

Reprodukční systémy rostlin

Způsob rozmnožování rostlin je důležitý údaj pro šlechtitele, protože se od něj odvíjí příslušné metody šlechtění daného druhu a udržení výsledku šlechtění z hlediska zachování genetické identity. Dříve se základní rozdíly v postupech šlechtění odvíjely od samosprašnosti a cizosprašnosti, dnes se metody šlechtění u těchto dvou skupin překrývají.

V této kapitole budou shrnuty poznatky o způsobu rozmnožování rostlin, které souvisí s následujícími znalostmi:

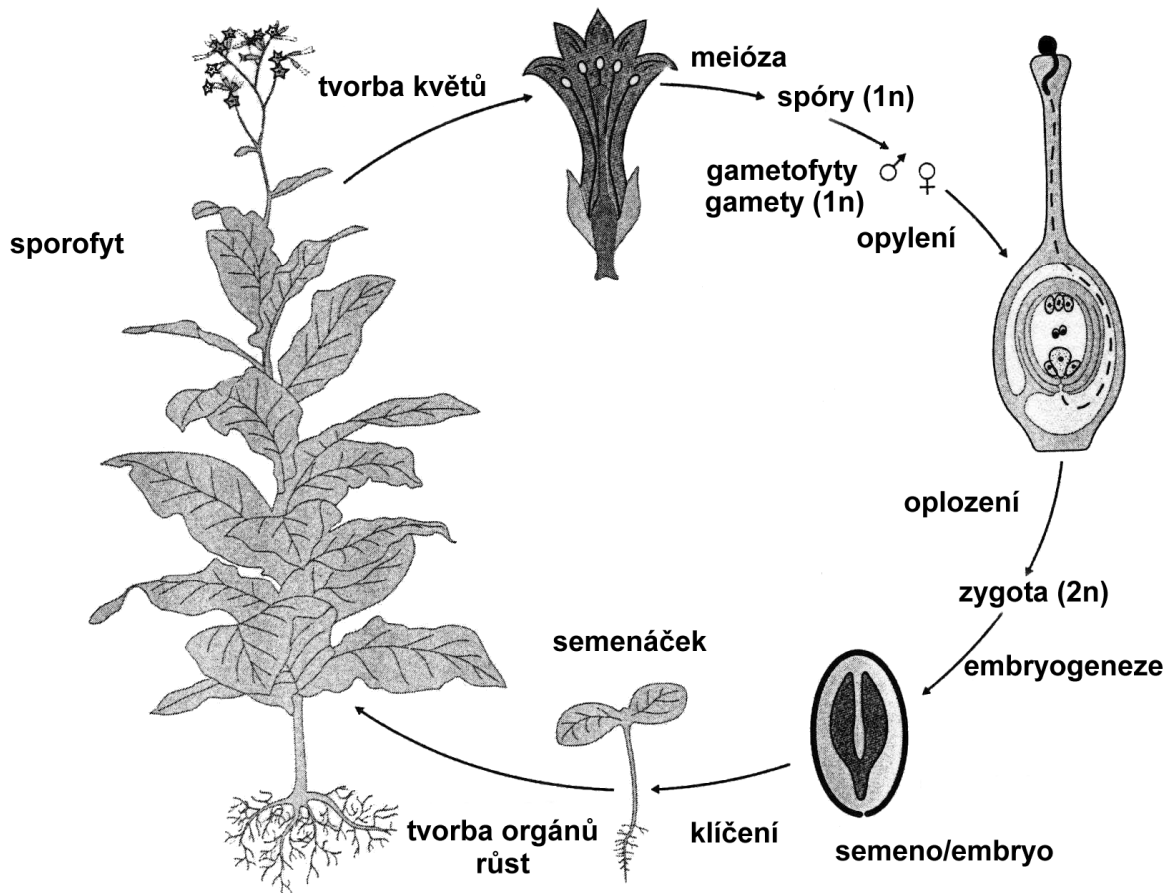
1. Typy životního cyklu rostlin a jeho dopad na šlechtění.
 2. Základní typy květní morfologie.
 3. Mechanizmy opylení a oplození.
 4. Význam samosprašení a cizosprašení rostlin ve šlechtění.
 5. Vynucené opylení a jeho dopad ve šlechtění.
 6. Genetika a aplikace autoinkompatibility.
 7. Genetika a aplikace samčí sterility ve šlechtění.
-

1 Způsoby rozmnožování rostlin

Pro zachování jakéhokoli rostlinného organismu je nutné střídání generací, které je umožněno rozmnožováním (obr. 1). U rostlin rozeznáváme tři základní způsoby rozmnožování:

- (1) nepohlavní, amixie (amixis),
- (2) pohlavní, amfimixie (amfimixis),
- (3) apomiktické, apomixie (apomixis).

