určité míry bránit. V takovém případě bude rezistence pouze částečná. Částečná rezistence se může projevit například slabším průběhem nemoci, pozdějším rozvinutím imunitní reakce a brzkým vyléčením jedince. Pokud hostitel ponese alelu, která nebude kódovat funkční receptor, dojde k úplné nákaze parazitem. Naopak k úplné rezistenci dochází v případě, kdy hostitel nese rezistentní alelu a její produkt je v plné shodě (ve smyslu přirovnání k zámku a klíči) s parazitárním elicitem, což vede k zabránění infekci. Částečná nákaza může proběhnout i v případě, kdy je hostitelský receptor schopen velmi dobře rozpoznávat parazitární elicitor (ligand), ale parazitární produkt je produkován v takové míře, že dokáže rezistenci hostitele překonat. Alela parazita, která by přinášela svému nositeli tuto výhodu, by byla ve smyslu modelu GFG označena za virulentní. To znamená, že parazit může hostitele nejen nakazit, či nenakazit, ale i nakazit různou měrou (Agrawal and Lively 2002). V tomto modelu mohou být různé hostitelské genotypy nakaženy stejným parazitem, nákaza ale bude mít různou intenzitu. Nákaza proběhne jak v těch případech, kde by proběhla u modelu GFG, tak tam, kde by k nákaze došlo dle modelu MA a závisí nejen na prezenci či absenci molekuly, ale i na její shodě s antagonistickou molekulou (Agrawal and Lively 2002).

Další propojení modelů GFG a MA vychází z představy hostitelské rezistence jako procesu složeného ze dvou částí (Agrawal and Lively 2003). Hostitel musí parazita nejprve

rozpoznat a následně ho eliminovat. První část procesu v této představě odpovídá modelu MA, závisí tedy na shodě mezi receptorem a elicitorem. Druhý krok funguje na principu modelu GFG, tedy na principu korespondujících hostitelských rezistentních (náchylných) alel a parazitárních virulentních (avirulentních) alel (Agrawal and Lively 2003). Druhý krok – eliminace parazita je pro hostitele většinou nákladný (například enkapsulace, Kraaijeveld, Ferrari and Godfray 2002, Koella and Boete 2002) což odpovídá logice modelu GFG. Parazitovi se tak otevírají dvě cesty, jak úspěšně infikovat hostitele. Může zůstat nerozpoznán, díky tomu, že nese alelu fungující na principu MA, nebo v případě rozpoznání uplatnit virulentní alelu, která ho brání před zneškodněním hostitelem. Pokud hostitel nedokáže parazita rozpoznat, nedokáže ho ze svého organismu ani odstranit. V případě rozpoznání parazita závisí jeho úspěšnost na jeho virulenci a hostitelově rezistenci (Agrawal and Lively 2003).

5.3.1. Příklady komplexnějších interakcí

Příklady popsané v této kapitole demonstrují, že při setkání jednoho druhu hostitele s jedním druhem parazita může hrát roli několik genových interakcí, přičemž každá se chová jinak, podle jiného modelu nebo se nachází někde uvnitř kontinua mezi dvěma modely. O interakcích hostitel-parazit tedy nemůžeme striktně tvrdit, že se chovají podle jednoho či druhého modelu, je nutné brát v potaz jejich prolínání.

Virus Y brambor (PVY) je schopen napadat papriku díky interakci mezi parazitárním genem VPg a hostitelským *pvr2* (viz kapitola 5.2.1.). Pokud rostlina nese alelu *pvr2*³, stává se proti určitým parazitárním genotypům rezistentní. Tato rezistence není takzvaně trvalá – virus dokáže mutací ve VPg oblasti genomu tuto rezistenci překonat a rostlinu nakazit (Charron et al. 2008). Pokus, ve kterém byla rekombinována cDNA dvou klonů viru PVY, ukázal, že chiméry v oblasti cylindrical inclusion proteinu (CI), tedy viry nesoucí CI pocházející z genomu druhého klonu, mají zvýšenou schopnost překonávat rezistenci svého hostitele (Montarry et al. 2011). CI protein je helikáza, která hraje roli v pohybu viru mezi buňkami a v replikaci virového genomu (Carrington, Jensen and Schaad 1998). Význam CI proteinu jako faktoru ovlivňujícího působení parazita na hostitele je známý i u jiných virových onemocnění rostlin. CI je elicitorem mosaikového viru sóji – díky jeho produktu jsou rezistentní rostliny schopné virus rozpoznat, naopak u jiných patogenů je protein CI virulentním faktorem (Seo, Lee and Kim 2009). Například je virulentním faktorem viru mozaiky salátu (*Lettuce mosaic potyvirus*), kde funguje vedle VPg jako faktor překonávající imunitu rostliny navozenou eIF4E (Abdul-Razzak et al. 2009).

V hostitelsko parazitickém systému papriky a PVY má na rozdíl od výše zmíněných příkladů CI pouze nepřímý efekt na výsledek interakce, jeho přítomnost sama o sobě nezpůsobí prolomení imunity, pouze posiluje schopnost imunitu prolomit. CI protein v kontextu původního genotypu nezpůsobil žádné prolomení rezistence a ani v chimérickém genotypu neznamenal jeho přítomnost stoprocentní prolomení imunity rostliny (Montarry et al. 2011). To ukazuje, že u jednoho organismu se více genů hrajících roli v napadení hostitele může chovat podle různých modelů. Jak je ale vidět, ani stejný gen se u různých organismů a v různých interakcích nemusí chovat striktně podle jednoho modelu a jeho účinek může záviset na také tom, v jakém genotypu se nachází.

