

Oči a medúzy

Uvedenými lokalitami však výčet kambrických lagerstätten nekončí. Lokality s burgesským typem zachování jsou známy též z několika míst ve Spojených státech amerických (souvrství Wheeler, Marjum a Weeks z oblasti Velké pánve), z Číny – tzv. chetchangská (Hetang) a nioutchitchangská (Niutitang) fauna s houbovci, kuanšanská (Guanshan), palangská (Balang) a kchajliská (Kaili) biota aj. – a dalších míst světa.

Jedno z dalších kambrických nalezišť tohoto typu, v současnosti intenzivně studované Johnem Patersonem z Univerzity v Nové Anglii a jeho týmem, bylo objeveno na Klokáním ostrově v jižní Austrálii. Ze zdejších břidlic v Emu Bay popsal první zkameněliny s měkkými a lehce sklerotizovanými těly v 70. letech rodák z Ústí nad Labem Martin Glaessner. Dodnes od sud bylo zdokumentováno diverzifikované společenstvo zahrnující trilobity a další členovce, lobopody, paleoskolecidy, houbovce i problematické tvory, kteří obývali hlubší prostorově omezenou mořskou pánev blízko tehdejší pevniny. V r. 2011 byly z Emu Bay popsány dokonale zachovalé oči anomalokarise, každé s více než 16 tisíci čočkami. Stářím jsou místní břidlice o něco mladší než na na-



lezištích Čcheng-fiang a Sirius Passet, a starší než burgesské břidlice.

V r. 2019 vyšel článek o objevu nového lagerstätte burgesského typu v Číně. Čchingfiangská (Qingjiang) biota – jak byla

oficiálně nazvaná týmem autorů vedeným čínskou paleontoložkou Dongjing Fuovou – je, co se týče geologického stáří, téměř totožná s čchengfiangskou biotou. Na rozdíl od Čcheng-fiangu však organismy čchingfiangské bioty obývaly šelfové moře dál od tehdejších břehů. Podobně jako u ostatních kambrických lagerstätten burgesského typu, i zde dosahují největší diverzity členovci a houbovci. Ale z hlediska počtu jedinců měli nejhojnější zastoupení žahavci, mezi nimiž vynikají dokonale zachované medúzy (obr. 12). Za zmínku stojí i hojné nálezy pravděpodobných rypeček (tzv. bahenní dráčci – drobní bezobratlí příbuzní hlavatcům, žijící v usazeninách na mořském dně), které jsou jinak ve fosilním záznamu extrémně vzácné.

Následující díl seriálu představí vybraná ordovická lagerstätten z Maroka, Spojených států amerických a také z našeho území.

Článek byl napsán za finanční podpory RVO 67985831 Geologického ústavu Akademie věd ČR.

Seznam použité literatury a rekonstrukce některých rodů uvedených v textu najdete na webové stránce Živy.

Petr Šesták

Pylová inkompatibilita aneb Jak rostliny zabraňují příbuzenskému křížení

Pro úspěšné pohlavní rozmnožování rostlin je zapotřebí opylení, tedy přenos pylu z tyčinek na pestík, u krytosemenných rostlin zprostředkovaný opylovači, větrem, případně vodou (o životním cyklu a rozmnožování krytosemenných bylo bližší pojednáno v Živě 2021, 6: 309–313). Na bliznu (horní část pestíku) nedopadá pouze pyl daného druhu, ale může se na ní ocitnout i pyl cizích druhů. Na správném rozlišení pylového zrna závisí jeho další osud. Pokud ho blizna nerozpozná, není mu dovoleno vyklíčit, vytvořit pylovou láčku a oplodnit vaječnou buňku v zárodečném vaku. V případě pylu pocházejícího ze stejného druhu se rostlině hodí rozlišovat mezi zrny vlastními a z okolních jedinců. I když pyl dosedne na bliznu stejného druhu, nemá zdaleka vyhráno. Část druhů totiž nedovolí křížení se svými příbuznými, nebo dokonce sama se sebou a vyvinula řadu způsobů, jak tomu zabránit. Pojďme si je blíže představit, včetně zatím známých molekulárních mechanismů některých z nich.

Co je samosprašnost?

Opylení květu pylem ze stejného jedince nazýváme samosprašení (někdy také samoopylení). U mnoha druhů může vést k oplození a vzniku potomků – semen. Rostlina se tím však připraví o velkou část výhod plynoucích z cizosprašnosti, tedy z opylení květu pylem jiného jedince téhož dru-

hu, např. o zachování genetické variability při kombinaci genů od různých jedinců. Schopnost samosprašnosti a následně samooplození u rostlin studoval již Charles Darwin v průběhu 19. století. Při experimentech se zaměřil především na vliv příbuzenského křížení (inbreedingu). Jeho krajním případem, častým u rostlin, je

samooplození – vznik potomka splynutím pohlavních buněk téhož jedince. Darwin z výsledků pokusů vyvodil závěr, že samosprašnost a příbuzenské křížení je škodlivé, snižuje variabilitu a není pro druh dlouhodobě udržitelné. Postupem času však vědci odhalili i kladné stránky samosprašnosti a popsali ekologicky úspěšné druhy, u nichž se samoopylení stalo hlavní rozmnožovací strategií.