Obr. 1: Schéma životního cyklu dvouděložné rostliny *Nicotiana tabacum*.



1.1 Amixis

Amiktické, nepohlavní rozmnožování je nejprimitivnějším způsobem rozmnožování, při němž není organizmus schopen pohlavní diferenciacce. Tento způsob rozmnožování je typický pro nejnižší organizmy, u vyšších rostlin se však může vyskytovat souběžně s rozmnožováním generativním (pohlavním).

Při nepohlavním rozmnožování vzniká jedna rostlina z jednoho rozmnožovacího základu, a to buď z rozmnožovací buňky nebo ze složitější části mateřského těla. Po oddělení od mateřské rostliny vyrůstají z tohoto rozmnožovacího základu přímo noví samostatní jedinci, kteří vznikli pouze mitotickým dělením buněk. U rostlin se tento způsob rozmnožování nazývá vegetativní. Velká regenerační schopnost rostlin, kdy oddělená část vytváří za vhodných podmínek postupně všechny orgány, byla pozorována a využívána už dávno. Z genetického hlediska je zajímavé, že tato regenerační schopnost je často zachována i u vysoce specializovaných orgánů, jako např. u listů. Mnoho rostlin vytváří speciálně diferencované orgány, které částečně nebo zcela slouží k nepohlavnímu rozmnožování. Jsou to např. **kořenové hlízy** (*Dahlia variabilis*, *Ipomea batata*, *Ficaria verna*), **oddenky**, jako metamorfózy stonku (*Convalaria*, *Agropyron*, *Agrostis*), stonkové hlízy oddenkové (*Solanum*

tuberosum, *Helianthus tuberosus*), a bazální (*Gladiolus*, *Colchicum*, *Crocus*, *Cyclamen*), **cibule** a **cibulky** jako metamorfózy listů (*Allium cepa*, *Lilium*) aj.

Vegetativní potomstvo jedné rostliny se nazývá **klon**. Klon jako základní jednotku amikticky se množících rostlin můžeme definovat jako určitý počet genotypově shodných jedinců, kteří vznikli vegetativně z jediného původního organismu. Vegetativní cestou tedy můžeme získat velké množství geneticky identických rostlin nehlédě na genetickou konstituci výchozí formy.

Stálost klonů však není absolutní. Nezřídka dochází ke genotypovým a fenotypovým změnám, jež jsou výsledkem spontánní mutace v určitém sektoru pletiva nebo v určité buňce. Tyto změny byly již Darwinem označeny jako **pupenové variace** nebo-li sporty. Vznikají tedy **somatickou mutací** (spontánně či indukovaně) v jedné nebo více iniciálách pupenu. Výhon, který se vyvíjí z takového pupenu ponese mutantní znak pouze pokud byl příslušný gen v heterozygotní konstituci. Fakta o pupenových variacích, jak se s nimi setkávali praktičtí šlechtitelé v minulosti, shrnul poprvé velmi podrobně právě Darwin, který zdůrazňoval, že pupenové variace nejsou zvláštním znakem některých rostlinných forem, nýbrž jsou vlastní nejrůznějším představitelům kulturních i planých forem druhů. Dnes známe mnoho odrůd ovocných stromů, okrasných rostlin a zelenin, které vznikly cestou pupenových variací. Jsou to především stovky odrůd chryzantém, růží a brambor a většina odrůd citrusových stromů. Tyto somatické mutace se mohou týkat znaků a vlastností morfologických (tvar, barva, velikost orgánů apod.) i fyziologických (ranost, rezistence k chorobám a škůdcům, obsah určitých látek apod.).

Velké regenerační schopnosti rostlin se využívá v širokém měřítku v zemědělské praxi a v zahradnictví. Takto nepohlavně lze množit vysoce heterozygotní odrůdy, které by se při rozmnožování pohlavní cestou rozpadly na množství různých genotypů. Týká se to především ovocných dřevin a růží, u kterých se uplatňuje technika roubování nebo očkování. V podstatě jde o transplantaci větší části rostliny s několika pupeny (roub) nebo pouze jednoho pupenu (očko) na vhodnou podnož. Vegetativně se množí také okrasné stromy a keře, chmel, cukrová třtina, brambory, cibule, česnek, jahodník a mnohé rostliny okrasné květem.