Roli může také hrát mnoho genů, z nichž každý sám o sobě má na interakci pouze malý účinek, takzvané QTL (quantitative trait loci, lokusy kvantitativních znaků) (Yang, Wu and Zhu 2008). U papriky bylo nalezeno množství QTL, které různou měrou přispívají k rezistenci papriky vůči různým potyvírům (Caranta, Lefebvre and Palloix 1997). U třech z těchto QTL byl prokázán jejich přímý vliv na stálost rezistence papriky zajištěnou alelou *pvr2*³. Rostliny, vlastnící *pvr2*³ a zároveň mající ve všech třech QTL varianty genu označené jako rezistentní, byly schopny odolávat virové infekci mnohem lépe než rostliny, které nesly náchylné alely ve všech třech QTL (Palloix, Ayme and Moury 2009). Zda několik lokusů u tohoto příkladu lze považovat čistě za příklad multilokusového modelu GFG, případně za kombinaci GFG a MA, nelze s určitostí tvrdit, protože neznáme variabilitu na straně parazita. Tento příklad ovšem znovu ukazuje složitost interakce a spojení několika modelů.

6. Další faktory ovlivňující interakci

Na koevoluci mezi hostitelem a parazitem a jejich populační dynamiku nemá vliv pouze genetická výbava obou antagonistů, ale velkou roli hraje také prostředí. Interakce, na jejichž výstupu se podílí i vnější vlivy, jsou označovány jako GxGxE (genotype by genotype by environment, interakce genotypů hostitele a parazita s prostředím) (Wolinska and King 2009). Zda parazit dokáže napadnout hostitele, případně s jakou intenzitou, může záviset na teplotě, zdrojích živin a podobně. Například vliv viru *Cryphonectria hypovirus-1* na sporulaci a růst houby *Cryphonectria parasitica* (původce rakoviny kůry kaštanovníku) výrazně závisí nejen na zvoleném kmenu viru, ale i na teplotě, při které probíhá nákaza (Bryner and Rigling 2011). Náchylnost hrachu *Acyrtosiphon pisum* k patogenní houbě *Erynia neoaphidis* se ukázala také jako závislá na teplotě, přičemž různé genotypy

reagovaly různě na odlišná teplotní rozmezí (Blanford et al. 2003). Podobně hrotnatky experimentálně nakažené parazitem *Caullerya mesnili* byly náchylnější v 12°C oproti 20°C, jeden z parazitárních kmenů byl ale v infekci hrotnatky úspěšnější ve 20°C (Schoebel et al. 2011). Naopak parazit *P. ramosa* je pro hrotnatky mnohem infekčnější ve vyšší teplotě (20-25°C), než v nižší (12-15°C). To může například vést ke snížení selekčního tlaku ze strany parazita v různých obdobích sezony (Mitchell et al. 2005). Předpokládá se, že prostředí může mít efekt nejen na fitness hostitele, fitness parazita nebo intenzitu nákazy, ale i na specifitu interakce – to znamená, že hostitelský genotyp, který je v jednom prostředí velmi náchylný k určitému parazitickému genotypu, může být v jiném prostředí k tomuto parazitickému genotypu rezistentní a naopak se stát náchylnějším ke genotypu, ke kterému byl v předchozím prostředí rezistentní (Wolinska and King 2009). Jestliže různorodé prostředí má odlišný vliv koevoluci hostitele a parazita, významnou roli budou pravděpodobně hrát také změny tohoto prostředí a jeho sezónnost (model např. Poisot, Thrall and Hochberg 2012). Různorodost prostředí může vytvářet selekční tlaky na populace v jiném směru, než působí koevoluce mezi hostitelem a parazitem. Je možné, že právě kvůli heterogenitě prostředí nemůžeme v přírodě pozorovat jednoduché doklady koevoluce, které bychom předpokládali na základě koevolučních teorií (Wolinska and King 2009). Matematický model dokládá, že měnící se prostředí může v určitých případech, především v závislosti na rychlosti změny podmínek, zastavit negativně frekvenčně závislou selekci u systémů fungujících na principu MA, či vytvářet genetickou variabilitu v systému fungujícím jako GFG i bez přítomnosti nákladů na rezistentní a virulentní alely (Mostowy and Engelstadter 2011). Další z matematických simulací, modelující GFG v heterogenním prostředí ukazuje, že pokud budeme sledovat metapopulaci vyvíjející se v heterogenním prostředí, kde mezi subpopulacemi probíhá genový tok, nezaznamenáme populační cykly, které by se projevil v jednotlivých subpopulacích, a zachová se stálá frekvence imunokompetentních alel v populaci. K takovým výsledkům dojdeme v případě, kdy prostředí může v jednotlivých subpopulacích různě ovlivňovat náklady na rezistenci, virulenci, ale také třeba újmu, kterou parazit hostiteli působí (Tellier and Brown 2011). To ukazuje, že z frekvence alel v populaci není vždy možné odvodit typ interakce a naopak, bez znalosti působení prostředí nelze dobře předvídat chování dané interakce. Pozorování společného vývoje šesti subpopulací lnu setého (*Linum usitatissimum*) a rzi *Melampsora lini*, ukázalo, že lze v populacích sledovat některé z principů, které popisují výše zmíněné modely, vzhledem ke strukturovanosti populace je ale lze těžko předpovídat. V průběhu koevoluce byly pozorovány změny virulence a rezistence, v některých ze subpopulací bylo možné pozorovat znaky

frekvenčně závislé selekce či závislost schopnosti parazitů infikovat hostitele na základě přítomnosti určitých alel (GxG interakce). Bylo zaznamenáno i snižování rezistence, které značí přítomnost nákladů na rezistenci. Ovšem vývoj se mezi populacemi svým charakterem značně lišil, což ukazuje na působení mnoha vlivů zároveň (Thrall et al. 2012).