Nyní porovnejme cizosprašnost a samosprašnost s ohledem na genetickou informaci potomků. Je dána genetickou výbavou zygoty, vzniklé splynutím dvou pohlavních buněk. Ty se vytvoří během redukčního dělení (meiózy), kdy proběhne rekombinace chromozomů a jejich náhodný rozchod do jednotlivých pohlavních buněk. U samosprašných rostlin se kombinují pohlavní buňky téhož jedince. Potomek nenese žádnou novou alelu (formu genu), může však některé alely ztratit. Ke ztrátě alel dochází, setkají-li se v zygotě náhodně dvě stejné alely odvozené z heterozygotního lokusu – pokud má rodič konfiguraci Aa, polovina jeho potomků bude nést AA či aa, budou tedy homozygotní. Samosprašení tak vede k poklesu genetické variability jedinců, protože narůstá podíl homozygotů. Při cizosprašnosti vzniká zygota spojením dvou pohlavních buněk různých jedinců, čímž vznikají nové kombinace alel, které se u rodičů nevyskytovaly. Mohou tak zaniknout prospěšná spojení původních alel, ale naopak se mohou objevit nové výhodné kombinace. Mnoho druhů rostlin zakládá své rozmnožování na kombinaci samosprašnosti a cizosprašnosti, aby využily výhody obou způsobů rozmnožování a zmírnily jejich záporné stránky. Některé rostliny mohou do strategie zahrnout vegetativní rozmnožování, při němž nevznikají pohlavní buňky a využívá nejrůznějších

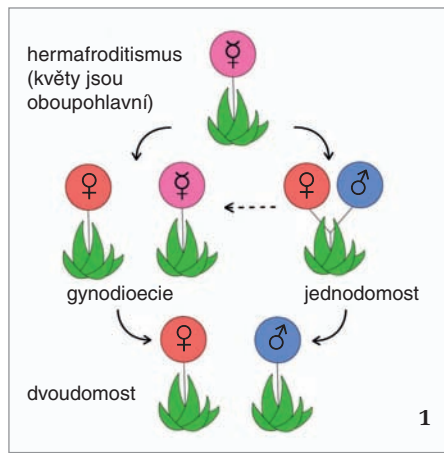
vegetativních orgánů – jako např. jahodník (*Fragaria*), množí se šlahouny (výběžky). V neposlední řadě lze krátce připomenout apomixii, tedy nepohlavní rozmnožování využívající orgány uzpůsobené k pohlavnímu rozmnožování. Apomiktické rostliny (např. mnohé druhy ostružiníků, rod *Rubus*) tvoří semena z neopylených zárodečných vaků, bez účasti otcovské genetické informace. Potomci vzniklí apomixií i vegetativním množením ponесou genetickou informaci totožnou se svými rodiči, jde tedy o klony.

Klady a záporny samosprašnosti

Jak jsme zmínili, většina rostlinných druhů využívá samosprašnost i cizosprašnost. Co tím získají oproti druhům spoléhajícím výhradně na cizosprašnost a naopak? Výhodou je, že rostlina k tvorbě semen nepotřebuje partnera, což jí umožní snadno vytvořit zcela novou populaci na místě, kde se do té doby žádný jiný jedinec stejného druhu nevyskytoval, s nevýhodou, že nově vzniklá populace nebude geneticky variabilní. Když se však dostane na stejné místo nový jedinec (ideálně geneticky nepříbuzný), jsou rostliny schopny sprášit se mezi sebou a tím obnovovat ztracenou genetickou variabilitu. Další uplatnění nalezneme samosprašnost u rostlin již přizpůsobených podmínkám daného stanoviště, nesoucí takovou kombinaci alel, která je pro ně na této lokalitě velmi výhodná. Bylo by pro ně tedy nejlepší ji předat potomkům v co nejméně pozmeněném stavu a nevnášet do svého genomu jiné alely, jejichž přítomnost by mohla potomkům uškodit. Proto se často uchylují k samosprašnosti, při které není pozmenění rodičovského genomu nijak radikální. Samosprašení je rovněž výhodnou strategií zajišťující pokračování druhu, např. když nebyl v době rozmnožování v dosahu žádný vhodný partner, v případě rostlin spíše žádný vhodný přenašeč pylu. Rostliny využívají samosprašení např. v polárních oblastech, kde trvá vegetační období velmi krátce a pro daného jedince je výhodnější se rozmnožit i s rizikem, že jeho potomci budou mít sníženou životaschopnost, než zahynout a nevytvořit vůbec žádné potomky.

Jak se rostliny brání samoopylení

Přes jisté výhody samosprašnosti založila nemalá část rostlinných druhů své pohlavní rozmnožování výhradně na cizosprašnosti a vyvinula řadu mechanismů zabráňujících



cích samosprašení. Díky tomu se mimo jiné brání nárůstu počtu homozygotů, kteří mohou být méně životaschopní kvůli hromadění recesivních alel způsobujících např. malformace (morfologické odchylky tvaru) kořenů u semenáčků, snížení počtu vytvořených semen, případně až sterilitu.