Vegetativní rozmnožování se ve šlechtitelské praxi používá jako následná metoda pohlavního rozmnožování k udržení heterozygotnosti a hybridní zdatnosti. Někdy může sloužit i ke zvýšení podílu rostlin jednoho pohlaví v populacích (jako např. namnožení samčích rostlin u palmy datlové) nebo k udržení autoinkompatibilních rostlin (avokádo). Vegetativní rozmnožování je možné využít k získání klonů bez patogenů technikou explantátových kultur *in vitro*.

Předností nepohlavního rozmnožování vzhledem k zachování druhu je tedy potenciálně neomezená možnost zvýšení početnosti geneticky identických potomků jednoho jedince, tj. vytvoření tzv. klonu.

Vegetativně množené kulturní druhy je možné rozdělit do dvou kategorií:

- (1) Pěstované pro konkrétní vegetativní orgán – brambory, cukrová třtina, yam, kasava. U těchto druhů se vyskytují jisté reprodukční abnormality, jako je omezené kvetení a fertilita. U některých druhů, např. brambor, se vyskytuje cytoplazmatická samčí sterilita.
- (2) Pěstované pro plody nebo výsledek reprodukce – ovocné stromy a keře jako je např. jablonoň, hrušeň, vinná réva, jahody, banány.

Význam vegetativního rozmnožování ve šlechtění

- (1) Vegetativně množené druhy s životaschopnými semeny a fertilitou pylu lze šlechtit prostřednictvím hybridizace.
- (2) Na rozdíl od hybridizace u pohlavně množených druhů to obvykle vyžaduje další kroky k fixaci genetické rozmanitosti u genotypu, který se má stát odrudou (s výjimkou hybridní odrůdy). Taková odrůda vzniká hned po křížení, ze kterého vznikne žádoucí genotyp. Šlechtění je tedy rychlé.
- (3) Pro zlepšení druhu, jehož ekonomický význam přinášejí vegetativní orgány, není nutná fertilita hybridů.
- (4) Vzhledem ke schopnosti vegetativního množení z části rostlin, k získání potomstva stačí jedna rostlina.
- (5) Je možné fixovat heterozí (pokud se vyskytuje) v potomstvu hybridů.
- (6) Rychlé získání velkého množství materiálu z klonů pro výsadbu je obtížné.
- (7) Druhy s parthenokarpíí (banány) nelze šlechtit prostřednictvím tvorby hybridů.
- (8) Šlechtění manga a citrusů s polyembryonií je obtížné, protože klony rodičů jsou kombinovány s hybridním potomstvem.
- (9) Vegetativní plodiny jsou vytrvalé a cizosprašné a nevhodné pro inbriding. Jsou vysoce heterozygotní.
- (10) Na rozdíl od pohlavně se množících plodin, u nichž je genotyp na konci šlechtění znám, u vegetativních plodin je genotyp fixován a určen na začátku.

1.2 Amfimixis

Amfimixie je pohlavní rozmnožování, které představuje evolučně progresivnější reprodukci potomstva. Jeho předností je zajištění genetické rozmanitosti zabezpečující přizpůsobení organismů vnějšímu prostředí.

Pro tento způsob rozmnožování je typická tvorba diferencovaných reprodukčních orgánů a střídání pohlavní haploidní generace (gametofytu), produkující gamety, s nepohlavní diploidní generací (sporofytem). U nižších rostlin převažuje fáze gametofytu nad sporofytem, zatímco u vyšších rostlin je tomu naopak. U krytosemenných rostlin jsou generativní orgány součástí specifické části rostliny – květu. Samičím pohlavním orgánem je pestík (pistillum) vznikající srůstem jednoho nebo více plodolistů (megasporofylů). Pestík je obvykle rozlišen na semeník (ovarium), čnělku (stylus) a bliznu (stigma).