Závěr

Zásadní komplikací při využití teorií i modelů je především jejich nejednotné používání a názvosloví, případně jejich nedostatečná všeobecná rozšířenost a povědomí o nich. Pro pochopení problematiky a schopnost orientace v ní je nutné různé modely a teorie jednoznačně definovat, protože jejich výstupy se mnohou výrazně lišit. Hlavním problémem při popisu koevoluce hostitele a parazita je potom nedostatečná znalost principu interakce a molekul v ní zúčastněných. Často může pohled na koevoluci zkreslovat nekompletní informace o polymorfismu. Mnoho výzkumů se zaměřuje pouze na variabilitu u jednoho z antagonistů, především u hostitele, přestože při interakcích typu GxG je nutná variabilita obou populací a její neznalost nás omezuje ve schopnosti určit vlastnosti koevoluce. Stejně tak je pro získání informací o evoluci molekulární interakce nutné dlouhodobější sledování společného vývoje antagonistů. Je ale zřejmé, že je v koevoluci parazita a hostitele možné najít znaky podporující zde popisované modely. Musíme brát v potaz, že napadení parazitem většinou nespočívá na jednom páru interagujících molekul, tudíž výsledná rezistence, případně virulence, bude pravděpodobně jevem kvantitativním, nikoli kvalitativním. Příklady nasvědčují tomu, že skutečné interakci mezi hostitelem a parazitem odpovídá spíše propojení modelů a jednotlivé modely nelze od sebe striktně oddělit. Detailnější výzkum hostitelsko-parazitické interakce může vést k tvorbě funkčních modelů přínosných například při vývoji vakcín, udržení rezistence monokultur a podobně, vždy ale musíme dbát na to, že každý matematický model přírody bude značně zjednodušující.

Literatura

- Abdul-Razzak, A., T. Guiraud, M. Peypelut, J. Walter, M. C. Houvenaghel, T. Candresse, O. Le Gall & S. German-Retana (2009) Involvement of the cylindrical inclusion (CI) protein in the overcoming of an eIF4E-mediated resistance against Lettuce mosaic potyvirus. *Molecular Plant Pathology*, 10, 109-113.
- Agrawal, A. & C. M. Lively (2002) Infection genetics: gene-for-gene versus matching-alleles models and all points in between. *Evolutionary Ecology Research*, 4, 79-90.
- Agrawal, A. F. & C. M. Lively (2003) Modelling infection as a two-step process combining gene-for-gene and matching-allele genetics. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 270, 323-334.
- Aguilera, G., G. Refregier, R. Yockteng, E. Fournier & T. Giraud (2009) Rapidly evolving genes in pathogens: Methods for detecting positive selection and examples among fungi, bacteria, viruses and protists Discussion. *Infection Genetics and Evolution*, 9, 656-670.
- Altermatt, F. & D. Ebert (2007) The Genotype Specific Competitive Ability Does Not Correlate with Infection in Natural *Daphnia magna* Populations. *Plos One*, 2.
- Amills, M., O. Ramirez, A. Tomas, G. Obexer-Ruff & O. Vidal (2008) Positive selection on mammalian MHC-DQ genes revisited from a multispecies perspective. *Genes and Immunity*, 9, 651-658.
- Araki, H., D. C. Tian, E. M. Goss, K. Jakob, S. S. Hallclorsdottir, M. Kreitman & J. Bergelson (2006) Presence/absence polymorphism for alternative pathogenicity islands in *Pseudomonas viridiflava*, a pathogen of *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103, 5887-5892.
- Arkush, K. D., A. R. Giese, H. L. Mendonca, A. M. McBride, G. D. Marty & P. W. Hedrick (2002) Resistance to three pathogens in the endangered winter-run chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*): effects of inbreeding and major histocompatibility complex genotypes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 59, 966-975.
- Ayme, V., J. Petit-Pierre, S. Souche, A. Palloix & B. Moury (2007) Molecular dissection of the potato virus YVPg virulence factor reveals complex adaptations to the pvr2 resistance allelic series in pepper. *Journal of General Virology*, 88, 1594-1601.
- Bahri, B., O. Kaltz, M. Leconte, C. de Vallavieille-Pope & J. Enjalbert (2009) Tracking costs of virulence in natural populations of the wheat pathogen, *Puccinia striiformis* f.sp.tritici. *Bmc Evolutionary Biology*, 9, 12.
- Bangham, J., D. J. Obbard, K. W. Kim, P. R. Haddrill & F. M. Jiggins (2007) The age and evolution of an antiviral resistance mutation in *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 274, 2027-2034.
- Bartlett, B. J., P. Isakson, J. Lewerenz, H. Sanchez, R. W. Kotzebue, R. Cumming, G. L. Harris, I. P. Nezis, D. Schubert, A. Simonsen & K. D. Finley (2011) p62, Ref(2)P and ubiquitinated proteins are conserved markers of neuronal aging, aggregate formation and progressive autophagic defects. *Autophagy*, 7, 572-583.
- Ben Khalifa, M., V. Simon, H. Fakhfakh & B. Moury (2012) Tunisian Potato virus Y isolates with unnecessary pathogenicity towards pepper: support for the matching allele model in eIF4E resistance-potyvirus interactions. *Plant Pathology*, 61, 441-447
- Berenos, C., P. Schmid-Hempel & K. M. Wegner (2012) Complex adaptive responses during antagonistic coevolution between *Tribolium castaneum* and its natural parasite *Nosema whitei* revealed by multiple fitness components. *Bmc Evolutionary Biology*, 12, 10.
- Bernatchez, L. & C. Landry (2003) MHC studies in nonmodel vertebrates: what have we learned about natural selection in 15 years? *Journal of Evolutionary Biology*, 16, 363-377.
- Blanford, S., M. B. Thomas, C. Pugh & J. K. Pell (2003) Temperature checks the Red Queen? Resistance and virulence in a fluctuating environment. *Ecology Letters*, 6, 2-5.
- Boots, M. & M. Begon (1993) TRADE-OFFS WITH RESISTANCE TO A GRANULOSIS-VIRUS IN THE INDIAN MEAL MOTH, EXAMINED BY A LABORATORY EVOLUTION EXPERIMENT. *Functional Ecology*, 7, 528-534.
- Boots, M. & Y. Haraguchi (1999) The evolution of costly resistance in host-parasite systems. *American Naturalist*, 153, 359-370.
- Boyes, D. C., J. Nam & J. L. Dangl (1998) The *Arabidopsis thaliana* RPM1 disease resistance gene product is a peripheral plasma membrane protein that is degraded coincident with the hypersensitive response. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95, 15849-15854.