Přestože je většina druhů krytosemenných rostlin hermafroditická (tvoří oboupohlavní květy), známe i řadu druhů dvoudomých, které mají jedince s odděleným pohlavím (obr. 1). S tím se setkáme např. u topolů (*Populus*), vrb (*Salix*), kopřivy dvoudomé (*Urtica dioica*), chmelu otáčivého (*Humulus lupulus*) nebo aktinidie (kiwi, *Actinidia*). Protože každý jedinec vytváří pouze samičí, nebo naopak samčí buňky, není u dvoudomých rostlin samoosprašení možné. Jednodomé rostliny nesou samčí i samičí květy na stejném jedinci – např. líska (*Corylus*), kukuřice (*Zea*) či dub (*Quercus*). Zde již může docházet k přenosu pylu mezi květy opačného pohlaví na téže jedinci, avšak pravděpodobnost samoopylení je nižší než u květů oboupohlavních a může být dále snížena např. různou dobou kvetení. U rostlin se také poměrně často vyvinula gynodioecie, při níž se v téže populaci vyskytují samičí a hermafroditičtí jedinci. K samosprašení může dojít jen u posledně jmenovaných jedinců a jeho míra závisí na jejich podílu v populaci. Jednodomost nebo gynodioecie zřejmě evolučně předcházela dvoudomosti, pro řadu druhů však tyto rozmnožovací způsoby představují optimální životní strategii.

Některé hermafroditické druhy se brání samosprašení cestou časového oddělení dozrávání pestíku a tyčinek v téže

1 Přechem od hermafroditních rostlin ke dvoudomosti. V průběhu evoluce vznikla dvoudomost dvěma možnými způsoby, přes gynodioecii (populace zahrnuje hermafroditické a samičí jedince) a přes jednodomé rostliny. Upraveno podle: S. C. H. Barrett (2002)

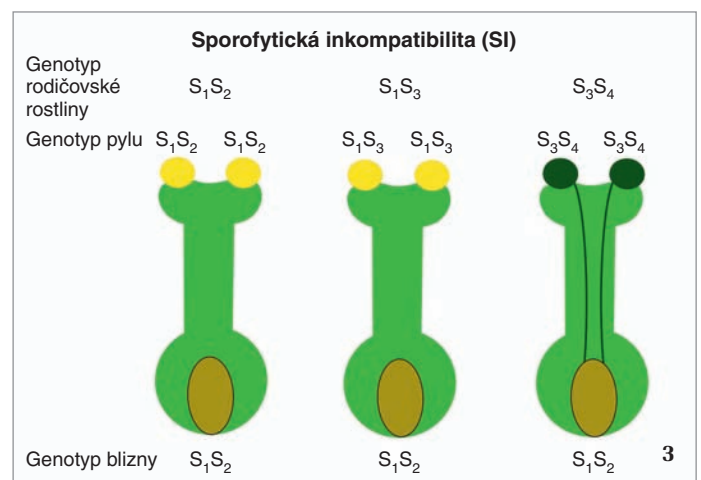
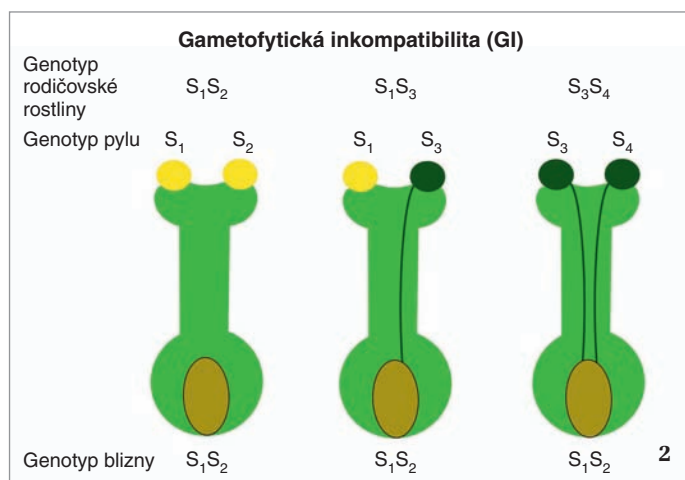
2 a 3 Schéma ukazuje základní rozdíl mezi gametofytickou (GI, obr. 2) a sporofytickou pylovou inkompatibilitou (SI, 3). Zatímco u GI nese pyl pouze jednu alelu, která musí být jiná než alely blizny, SI je přísnější. V SI pyl nese produkty obou alel rodičovské rostliny, a obě se tak musejí lišit od alel blizny. Upraveno podle: C. Manzaneres (2013)