Makrosporogeneze a makrogametogeneze

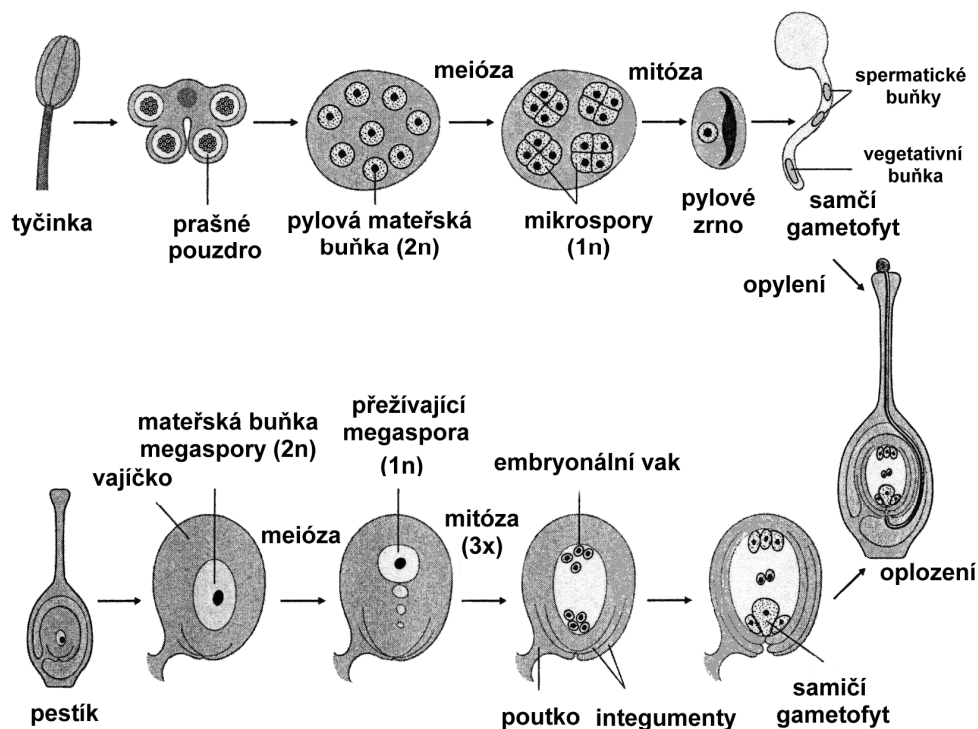
Uvnitř semeníku se vyvíjí vajíčko (nebo vajíčka). Základem pro vznik samičího gametofytu je diploidní tzv. archesporová buňka, ze které vznikne dělením mateřská buňka megaspory. Redukčním dělením vzniká v procesu makrosporogeneze samičí výtrus (megaspóra, neboli primární zárodečný vak). V dalším procesu se megaspóra přetváří na zralý zárodečný vak se samičí pohlavní buňkou (oosférou). Vznik samičí gamety se označuje jako megagametogeneze. V zárodečném vaku se vyvíjí kromě vaječné buňky ještě dvě pomocné

buňky (synergidy), které s ní společně tvoří tzv. vaječný aparát. Proti nim se formují tři buňky, tzv. protistojné (antipody). Uvnitř zárodečného vaku se nachází ještě centrální jádro zárodečného vaku (obr. 2).

Mikrosporogeneze a mikrogametogeneze

Samčím pohlavním orgánem v květu je tyčinka (mikrosporofyl) tvořená nitkou (filamentum) a prašníkem (anthera). Prašník se skládá ze dvou prašných váčků, z nichž každý obsahuje dvě prašná pouzdra. Uvnitř prašných pouzder vznikají ze sporogenních buněk mitotickým dělením pylové mateřské buňky. V nich pak redukčním dělením vznikají v procesu mikrosporogeneze čtyři haploidní mikrospory (pylová zrna). Pylové zrno se ještě před opuštěním prašného pouzdra mitoticky dělí na malou buňku rozmnožovací (generativní) a větší buňku láčkovou (vegetativní), takže pylové zrno je pak dvoubuněčné. Generativní buňka se ještě jednou dělí na dvě spermatické buňky (samčí gamety). Tento vznik samčích pohlavních buněk je označován jako mikrogametogeneze (obr. 2).

Obr. 2: Schéma tvorby samčích a samičích spor a gamet.



Oplození krytosemenných rostlin

Po opylení, tj. přenosu pylu z prašníku na bliznu, dochází k oplození. Pro všechny krytosemenné rostliny je charakteristické dvojité oplození, které spočívá v tom, že jedna spermatická buňka splyne s vaječnou buňkou a druhá spermatická buňka splyne s centrálním jádrem zárodečného vaku. Po splynutí buněk (plazmogamii) následuje splynutí jejich jader (karyogamie). Celý tento proces se nazývá syngamie. Z oplozené vaječné buňky vzniká diploidní zygota a z oplozené centrální buňky zárodečného vaku se vyvíjí endosperm (nejčastěji triploidní).