- Brockhurst, M. A. (2011) Sex, Death, and the Red Queen. *Science*, 333, 166-167.
- Brown, J. K. M. (2003) A cost of disease resistance: paradigm or peculiarity? *Trends in Genetics*, 19, 667-671.
- Bryner, S. F. & D. Rigling (2011) Temperature-Dependent Genotype-by-Genotype Interaction between a Pathogenic Fungus and Its Hyperparasitic Virus. *American Naturalist*, 177, 65-74.
- Buckling, A. & P. B. Rainey (2002) Antagonistic coevolution between a bacterium and a bacteriophage. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 269, 931-936.
- Caranta, C., V. Lefebvre & A. Palloix (1997) Polygenic resistance of pepper to potyviruses consists of a combination of isolate-specific and broad-spectrum quantitative trait loci. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 10, 872-878.
- Carius, H. J., T. J. Little & D. Ebert (2001) Genetic variation in a host-parasite association: Potential for coevolution and frequency-dependent selection. *Evolution*, 55, 1136-1145.
- Carrington, J. C., P. E. Jensen & M. C. Schaad (1998) Genetic evidence for an essential role for potyvirus CI protein in cell-to-cell movement. *Plant Journal*, 14, 393-400.
- Carrol, L. (1996) Alenčina dobrodružství v říši divů a za zrcadlem. Vyd. tohoto překl. 3. Překlad Jaroslav Císař. Ilustrace John Tenniel. Praha: Aurora, 323 s. ISBN 80-859-7409-6.
- Castagnone-Sereno, P., M. Bongiovanni & E. Wajnberg (2007) Selection and parasite evolution: a reproductive fitness cost associated with virulence in the parthenogenetic nematode *Meloidogyne incognita*. *Evolutionary Ecology*, 21, 259-270.
- Charron, C., M. Nicolai, J. L. Gallois, C. Robaglia, B. T. Moury, A. Palloix & C. Caranta (2008) Natural variation and functional analyses provide evidence for co-evolution between plant eIF4E and potyviral VPg. *Plant Journal*, 54, 56-68.
- Chung, E. H., L. da Cunha, A. J. Wu, Z. Y. Gao, K. Cherkis, A. J. Afzal, D. Mackey & J. L. Dangl (2011) Specific Threonine Phosphorylation of a Host Target by Two Unrelated Type III Effectors Activates a Host Innate Immune Receptor in Plants. *Cell Host & Microbe*, 9, 125-136.
- Cotter, S. C., L. E. B. Kruuk & K. Wilson (2004) Costs of resistance: genetic correlations and potential trade-offs in an insect immune system. *Journal of Evolutionary Biology*, 17, 421-429.
- Danilova, N. (2006) The evolution of immune mechanisms. *Journal of Experimental Zoology Part B-Molecular and Developmental Evolution*, 306B, 496-520.
- Dawkins, R. & J. R. Krebs (1979) ARMS RACES BETWEEN AND WITHIN SPECIES. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 205, 489-511.
- de Bellocq, J. G., N. Charbonnel & S. Morand (2008) Coevolutionary relationship between helminth diversity and MHC class II polymorphism in rodents. *Journal of Evolutionary Biology*, 21, 1144-1150.
- Decaestecker, E., S. Gaba, J. A. M. Raeymaekers, R. Stoks, L. Van Kerckhoven, D. Ebert & L. De Meester (2007) Host-parasite 'Red Queen' dynamics archived in pond sediment. *Nature*, 450, 870-U16.
- Demas, G. E. & R. J. Nelson (1998) Photoperiod, ambient temperature, and food availability interact to affect reproductive and immune function in adult male deer mice (*Peromyscus maniculatus*). *Journal of Biological Rhythms*, 13, 253-262.
- Dezelee, S., F. Bras, D. Contamine, M. Lopezferber, D. Segretain & D. Teninges (1989) MOLECULAR ANALYSIS OF REF(2)P, A DROSOPHILA GENE IMPLICATED IN SIGMA RHABDOVIRUS MULTIPLICATION AND NECESSARY FOR MALE-FERTILITY. *Embo Journal*, 8, 3437-3446.
- Duncan, A. B., S. Fellous & O. Kaltz (2011) REVERSE EVOLUTION: SELECTION AGAINST COSTLY RESISTANCE IN DISEASE-FREE MICROCOSM POPULATIONS OF PARAMECIUM CAUDATUM. *Evolution*, 65, 3462-3474.
- Dybdahl, M. F. & C. M. Lively (1998) Host-parasite coevolution: Evidence for rare advantage and time-lagged selection in a natural population. *Evolution*, 52, 1057-1066.
- Fenton, A., J. Antonovics & M. A. Brockhurst (2009) Inverse-Gene-for-Gene Infection Genetics and Coevolutionary Dynamics. *American Naturalist*, 174, E230-E242.
- Fenton, A. & M. A. Brockhurst (2007) Epistatic Interactions Alter Dynamics of Multilocus Gene-for-Gene Coevolution. *Plos One*, 2.
- Flegr, J. (2009). Evoluční biologie. Vyd. 2. Praha: Academia, ISBN 978-80-200-1767-3..
- Fleuriot, A. (1980) POLYMORPHISM OF THE HEREDITARY SIGMA VIRUS IN NATURAL-POPULATIONS OF DROSOPHILA-MELANOGASTER. *Genetics*, 95, 459-465.
- Flor, H. H. (1956) THE COMPLEMENTARY GENIC SYSTEMS IN FLAX AND FLAX RUST. *Advances in Genetics Incorporating Molecular Genetic Medicine*, 8, 29-54.
- *--- (1971) CURRENT STATUS OF GENE-FOR-GENE CONCEPT. *Annual Review of Phytopathology*, 9, 275-&.