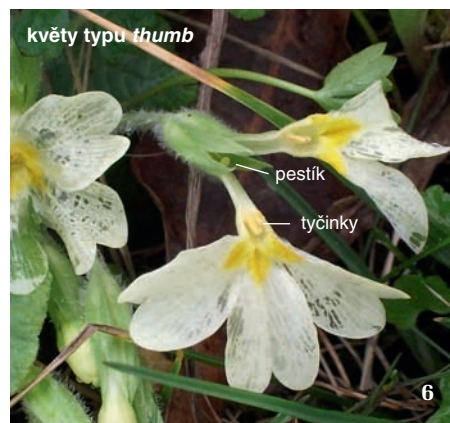
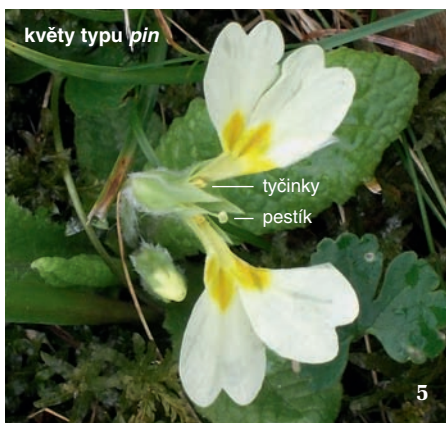
4 až 6 Různočnělečnost u prvosienky bezlodyžné (*Primula vulgaris*). Některé rostlinné druhy tvoří květy s různě dlouhými tyčinkami a pestíky. To slouží jako jeden z mechanismů bránících samoosprašení. Foto J. Fila, převzato z A. Balázová a kol. (Rozmnožování z pohledu evoluce, Academia, Praha 2016)

7 a 8 Pylová zrna brukve řepky (*Brassica napus*, obr. 7) a huseníčku rolního (*Arabidopsis thaliana*, 8) pod fluoreescenčním mikroskopem. Buněčná stěna pylového mikro srovnání pod ultrafialovým zářením fluoreskuje díky obsaženým fenolickým látkám. Jádra spermatických buněk (červeně) u huseníčku byla obarvena fluoreskujícím barvivem 4',6-diamidin-2-fenylindolem (DAPI). Barvy upraveny počítačovým softwarem

oboupohlavní květu – nikdy se v něm nevyskytnou oba zralé pohlavní orgány současně. Toho využívají např. kakost (*Geranium*), hořce (*Gentiana*) a jitrocele (*Plantago*). Další možností je prostorové oddělení tyčinek a pestíku, jako např. u osatců (*Iris*).

Posledním řešením zabráňujícím samoosprašností u hermafroditů je pylová inkompatibilita, které se budeme věnovat v dalších částech článku. Avšak pro lepší pochopení jejích mechanismů je nutné připomenout pojmy sporofyt a gametofyt (podrobněji v Živě 2021, 6). U rostlin dochází v průběhu životního cyklu ke střídání generací, rodozměně. Část cyklu je tvořena sporofytem – buňkami nesoucími úplnou genetickou informaci ve dvou kopiích (jsou diploidní). Tato generace dává meiózou vzniknout buňkám (sporám), které nesou pouze po jedné kopii od





každého z chromozomů. Spory se poté dělí klasickým mitotickým dělením a vytvářejí mnohobuněčný gametofyt z haploidních buněk. Gametofyt následně produkuje pohlavní buňky (gamety), které splývají v diploidní zygotu, z níž se opět stane sporofyt. V evoluci došlo u krytosemenných rostlin k zásadní redukci gametofytu, a tak je nyní u této skupiny tvořen zárodečným vakem a pylovým zrnem.

Pylová inkompatibilita a její typy

Jde o vysoce rozšířený systém, zajišťující cizosprašnost u zhruba poloviny druhů krytosemenných. Rostliny s oboupohlavními květy uplatnily pylovou inkompatibilitu pro rozlišení pylu příbuzného a nepříbuzného jedince téhož druhu, aby zabránily samosprašení a udržely genetickou variabilitu svých populací. Vyvinula se nezávisle u mnoha čeledí krytosemenných a obecně se dělí na inkompatibilitu gametofytickou (GI, obr. 2) a sporofytickou (SI; obr. 3). Názvy základních typů jsou odvozeny od stadia, které dává vzniknout klíčovým faktorům nacházejícím se na pylovém zrně – pylovým determinantům inkompatibility. V případě SI je determinant vytvářen buňkami tapeta, pletiva poskytujícího výživu vznikajícím pylovým zrnům, a přenašen do exiny, tedy svrchní vrstvy buněčné stěny pylového zrna. Determinant GI, produkovaný vegetativní buňkou pylového zrna, se nachází v cytoplazmě. Podle postupně objevovaných molekulárních mechanismů inkompatibility u různých čeledí dochází k podrobnějšímu dělení v rámci obou typů.

● Gametofytická inkompatibilita

GI byla popsána u čeledí lilkovitých (*Solanaceae*), růžovitých (*Rosaceae*), krtiční-

kovitých (*Scrophulariaceae*), bobovitých (*Fabaceae*), pupalkovitých (*Onagraceae*), zvonkovitých (*Campanulaceae*), makovitých (*Papaveraceae*) a lipnicovitých (*Poaceae*). Její fungování je založeno na jednom mnohoalelickém S-lokusu (z anglického self-incompatibility locus), tedy na úseku chromozomu se sekvencemi genů zodpovědných za pylovou inkompatibilitu. Inkompatibilita pylového zrna je určována proteinem kódovaným alelou, kterou má pyl ve svém haploidním genomu, zatímco blizna nese produkty obou alel. Když dojde k opylení pylem nesoucím protein stejné alely, jako je jedna z alel blizny, nastane inkompatibilní reakce (obr. 2). Tento typ je méně „nekompromisní“ než sporofytická inkompatibilita, u níž prašník, kde pyl vznikl, determinuje proteiny dvou alel S-lokusu odlišných od alel blizny. Oproti SI, která byla podrobněji popsána pouze u čeledi brukvovitých (*Brassicaceae*), byly u GI objeveny již dva různé molekulární mechanismy zabraňující opylení inkompatibilním pylem. Existence více mechanismů dokládá, že GI vznikla v průběhu evoluce několikrát nezávisle na sobě.