Celý proces vývoje samčího a samičího gametofytu a oplození u krytosemenných rostlin je znázorněn na obr. 2.

Trvání růstového cyklu

Z hlediska šlechtění je důležité vědět, jaký životní cyklus má daný rostlinný druh. Strategie šlechtění jsou závislé na délce trvání tohoto růstového cyklu. Krytosemenné rostliny lze z tohoto hlediska rozdělit do čtyř kategorií.

Jednoleté druhy

Jednoleté druhy dokončí svůj růstový cyklus v jednom vegetačním období (kukuřice, pšenice, čirok). Jednoleté rostliny lze dále rozdělit na **ozimé** (ozimy) a **jarní** (jařiny). Jednoleté ozimy (pšenice) rostou částí dvou sezón. Jsou vysety na podzim a procházejí důležitými fyziologickými změnami, tzv. **vernalizací**, která je nezbytná pro kvetení a zrání následující jaro. Některé druhy, které nejsou jednoleté (např. bavlník), lze v důsledku vernalizace pěstovat jako by byly jednoleté.

Dvouleté druhy

Dvouleté druhy dokončí svůj růstový cyklus během dvou vegetačních období. V prvním roce vytvářejí kořeny a listy, vytvoří květy a plody, a cyklus končí uhynutím rostliny ve druhém roce. Dvouleté druhy obvykle vyžadují speciální podmínky prostředí (vernalizace), aby byla aktivována reprodukční fáze růstu. Např. u cukrové řepy proběhne vegetativní růst první rok, během zimy dojde k vernalizaci a na jaře začíná generativní růst.

Vytrvalé druhy

Vytrvalé druhy jsou schopné opakovat svůj růstový cyklus nekonečně dlouho, aniž dochází k uhynutí rostliny. Mohou to být byliny, které vytvářejí podzemní vegetativní orgány (oddenky) nebo povrchové struktury (stolony=stonkové výběžky). Také to mohou být dřeviny – keře (vinná réva) nebo stromy (pomerančovník).

Monokarpní druhy

Pro monokarpní druhy jsou charakteristické dlouhé vegetativní cykly opakované po mnoho let, aniž by přešly do fáze reprodukční. Jestliže vykvete, rostlina potom uhynie (bromélie). Nová rostlina vznikne z kořenového systému staré rostliny.

Některé druhy, které jsou v přírodních podmínkách dvouleté, je možné pěstovat jako jednoleté. Např. cukrová řepa se tak pěstuje pro svoje kořeny. K účelům šlechtění jsou rostliny ponechány, aby vykvetly a mohly se křížit a byla získána semena.

1.3 Apomixis

Apomiktický způsob rozmnožování je považován za fylogeneticky nejmladší, odvozený od pohlavního rozmnožování. Apomixie je nepohlavní způsob rozmnožování semeny, při kterém nový jedinec vzniká bez splynutí samčích a samičích gamet (tj. bez syngamie) a nevyvíjí se tedy ze zygoty. Je to komplexní znak vyplývající z několika modifikací pohlavního cyklu rostlin.

Začátkem minulého století se chápala apomixie v širším smyslu. Např. Winkler pod tento pojem zahrnoval viviparii a ostatní formy vegetativního rozmnožování. Tato široce chápaná

definice se dnes již nepoužívá. V současné době se vegetativní rozmnožování do tohoto pojmu nezahrnuje. Základní výzkum vzniku, rozšíření a klasifikace apomixie spadá do poloviny 40. let minulého století. Zasloužil se o to především švédský botanik Gustafsson a později v 60. letech indický vědec Battaglia.

Apomixis v užším slova smyslu tedy chápeme jako nepohlavní způsob rozmnožování semeny (agamospermie), pro který jsou typické následující odchylky v porovnání s pohlavním rozmnožováním:

- (1) modifikace nebo úplné vynechání meiózy,
- (2) tvorba neredukovaných megaspór,
- (3) partenogenetický vývoj embrya,
- (4) autonomní (nezávislý na opylení) nebo pseudogamní (závislý na opylení) vývoj endospermu.

V důsledku uvedených odchylek se vytvářejí embrya (a potomstvo), která jsou přesnou genetickou kopií mateřské rostliny.

Apomixie zahrnuje dva typy reprodukce:

- (1) gametofytickou apomixii a
- (2) adventivní embryonii (sporofytickou apomixii).