- Frank, S. A. (1993a) COEVOLUTIONARY GENETICS OF PLANTS AND PATHOGENS. *Evolutionary Ecology*, 7, 45-75.
- (1993b) SPECIFICITY VERSUS DETECTABLE POLYMORPHISM IN HOST-PARASITE GENETICS. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 254, 191-197.
- (2000) Specific and non-specific defense against parasitic attack. *Journal of Theoretical Biology*, 202, 283-304.
- Fraser, B. A., I. W. Ramnarine & B. D. Neff (2010) Selection at the MHC class IIB locus across guppy (*Poecilia reticulata*) populations. *Heredity*, 104, 155-167.
- Gal-Mor, O. & B. B. Finlay (2006) Pathogenicity islands: a molecular toolbox for bacterial virulence. *Cellular Microbiology*, 8, 1707-1719.
- Galan, J. E. & A. Collmer (1999) Type III secretion machines: Bacterial devices for protein delivery into host cells. *Science*, 284, 1322-1328.
- Gandon, S., A. Buckling, E. Decaestecker & T. Day (2008) Host-parasite coevolution and patterns of adaptation across time and space. *Journal of Evolutionary Biology*, 21, 1861-1866.
- Garamszegi, L. Z. & C. L. Nunn (2011) Parasite-mediated evolution of the functional part of the MHC in primates. *Journal of Evolutionary Biology*, 24, 184-195.
- Ghosh, K. (2008) Evolution and selection of human leukocyte antigen alleles by *Plasmodium falciparum* infection. *Human Immunology*, 69, 856-860.
- Gomez, P. & A. Buckling (2011) Bacteria-Phage Antagonistic Coevolution in Soil. *Science*, 332, 106-109.
- Grant, M. R., L. Godiard, E. Straube, T. Ashfield, J. Lewald, A. Sattler, R. W. Innes & J. L. Dangl (1995) STRUCTURE OF THE ARABIDOPSIS RPM1 GENE ENABLING DUAL-SPECIFICITY DISEASE RESISTANCE. *Science*, 269, 843-846.
- Grant, M. R., J. M. McDowell, A. G. Sharpe, M. D. T. Zabala, D. J. Lydiate & J. L. Dangl (1998) Independent deletions of a pathogen-resistance gene in Brassica and Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95, 15843-15848.
- Hahn, U. K., R. C. Bender & C. J. Bayne (2001) Killing of *Schistosoma mansoni* sporocysts by hemocytes from resistant *Biomphalaria glabrata*: Role of reactive oxygen species. *Journal of Parasitology*, 87, 292-299.
- Hamilton, W. D. (1980) SEX VERSUS NON-SEX VERSUS PARASITE. *Oikos*, 35, 282-290.
- Hamilton, W. D., R. Axelrod & R. Tanese (1990) SEXUAL REPRODUCTION AS AN ADAPTATION TO RESIST PARASITES (A REVIEW). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87, 3566-3573.
- Hill, A. V. S., S. N. R. Yates, C. E. M. Allsopp, S. Gupta, S. C. Gilbert, A. Lalvani, M. Aidoo, M. Davenport & M. Plebanski (1994) HUMAN-LEUKOCYTE ANTIGENS AND NATURAL-SELECTION BY MALARIA. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 346, 379-385.
- Hosken, D. J. (2001) Sex and death: microevolutionary trade-offs between reproductive and immune investment in dung flies. *Current Biology*, 11, R379-R380.
- Hughes, A. L. & M. Yeager (1998) Natural selection at major histocompatibility complex loci of vertebrates. *Annual Review of Genetics*, 32, 415-435.
- Kim, M. G., L. da Cunha, A. J. McFall, Y. Belkhadir, S. DebRoy, J. L. Dangl & D. Mackey (2005) Two *Pseudomonas syringae* type III effectors inhibit RIM-regulated basal defense in Arabidopsis. *Cell*, 121, 749-759.
- Klein, J. & C. Ohuigin (1994) MHC POLYMORPHISM AND PARASITES. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 346, 351-357.
- Koella, J. C. & C. Boete (2002) A genetic correlation between age at pupation and melanization immune response of the yellow fever mosquito *Aedes aegypti*. *Evolution*, 56, 1074-1079.
- Konig, C. & P. Schmidhempel (1995) FORAGING ACTIVITY AND IMMUNOCOMPETENCE IN WORKERS OF THE BUMBLE BEE, *BOMBUS-TERRESTRIS* L. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 260, 225-227.
- Kraaijeveld, A. R., J. Ferrari & H. C. J. Godfray (2002) Costs of resistance in insect-parasite and insect-parasitoid interactions. *Parasitology*, 125, S71-S82.
- Kraaijeveld, A. R. & H. C. J. Godfray (1997) Trade-off between parasitoid resistance and larval competitive ability in *Drosophila melanogaster*. *Nature*, 389, 278-280.
- Kraaijeveld, A. R., E. C. Limentani & H. C. J. Godfray (2001) Basis of the trade-off between parasitoid resistance and larval competitive ability in *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 268, 259-261.
- Ladle, R. J. (1992) PARASITES AND SEX - CATCHING THE RED QUEEN. *Trends in Ecology & Evolution*, 7, 405-408.