U většiny čeledí s GI byl popsán systém založený na S-RNázách – enzymech, které štěpí řetězce ribonukleové kyseliny (RNA). Písmeno S v názvu je zkratkou pro slovo sterilita a značí, že tyto RNázy jsou speciálně určené pro GI a neuplatňují se v jiných procesech. Tento princip byl objeven u tabáku křídlatého (*Nicotiana glauca*). U něj bylo dokázáno, že RNázy vyskytující se v jeho pestících zabraňují růstu pylových láček tak, že zničí mRNA uvnitř nekompatibilní láčky. Pylová láčka totiž využívá přítomnou mRNA pro intenzivní syntézu proteinů potřebných ke svému růstu. Když

S-RNázy zničí mRNA láčky, zastaví její růst a nemůže dojít k oplození.

Odlišný mechanismus GI byl popsán u makovitých. Zde bylo spuštění inkompatibilní reakce spojeno se zvýšením koncentrace vápenatých iontů (Ca^{2+}) v buňkách blizny. Tento nárůst spouští signální kaskádu, která nakonec vede k programované buněčné smrti pylové láčky.

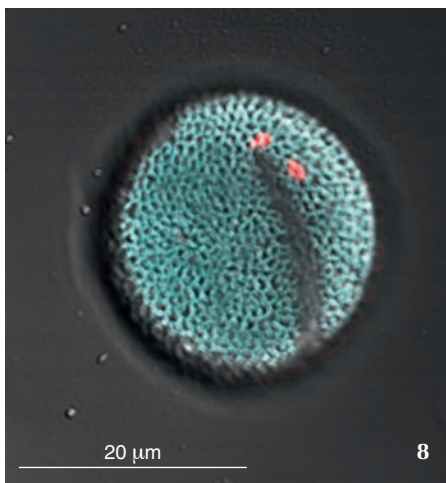
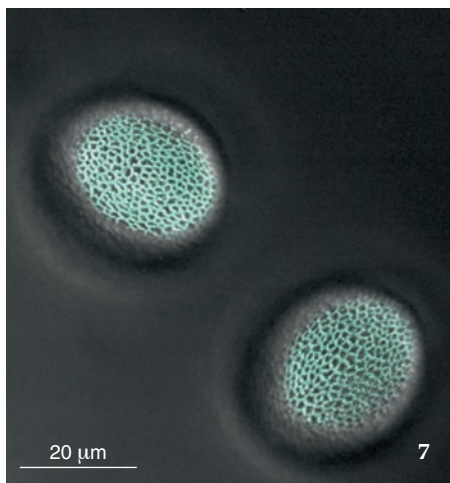
● Sporofytická inkompatibilita

Poprvé byla SI popsána u šarkdy smrduté (*Crepis foetida*) již na počátku 20. století. Vykazovala ale jiné vlastnosti než dříve popsaná pylová inkompatibilita u tabáku okrasného (*N. sanderae*). Při podrobnějším studiu se zjistilo, že u šarkdy zodpovídá za inkompatibilitu genotyp celé rodičovské rostliny, a ne pouze genotyp pylu jako u tabáku.

Později byl stejný typ popsán i u dalších druhů z různých čeledí, např. hvězdnicovitých (*Asteraceae*), brukvovitých nebo svačkovitých (*Convolvulaceae*). Většina poznatků o molekulárních mechanismech SI pochází ze studia brukvovitých, k nimž se řadí hospodářsky významné druhy, tudíž lze nové poznatky snadno využít v praxi a výzkum probíhá už od poloviny 20. století. A nesmíme opomenout o této čeledi patřící modelový huseníček rolní (*Arabidopsis thaliana*), který se před více než 20 lety stal první rostlinou s přečteným genomem.

Při křížení brukve zelné (*Brassica oleracea*) vědci zjistili, že SI je řízena skupinou genů s více alelami, jež se na chromozomu nacházejí blízko sebe a byly souhrnně nazvány S-lokusem. Pyl při SI nese obě alely S-lokusu, které dokáže blizna rozpoznat. Pokud se alespoň jedna z alel shoduje s alelou nesenou bliznou, pyl je vyhodnocen jako nekompatibilní a nevyklíčí. Mezi jednotlivými alelami byly rovněž pozorovány různé stupně jejich dominance, což umožňuje vznik homozygotních rostlin.