Gametofytická apomixie

Tento způsob apomixie předpokládá pozměněnou megasporogenezí, při které nedochází k redukci počtu chromozomů, tzn., že vzniklý primární zárodečný vak (megaspóra) a z něho odvozený zralý zárodečný vak (samičí gametofyt) nemá redukovaný počet chromozomů. Dalším předpokladem úspěšné apomixie je schopnost neoplozené vaječné buňky (s neredukovaným počtem chromozomů $2n$) vytvářet embrya. Tato schopnost se nazývá (díploidní) **partenogeneze**. Oba procesy jsou pod nezávislou genetickou kontrolou a jsou determinované pravděpodobně polygenně.

Vedle díploidní partenogeneze se někdy do apomixie zahrnuje i haploidní partenogeneze, kdy se haploidní zárodek tvoří z neoplozené vaječné buňky (gynogeneze) nebo mikrospory (androgeneze).

Podle původu a způsobu vzniku zárodečného vaku a odchylek v megagametogenezi se rozlišují dva typy gametofytické apomixie:

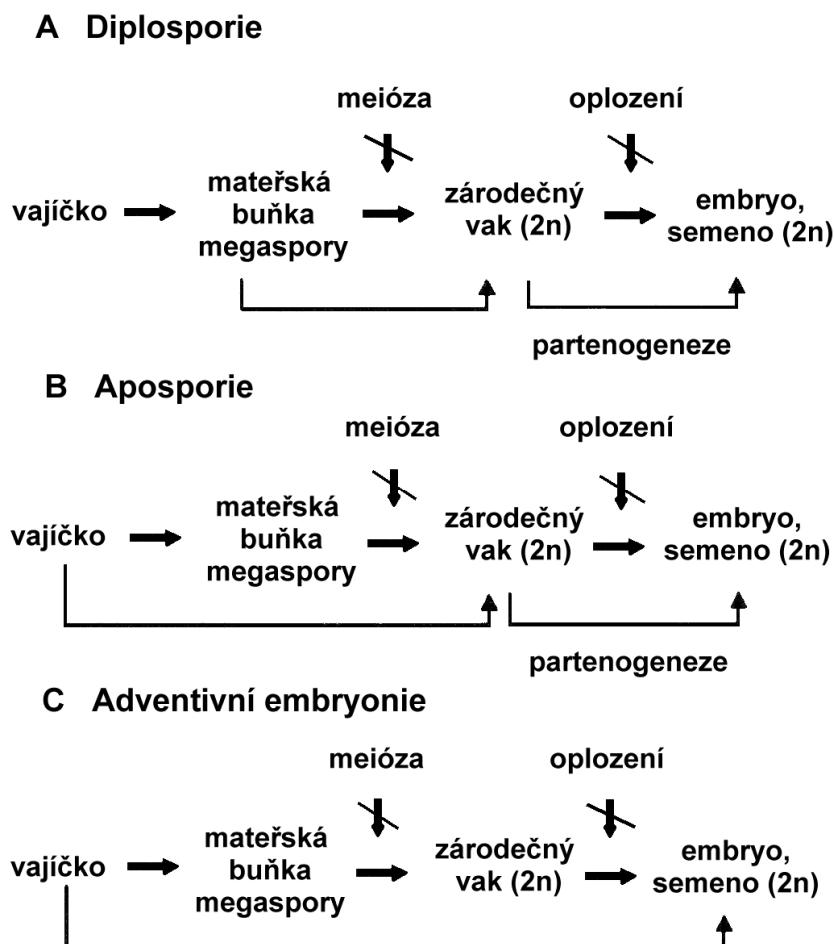
- (1) diplosporie a
- (2) aposporie.

Pro **diplosporii** je typický vznik neredukovaného zárodečného vaku z buňky samičího archesporia (obr. 3). Pro tento typ apomixie se užívá synonym mitotická, somatická, přímá diplosporie, generativní aposporie aj. Embryonální vak se vytváří z neredukované megaspory nebo mateřské buňky megaspory. Embryo se vyvíjí partenogeneticky. Endosperm se vyvíjí autonomně z neredukovaných centrálních jader také bez oplození (*Compositae*). Může mít proměnlivou úroveň ploidie. U rodů *Ergastosis* a *Tripsacum* je pro tvorbu endospermu nezbytné opylení (tzv. pseudogamie). Meiotická diplosporie se vyskytuje u rodů *Arabis*, *Paspalum*, *Taraxacum*, *Ixerix* a zástupců některých rodů *Compositae*. Mitotická diplosporie byla zjištěna u rodu *Antennaria*.