- Langefors, A., J. Lohm, M. Grahn, O. Andersen & T. von Schantz (2001) Association between major histocompatibility complex class IIB alleles and resistance to *Aeromonas salmonicida* in Atlantic salmon. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 268, 479-485.
- Li, C. M., Q. Q. Zhang, Y. Yu, S. Li, Q. W. Zhong, Y. Y. Sun, Z. G. Wang, J. Qi, J. M. Zhai & X. B. Wang (2011) Sequence polymorphism of two major histocompatibility (MH) class II B genes and their association with *Vibrio anguillarum* infection in half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*). *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 29, 1275-1286.
- Lim, M. T. S. & B. N. Kunkel (2004) The *Pseudomonas syringae* type III effector AvrRpt2 promotes virulence independently of RIN4, a predicted virulence target in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Journal*, 40, 790-798.
- Little, T. J., H. J. Carius, O. Sakwinska & D. Ebert (2002) Competitiveness and life-history characteristics of *Daphnia* with respect to susceptibility to a bacterial pathogen. *Journal of Evolutionary Biology*, 15, 796-802.
- Lively, C. M. 2009. Antagonistic Coevolution and Sex.
- Lively, C. M. & M. F. Dybdahl (2000) Parasite adaptation to locally common host genotypes. *Nature*, 405, 679-681.
- Lochmiller, R. L. & C. Deerenberg (2000) Trade-offs in evolutionary immunology: just what is the cost of immunity? *Oikos*, 88, 87-98.
- Luo, M., C. A. Daniuk, T. O. Diallo, R. E. Capina, J. Kimani, C. Wachihi, M. Kimani, T. Bielawny, T. Peterson, M. G. R. Mendoza, S. Kiazzyk, T. B. Ball & F. A. Plummer (2012) For Protection from HIV-1 Infection, More Might Not Be Better: a Systematic Analysis of HIV Gag Epitopes of Two Alleles Associated with Different Outcomes of HIV-1 Infection. *Journal of Virology*, 86, 1166-1180.
- Lythgoe, K. A. & A. F. Read (1998) Catching the Red Queen? The advice of the rose. *Trends in Ecology & Evolution*, 13, 473-474.
- Mackey, D., Y. Belkadir, J. M. Alonso, J. R. Ecker & J. L. Dangl (2003) *Arabidopsis* RIN4 is a target of the type III virulence effector AvrRpt2 and modulates RPS2-mediated resistance. *Cell*, 112, 379-389.
- Mackey, D., B. F. Holt, A. Wiig & J. L. Dangl (2002) RIN4 interacts with *Pseudomonas syringae* type III effector molecules and is required for RPM1-mediated resistance in *Arabidopsis*. *Cell*, 108, 743-754.
- Martin, L. B., A. Scheuerlein & M. Wikelski (2003) Immune activity elevates energy expenditure of house sparrows: a link between direct and indirect costs? *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 270, 153-158.
- McKean, K. A., C. P. Yourth, B. P. Lazzaro & A. G. Clark (2008) The evolutionary costs of immunological maintenance and deployment. *Bmc Evolutionary Biology*, 8.
- Mitchell, S. E., E. S. Rogers, T. J. Little & A. F. Read (2005) Host-parasite and genotype-by-environment interactions: Temperature modifies potential for selection by a sterilizing pathogen. *Evolution*, 59, 70-80.
- Mone, Y., A. C. Ribou, C. Cosseau, D. Duval, A. Theron, G. Mitta & B. Gourbal (2011) An example of molecular co-evolution: Reactive oxygen species (ROS) and ROS scavenger levels in *Schistosoma mansoni*/*Biomphalaria glabrata* interactions. *International Journal for Parasitology*, 41, 721-730.
- Montarry, J., J. Doumayrou, V. Simon & B. Moury (2011) Genetic background matters: a plant-virus gene-for-gene interaction is strongly influenced by genetic contexts. *Molecular Plant Pathology*, 12, 911-920.
- Morel, J. B. & J. L. Dangl (1997) The hypersensitive response and the induction of cell death in plants. *Cell Death and Differentiation*, 4, 671-683.
- Mostowj, R. & J. Engelstadter (2011) The impact of environmental change on host-parasite coevolutionary dynamics. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 278, 2283-2292.
- Mourao, M. D., N. Dinguirard, G. R. Franco & T. P. Yoshino (2009) Role of the Endogenous Antioxidant System in the Protection of *Schistosoma mansoni* Primary Sporocysts against Exogenous Oxidative Stress. *Plos Neglected Tropical Diseases*, 3.
- Nelson, R. J., G. E. Demas & S. L. Klein (1998) Photoperiodic mediation of seasonal breeding and immune function in rodents: A multifactorial approach. *American Zoologist*, 38, 226-237.
- Nilsson, J. A., M. Granbom & L. Raberg (2007) Does the strength of an immune response reflect its energetic cost? *Journal of Avian Biology*, 38, 488-494.
- Nimchuk, Z., E. Marois, S. Kjemtrup, R. T. Leister, F. Katagiri & J. L. Dangl (2000) Eukaryotic fatty acylation drives plasma membrane targeting and enhances function of several type III effector proteins from *Pseudomonas syringae*. *Cell*, 101, 353-363.
- Obbard, D. J., F. M. Jiggins, D. L. Halligan & T. J. Little (2006) Natural selection drives extremely rapid evolution in antiviral RNAi genes. *Current Biology*, 16, 580-585.
- Obbard, D. J., J. J. Welch, K. W. Kim & F. M. Jiggins (2009) Quantifying Adaptive Evolution in the *Drosophila* Immune System. *Plos Genetics*, 5, 13.