Jako zvláštní typ SI byla popsána mnohotvárná (heteromorfní) inkompatibilita. Rostliny jsou na první pohled dobře rozeznatelné podle rozdílů ve stavbě květů mezi jedinci téhož druhu. Již Ch. Darwin si povšiml, že u prvosenky bezlodyžné (*Primula vulgaris*) se vyskytují dva odlišné typy květů (obr. 4–6) – s krátkým pestíkem a dlouhými tyčinkami (*thumb*) a květy s dlouhým pestíkem a krátkými tyčinkami (*pin*). Rovněž zaznamenal, že k tvorbě semen dojde pouze při opylení krátkého pestíku pylem z krátké blizny a stejně tak u delších forem. Opylením blizny pylem ze stejného květu semena



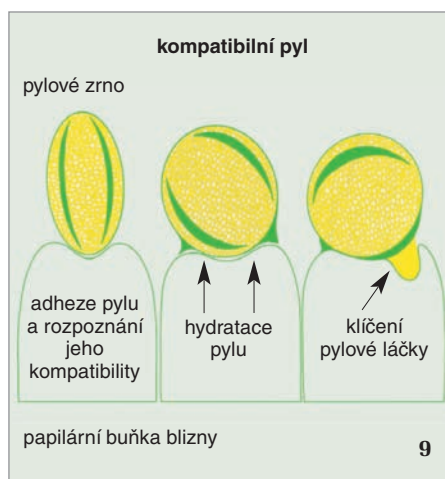
nevznikají. Pro tento jev se používá označení distylie. Později popsal další variantu heteromorfních rostlin při studiu kypřeje vrvice (*Lythrum salicaria*). Zmíněný druh dokonce tvoří další formu pestíků a tyčinek, označovanou jako střední. V květu se vyskytovala jedna z forem pestíku a tyčinky byly zastoupeny zbývajícími dvěma, oplodnění proběhlo při opylení pestíku pylem ze stejné formy tyčinek. Varianta se třemi různými délkami se pak nazývá tristylie. Obecnější označení zahrnující oba pojmy je heterostylie (neboli různocnělečnost).

Heterostylie se vyskytuje alespoň u 28 čeledí a u 199 rodů krytosemenných rostlin. Nejčastěji je dnes studována distylie prvosenek a tristylie u rodu šťavel (*Oxalis*). Nejnovější poznatky o genetickém mechanismu distylie u prvosenek uvádějí, že fenotyp je řízen skupinou úzce spojených genů souhrnně nazývaných S-locus nebo také S-supergen. Tento S-locus je přítomen jedenkrát v diploidním genomu pouze u rostlin s variantou květů *thumb*. Rostliny s variantou *pin* S-locus zcela postrádají. Při porovnání transkriptomů, tedy souborů všech mRNA vznikajících v buňce, obou květních variant prvosenek jarní (*P. veris*) a p. bezlodyžné (*P. vulgaris*) bylo nalezeno 113 genů, které vykazují významné rozdíly ve své aktivitě u jednotlivých květních forem a jsou ovlivněny S-locusem (Nowak a kol. 2015).

Náměly mezi pylem a bliznou

Než se dostaneme k samotnému fungování sporofytické inkompability na úrovni molekul, přibližme si, co všechno se odehrává, než pylové zrno vyklíčí a než láčka úspěšně dorazí do zárodečného vaku. Zjednodušeně se interakce mezi pylem a bliznou skládá ze čtyř částí – přilnutí pylu k blizně, rozpoznání kompatibilního pylu, hydratace pylového zrna a vyklíčení pylové láčky (obr. 9). Každá z fází vyžaduje nejen molekulární signalizaci mezi pylem a bliznou, ale zahrnuje i řadu biochemických a biofyzikálních procesů. Tyto procesy se u různých rostlinných druhů liší, přičemž zde se zaměříme především na čeledi brukvovitých. Jednotlivé fáze jsou zprostředkovány velmi rychlou komunikací mezi pylem a bliznou, která předchází vyklíčení pylového zrna, a na vzájemném „porozumění“ poté závisí růst láčky vodičímí pletivý čnělky až do zárodečného vaku, v němž se ukrývá vaječná buňka.

První kontakt mezi pylem a pestíkem proběhne na blizně. Schopnost blizny rozpoznat kompatibilní a nekompatibilní pyl, či dokonce pyl jiného druhu záleží na typu blizny. U krytosemenných rostlin byly popsány dva typy blizen, které se odlišují schopností vytvářet různé lepivé látky. Mokré blizny produkují velké množství těchto lepivých látek, zachytávajících veškerý pyl a umožňujících mu vyklíčit. Oproti tomu u suchých blizen povrchová sekrece chybí, pyl je proto zachytáván papilárními buňkami a blizna podle následné komunikace určuje, zda pylovému zrnu dovolí vyklíčit, či nikoli. Blizna u brukvovitých rostlin je suchá a pokrytá jednobuněčnými papilami, takže povrch vypadá jako hrubý kartáč. Při sledování pylových zrn přilnutých k papilárním buňkám v transmisním elektronovém mikroskopu vědci



pozorovali přilnavou zónu v místě kontaktu exiny s buněčnou stěnou papilární buňky. Ke stejné reakci došlo i při experimentu, kdy byly na bliznu přeneseny pouze části exiny pylového zrna. Z toho vyplývá, že pro přilnutí pylu k blizně není potřeba jejich vzájemná komunikace, ale stačí, aby obě plochy obsahovaly látky, které jim umožní se „slepit“. Jde tedy o čistou chemickou interakci mezi složkami exiny a stěn papilárních buněk. Pro přesnější objasnění, které geny a jimi kódované proteiny jsou zodpovědné za správné přilnutí pylu k blizně u brukvovitých, jsou používány mutantní rostliny huseníčku rolního. Mutant má z funkce vyřazený konkrétní gen a my díky tomu můžeme sledovat, jak se např. změní vzhled nebo vlastnosti rostliny. Takto byla v přilnavosti zrn k papilám popsána role pektinů, které můžete znát jako želírovací prostředek používaný pro ztužení marmelád a džemů, a glykoproteinů – bílkovin s navázaným sacharidem.