U polyploidních druhů *Allium nutans* ($2n = 40$), *A. odoratum* ($2n = 32$) a *A. tuberosum* ($2n = 32$) je diplosporie typu *Allium*. U těchto druhů dochází k premeotickému zdvojení chromozomů endomitózou. Vznikají dva identické chromozomy, oba se dvěma chromatidami. Během následující meiózy se párují sesterské chromozomy a tvoří autobivalenty. Vzniká tetráda jader rodičovského genotypu.

Při **aposporii** (někdy též somatické aposporii) vzniká neredukovaný zárodečný vak z některé jiné somatické buňky nucelu, než ze které vzniká archesporová buňka (obr. 3). Aposporie i amfimixie mohou probíhat v jednom vajíčku. Při vývoji aposporních zárodečných vaků dochází k řadě morfologických odchylek v uspořádání a polaritě, které slouží jako kritérium pro klasifikaci jednotlivých typů (typy: *Hieracium*, *Poa*, *Panicum*, *Andropogon*). U typu *Hieracium* se tvoří neredukovaný osmijaderný bipolární embryonální vak. Embryonální vak typu *Panicum* je zpravidla neredukovaný čtyřjaderný monopolární. Pro vývoj endospermu je u většiny druhů s výjimkou *Hieracium* spp. nezbytné opylení. Aposporie je častým apomiktickým mechanismem u řady druhů trav patřících k rodům *Pennisetum*, *Poa*, *Paspalum* a *Cenchrus*.

Obr. 3: Jednotlivé typy apomixie.



Autonomní a pseudogamní apomixie

Někdy se apomixie rozlišuje podle závislosti na opylení a oplození. Autonomní apomixie je funkčně spjata s diploidní partenogenezí. Vývoj embrya je zcela nezávislý na stimulaci opylením. Tento jev je poměrně vzácný a vyskytuje se většinou u apomiktů z čeledě *Asteraceae*. Jako příklad se uvádí *Antennaria alpina*, u které jsou v mnoha populacích známy pouze samičí rostliny. Vedle autonomní apomixie existuje pseudogamní apomixie (pseudogamie), kdy je pro vznik semen zapotřebí opylení, přestože embryo nevzniká oplozením. Pseudogamie je typická pro většinu apomiktů z čeledě *Rosaceae*.

Je zřejmé, že apomiktický způsob rozmnožování má řadu modifikací, které vedly k četným pokusům o jejich utřídění a klasifikaci. Přitom vznikla celá řada synonym, což vedlo k velkému počtu rozdílně chápaných termínů. Uvádíme jednu z výstižných klasifikací typů apomixis.

Příčiny vzniku apomixie

I když bylo vysloveno mnoho teorií o příčinách vzniku apomixie, je dnes všeobecně uznávaná koncepce dědičné determinace apomixie. K dispozici je však dosud málo experimentálních údajů o typu dědičnosti, počtu genů a jejich vztazích. Pozornost se soustřeďuje na objasnění genetické determinace jednotlivých složek apomixie. Klíčovými mechanizmy apomixie je modifikace nebo vynechání samičí meiózy a podpoření autonomního vývoje embrya ve vajíčku. Nejčastěji jsou uváděny tyto odchylky vedoucí k apomixii:

- (1) Vynechání heterotypického meiotického dělení, jejímž důsledkem je neredukovaný počet chromozomů a vznik neredukovaných diplosporních nebo aposporních zárodečných vaků.
- (2) Schopnost genotypů vytvářet diplosporní nebo aposporní zárodečné vaky.
- (3) Schopnost neoplozených vajíček k autonomnímu vývoji (partenogenezi).
- (4) Neschopnost neredukovaných vaječných buněk k oplození.
- (5) Schopnost somatických buněk nucelu a integumentů pronikat do zárodečného vaku a vytvořit adventivní zárodky (polyembryonie).
- (6) Na opylení nezávislá schopnost polárních jader nebo sekundárního jádra zárodečného vaku k autonomnímu vývoji endospermu.

Huseníček a rýže se staly hlavními rostlinnými objekty při izolaci odpovídajících genů podmiňujících jednotlivé procesy vedoucí k apomixii, a to především prostřednictvím mutagenese a získání apomiktických mutantů. K objasnění genetiky apomixie přispělo studium populací hybridů získaných křížením *Pennisetum squamulatum* a *Tripsacum dactyloides* s kukuřicí.