- Palloix, A., V. Ayme & B. Moury (2009) Durability of plant major resistance genes to pathogens depends on the genetic background, experimental evidence and consequences for breeding strategies. *New Phytologist*, 183, 190-199.
- Poisot, T., P. H. Thrall & M. E. Hochberg (2012) Trophic network structure emerges through antagonistic coevolution in temporally varying environments. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 279, 299-308.
- Povey, S., S. C. Cotter, S. J. Simpson, K. P. Lee & K. Wilson (2009) Can the protein costs of bacterial resistance be offset by altered feeding behaviour? *Journal of Animal Ecology*, 78, 437-446.
- Prugnolle, F., A. Manica, M. Charpentier, J. F. Guegan, V. Guernier & F. Balloux (2005) Pathogen-driven selection and worldwide HLA class I diversity. *Current Biology*, 15, 1022-1027.
- Ritter, C. & J. L. Dangl (1995) THE AVRRPM1 GENE OF PSEUDOMONAS-SYRINGAE PV MACULICOLA IS REQUIRED FOR VIRULENCE ON ARABIDOPSIS. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 8, 444-453.
- Sadd, B. M. & P. Schmid-Hempel (2009) Principles of ecological immunology. *Evolutionary Applications*, 2, 113-121.
- Sasaki, A. (2000) Host-parasite coevolution in a multilocus gene-for-gene system. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 267, 2183-2188.
- Schmid-Hempel, P. (2003) Variation in immune defence as a question of evolutionary ecology. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 270, 357-366.
- Schoebel, C. N., C. Tellenbach, P. Spaak & J. Wolinska (2011) Temperature effects on parasite prevalence in a natural hybrid complex. *Biology Letters*, 7, 108-111.
- Schulte, R. D., C. Makus, B. Hasert, N. K. Michiels & H. Schulenburg (2010) Multiple reciprocal adaptations and rapid genetic change upon experimental coevolution of an animal host and its microbial parasite. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107, 7359-7364.
- Sears, B. F., J. R. Rohr, J. E. Allen & L. B. Martin (2011) The economy of inflammation: when is less more? *Trends in Parasitology*, 27, 382-387.
- Segarra, J. (2005) Stable polymorphisms in a two-locus gene-for-gene system. *Phytopathology*, 95, 728-736.
- Seo, J. K., S. H. Lee & K. H. Kim (2009) Strain-Specific Cylindrical Inclusion Protein of Soybean mosaic virus Elicits Extreme Resistance and a Lethal Systemic Hypersensitive Response in Two Resistant Soybean Cultivars. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 22, 1151-1159.
- Seppala, O. & J. Jokela (2010) MAINTENANCE OF GENETIC VARIATION IN IMMUNE DEFENSE OF A FRESHWATER SNAIL: ROLE OF ENVIRONMENTAL HETEROGENEITY. *Evolution*, 64, 2397-2407.
- Sheldon, B. C. & S. Verhulst (1996) Ecological immunology: Costly parasite defences and trade-offs in evolutionary ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, 11, 317-321.
- Simkova, A., E. Ottova & S. Morand (2006) MHC variability, life-traits and parasite diversity of European cyprinid fish. *Evolutionary Ecology*, 20, 465-477.
- Simmons, L. W. & B. Roberts (2005) Bacterial immunity traded for sperm viability in male crickets. *Science*, 309, 2031-2031.
- Siva-Jothy, M. T. & J. J. W. Thompson (2002) Short-term nutrient deprivation affects immune function. *Physiological Entomology*, 27, 206-212.
- Stahl, E. A., G. Dwyer, R. Mauricio, M. Kreitman & J. Bergelson (1999) Dynamics of disease resistance polymorphism at the Rpm1 locus of Arabidopsis. *Nature*, 400, 667-671.
- Stearns, S. C. 1992. The evolution of life histories. UK: Oxford University Press.
- Strauss, S. Y., J. A. Rudgers, J. A. Lau & R. E. Irwin (2002) Direct and ecological costs of resistance to herbivory. *Trends in Ecology & Evolution*, 17, 278-285.
- Tellier, A. & J. K. M. Brown (2011) Spatial heterogeneity, frequency-dependent selection and polymorphism in host-parasite interactions. *Bmc Evolutionary Biology*, 11.
- Thompson, J. N. (1994) The coevolutionary process. Chicago: University of Chicago Press, ISBN 02-267-9760-0.
- Thompson, J. N. & J. J. Burdon (1992) GENE-FOR-GENE COEVOLUTION BETWEEN PLANTS AND PARASITES. *Nature*, 360, 121-125.
- Thrall, P. H., A. L. Laine, M. Ravensdale, A. Nemri, P. N. Dodds, L. G. Barrett & J. J. Burdon (2012) Rapid genetic change underpins antagonistic coevolution in a natural host-pathogen metapopulation. *Ecology Letters*, 15, 425-435.
- Tian, D., M. B. Traw, J. Q. Chen, M. Kreitman & J. Bergelson (2003) Fitness costs of R-gene-mediated resistance in Arabidopsis thaliana. *Nature*, 423, 74-77.
- Van Valen, L. 1973. A new evolutionary law. 1-30. *Evolutionary Theory*.