Po přichycení pylového zrna k blizně následuje rozpoznání kompatibilního pylu. Nejdříve si vysvětlíme proces hydratace a také to, jak dokáže láčka prorazit stěnou, která v přírodě může vydržet nepříznivé podmínky i tisíce let díky tomu, že obsahuje chemicky vysoce stabilní látky dobře odolávající rozkladu. Při opylení suché blizny vhodným pylem musí dojít k jeho hydrataci. Tato fáze je nezbytná, aby se zrna stala metabolicky aktivními a mohla



9 Schéma dějů po dopadu kompatibilního pylu na papilární buňku.

Podrobně popsáno v textu. Upraveno podle: D. Šafavian a kol. (2015)

10 Květenství brukve řepky, která patří mezi významné hospodářské plodiny a výzkum pylové inkompability může pomoci s jejím šlechtěním.

11 Květy huseníčku rolního jsou velmi malé a nenápadné, protože jde o samo-sprašný druh. Nemusí tak vynakládat prostředky pro tvorbu velkých, nápadných květů potřebných pro přilákání opylovače. Snímky P. Šestáka, pokud není uvedeno jinak

12 Řeřišničník skalní (*Arabidopsis lyrata*) je naopak cizosprašný a vytváří poměrně velké a nápadné květy, které lákají opylovače.

Foto F. Kolář, převzato z A. Balážová a kol. (Academia, Praha 2016)

13 a 14 Model zachycuje hlavní proteiny zodpovědné za pylovou inkompabilitu u huseníčku (rod *Arabidopsis*, obr. 13) a řepky (rod *Brassica*, 14).

Oba druhy sdílejí řadu podobností, ale v některých krocích se odlišují. Společná část zahrnuje navázání determinantu pylové inkompability SCR na SRK blizny stejné alely S-locusu (použité zkratky vysvětleny v textu). Tím je SRK uvedena do chodu a aktivuje ARC1. Aktivovaný protein ARC1 naváže ubikvitin (Ub) na podjednotku exocystu Exo70A1, která je degradována v proteozomu. Tím jsou zablokovány procesy vedoucí k hydrataci kompatibilního pylového zrna a pylové zrno je odmítnuto. V huseníčku bylo navíc popsáno zvýšení koncentrace vápenatých iontů (Ca^{2+}) v důsledku aktivace GLR kanálu. Tím je spuštěna autofagie, která odstraní sekretorické váčky (vezikuly) nesoucí látky pro hydrataci pylového zrna. Přesné mechanismy vedoucí k autofagii vezikulů nejsou dosud známy. V řepce ARC1 ubikvitinyluje i GLO1 a způsobuje tak jeho degradaci v proteozomu. Tím dojde ke zvýšení koncentrace toxického metylglyoxalu v buňce, jehož pravděpodobnou úlohou je poškození funkce faktorů potřebných pro kompatibilní odpověď. Multivesikulární tělíčka (Multivesicular Bodies, MVB), která jsou zapojena do transportu váček potřebných pro kompatibilní odpověď z buňky, jsou nasměrována do vakuoly, nejspíše procesem autofagie. P – fosfát, MLPK – proteinová kináza M-locusu. Převzato z publikace E. Jany a kol. The Molecular and Cellular Regulation of *Brassicaceae* Self-Incompatibility and Self-Pollen Rejection (International Review of Cell and Molecular Biology 2019, 343: 1–35), se svolením vydavatelství Elsevier. Kreslila R. Bošková (obr. 1–3, 9, 13 a 14)

vyklíčit a vytvořit láčku. Ukazuje se, že klíčovou roli při hydrataci pylu mají malé proteiny bohaté na aminokyselinu cystein, uložené v buněčné stěně pylu. Patří do skupiny proteinů pylového obalu B (pollen coat proteins class B). Slouží jako regulátory hydratace pylu při navázání kompatibilní interakce. Při narušení jejich funkce u huseníčku rolního je poškozena hydratace pylu, což vede ke snížení jeho přilnavosti k blizně a k opožděnému klíčení láčky.



Po hydrataci nastává fáze narušení buněčné stěny pylu a vytvoření otvoru v místě ztenčení (apertury), kudy následně poroste láčka. Základní strukturální složkou exiny je sporopolenin, vysoce odolný biopolymer, který umožňuje pylu přežít i po dlouhou dobu nehostinné podmínky vnějšího prostředí. Aby došlo k narušení této struktury, je zapotřebí silné enzymatické aktivity. Při experimentech se povedlo exinu narušit pomocí peroxidu vodíku a enzymů katalázy a peroxidázy. Kataláza urychluje rozklad peroxidu vodíku za vzniku krátkodobě se vyskytujících vysoce reaktivních kyslíkových radikálů, které jsou využity peroxidázou při oxidaci sporopoleninu. Popsaný proces se prozatím jeví jako velmi pravděpodobný, jelikož při jiných experimentech byl v papilárních buňkách peroxid vodíku nalezen (McInnis a kol. 2006).

S tím však vyvstává otázka, jak buňky zjistí, kdy peroxid vodíku vytvořit, protože tato látka se za běžných situací v buňkách rychle rozkládá. V rostlinách slouží i jako signální molekula, ale její dlouhodobě zvýšená koncentrace je pro ně nebezpečná.

Jak poznat své příbuzné na molekulární úrovni?

Jak jsme už zmínili, hlavním důvodem, proč se fungování SI studuje zejména u brukvovitých, jsou hospodářsky významné rostliny jako brukev řepák (*B. rapa*), b. zelná a b. řepka (*B. napus*, obr. 10) a s nimi spojené praktické a komerční hledisko. Nové poznatky pomohou např. při šlechtění nových kultivarů a mezidruhových kříženců těchto druhů. Ze současného po-

hledu vědců má tato čeleď další obrovskou výhodu v podobě samosprašného huseníčku rolního (obr. 11) a jeho cizosprašných příbuzných řeřišničníku Hallerova (*A. halleri*) a ř. skalního (*A. lyrata*, obr. 12). I přes rozdílná česká jména patří všechny zmiňované druhy do rodu huseníček (*Arabidopsis*). Jelikož se tyto druhy oddělily z pohledu evoluce poměrně nedávno, asi před pěti miliony let, dokážeme zjistit, jaké změny v genomu huseníčku při přechodu od cizosprašnosti k samosprašnosti nastaly, a tím odhalit fungování SI.

Jako první díly mechanismu SI u brukvovitých byly popsány tři geny souhrnně označované jako geny S-lokusu. Jmenovitě jde o geny pro S-lokusovou receptorovou kinázu (SRK), S-lokusový protein bohatý na cystein (S-locus Cystein Rich protein, SCR) a S-lokusový glykoprotein (SLG). Produkty těchto genů fungují jako zámek a klíč. SRK je zámek nacházejícím se ve stěně papilární buňky, SCR klíčem, který nese pylové zrno ve své buněčné stěně, a SLG usnadňuje otočení klíčem a je vyráběn papilárními buňkami blizny. Pokud do sebe zapadnou, otevře tato interakce cestu pro inkompatibilní pylovou reakci a zrno je zabráněno vyklíčit. SLG však není nezbytnou součástí SI, ta je schopna fungovat i bez něho, o čemž svědčí např. řeřišničník skalní, který gen pro SLG postrádá, a přesto si zachoval funkční pylovou inkompatibilitu.

Po interakci papilárního zámku SRK s pylovým klíčem SCR dojde k navázání fosfátu na SRK, čímž je dán signál pro zapojení dalších signálních proteinů, které

předají informaci o rozpoznání nekompatibilního pylu. Prvním z nich je ARM-Repeat-Containing protein 1 (ARC1) ze skupiny enzymů určených k navazování ubiquitinu – malého polypeptidu sloužícího v eukaryotických buňkách k označování proteinů určených ke zničení. Během inkompatibilní reakce má ARC1 za úkol označit podjednotku proteinového transportního systému exocyst Exo70A1, která pomáhá s hydratací pylového zrna. Když je však tento protein rozložen, nemůže dojít k hydrataci pylu, a tedy ani k vyklíčení (Jany a kol. 2019, obr. 13 a 14).

Výše popsané reakce jsou společné pro řepku (rod *Brassica*) i huseníček (rod *Arabidopsis*). Oba rody však do odpovědi na rozpoznání inkompatibilní pylu zapojují další proteiny, které mezi sebou nesdílejí. Huseníček po interakci SRK s SCR aktivuje dosud neznámým mechanismem receptorový kanál podobný glutamátovému kanálu (Glutamate-Like Receptor channel, GLR), jehož otevření způsobí zvýšení koncentrace Ca^{2+} v papilární buňce. To vede, opět zatím nepoznaným způsobem, ke zničení transportních váčků, které by při rozpoznání kompatibilního pylového zrna dopravily potřebné látky pro jeho hydrataci. U řepky zapojení GLR nebylo zjištěno a místo něho obdobným způsobem využívá protein glyoxalázu 1 (GLO1). Tento enzym je potřebný pro zneškodnění metylglyoxalu, toxického vedlejšího produktu glykolýzy. Řepka se během inkompatibilní reakce zbavuje GLO1, který ARC1 označí ubiquitinem ke zničení, což vede ke zvýšení množství metylglyoxalu, který pravděpodobně poškodí proteiny potřebné pro nastartování klíčení pylové láčky. Posledním proteinem, který zmíníme, je proteínová kináza M-lokusu (M-locus Protein Kinase, MLPK), která se podílí na fungování SI u řepky, ale její přesná funkce nebyla dosud popsána.

V detailním poznání mechanismů pylové inkompatibility zůstávají ještě četné mezery, přesto se za posledních 30 let, zejména díky rozvoji technik molekulární biologie, např. sekvenování nebo možnosti vytvářet mutantní rostliny, povedlo udělat značný skok v pochopení fungování především sporofytické pylové inkompatibility. Další zajímavé objevy o této schopnosti rostlin nás v budoucnu jistě čekají.

Použitá literatura uvedena na webu Živa.