- Venesky, M. D., T. E. Wilcoxon, M. A. Rensel, L. Rollins-Smith, J. L. Kerby & M. J. Parris (2012) Dietary protein restriction impairs growth, immunity, and disease resistance in southern leopard frog tadpoles. *Oecologia*, 169, 23-31.
- Wedekind, C., M. Walker, J. Portmann, B. Cenni, R. Muller & T. Binz (2004) MHC-linked susceptibility to a bacterial infection, but no MHC-linked cryptic female choice in whitefish. *Journal of Evolutionary Biology*, 17, 11-18.
- Wegner, K. M., T. B. H. Reusch & M. Kalbe (2003) Multiple parasites are driving major histocompatibility complex polymorphism in the wild. *Journal of Evolutionary Biology*, 16, 224-232.
- Westerdahl, H., M. Asghar, D. Hasselquist & S. Bensch (2012) Quantitative disease resistance: to better understand parasite-mediated selection on major histocompatibility complex. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 279, 577-584.
- Windsor, D. A. (1998) Most of the species on Earth are parasites. *International Journal for Parasitology*, 28, 1939-1941.
- Wolinska, J. & K. C. King (2009) Environment can alter selection in host-parasite interactions. *Trends in Parasitology*, 25, 236-244.
- Woolhouse, M. E. J., J. P. Webster, E. Domingo, B. Charlesworth & B. R. Levin (2002) Biological and biomedical implications of the co-evolution of pathogens and their hosts. *Nature Genetics*, 32, 569-577.
- Xu, T. J., Y. N. Sun & S. L. Chen (2010) Allelic variation, balancing selection and positive selected sites detected from MHC class I alpha gene of olive flounder. *Genetica*, 138, 1251-1259.
- Yang, J., W. Wu & J. Zhu (2008) Mapping interspecific genetic architecture in a host-parasite interaction system. *Genetics*, 178, 1737-1743.

* značí sekundární citaci

Seznam obrázků

Obr.1: Koevoluční závody ve zbrojení vs. teorie Červené královny

Woolhouse, M. E. J., J. P. Webster, E. Domingo, B. Charlesworth & B. R. Levin (2002) Biological and biomedical implications of the co-evolution of pathogens and their hosts. *Nature Genetics*, 32, 569-577.

Obr.2: Krátký časový interval koevoluce

Gandon, S., A. Buckling, E. Decaestecker & T. Day (2008) Host-parasite coevolution and patterns of adaptation across time and space. *Journal of Evolutionary Biology*, 21, 1861-1866.

Obr. 3 Schéma reakce huseníčku na napadení bakterií *Pseudomonas syringae* pomocí proteinu AvrRpm1

Mackey, D., B. F. Holt, A. Wiig & J. L. Dangl (2002) RIN4 interacts with *Pseudomonas syringae* type III effector molecules and is required for RPM1-mediated resistance in Arabidopsis. *Cell*, 108, 743-754.

Obr. 4 Schéma reakce huseníčku na napadení *Pseudomonas syringae* pomocí proteinu AvrRpt

Mackey, D., Y. Belkhadir, J. M. Alonso, J. R. Ecker & J. L. Dangl (2003) Arabidopsis RIN4 is a target of the type III virulence effector AvrRpt2 and modulates RPS2-mediated resistance. *Cell*, 112, 379-389.