Rozšíření apomixie

Existuje řada experimentálních důkazů o tom, že apomixie a amfimixie se jako dva základní způsoby rozmnožování navzájem nevylučují. Naopak se v populacích určitých rostlinných druhů často vyskytují současně ve stavu určité rovnováhy. Apomiktické taxony obvykle zahrnují pohlavně se množící diploidy a polyploidy, ale také **fakultativní apomikty** (*Poa pratensis*). Jiné druhy, např. *Paspalum notatum*, se rozmnožuje výhradně apomikticky

(obligátní apomixie). Pozitivním aspektem většiny apomiktů je zachování samčí fertility. Naopak, pokud vzniknou rostliny aneuploidní nebo triploidní, tedy sterilní, je to často spojeno s apomixií.

Diploidní partenogeneze u jinak pohlavně se množících druhů byla zjištěna např. u rodů *Fragaria*, *Solanum*, *Zea*, *Primula*, *Triticum*, *Petunia*, *Nicotiana*, *Brassica* aj. Z dalších kulturních rostlin, u kterých je významné apomiktické rozmnožování, můžeme jmenovat *Taraxacum officinale* a *Parthenium argentatum* (*Asteraceae*), druhy rodů *Malus* a *Rubus* (*Rosaceae*), dále *Poa*, *Panicum*, *Paspalum*, *Pennisetum* a další subtropické trávy čeledě *Poaceae*. Odrůdy druhů subtropických rodů *Citrus*, *Mangifera* a *Musa* se rozmnožují apomikticky semeny vzniklými adventivní embryonií. Celkově se různé druhy apomixie zjistily asi u 400 druhů a 90 rodů krytosemenných rostlin. Přitom se často vyskytují ve fylogeneticky mladých čeledích, např. *Poaceae* (téměř 60 rodů) a *Asteraceae* (téměř 30 rodů). Nejčastější je výskyt apomixie u *Gramineae*, řádu *Compositae* a čeledě *Rosaceae*. Apomixie byla zjištěna většinou u druhů s vyšší ploidií, což také komplikuje její využití ve šlechtění. Byla zjištěna jen u několika málo zemědělských plodin. Celkem se apomixie předpokládá asi u 40 čeledí

Využití apomixie ve šlechtění

Detekce apomixie předcházející jejímu využití je poměrně snadná při úplné apomixii. Např. u většiny rostlin *Taraxacum officinale* i po pečlivé kastraci jednotlivých květů a po vyloučení možnosti cizosprášení izolací úboru, vznikají normální semena. Naproti tomu částečnou apomixi zjistíme tímto způsobem velmi těžko. Ještě komplikovanější jsou případy pseudogamie, kdy embryo sice vzniká partenogeneticky, vyžaduje však stimulaci opylením. Na pseudogamii můžeme usuzovat tehdy, jestliže po „křížení“ dvou homozygotních rostlin s různými dominantními geny – markery ($AA\ bb \times aa\ BB$) bude potomstvo F_1 jednotné a fenotypově shodné s mateřskou rostlinou.

Zájem o apomiktický způsob rozmnožování a jeho využití ve šlechtění se soustřeďuje na několik základních oblastí:

- (1) Pozornost je zaměřena na ověření biologických a genetických předpokladů apomiktických forem při fixaci heteroze u vhodných hybridních kombinací hospodářsky důležitých rostlin, bez neustálého opakování křížení při tvorbě hybridů a na snadnější udržování rodičovských linií. Určité úspěchy byly v tomto směru dosaženy u široku a jiných *Poaceae* a u některých zástupců z čeledě *Asteraceae*, např. u *Centaurea cyanus*.
- (2) Některé šlechtitelské programy jsou zaměřeny na zvýšení genetické variability hospodářsky důležitých apomiktů mezidruhovým křížením s pohlavně se rozmnožujícími formami nebo fakultativními apomikty. Obvykle se používá křížení, ve kterém se mateřské rostliny opylují pylem obligátních apomiktů. Vzniklé heterozygotní potomstvo vykazuje velkou variabilitu jak ve sledovaných znacích, tak i ve způsobu rozmnožování. Následující výběr je obvykle zaměřen na hospodářsky nejcennější vysoce apomiktické hybridy. V některých případech bylo možno tímto způsobem vybrat i obligátní apomikty (např. *Pennisetum ciliare*, *Panicum maximum*).
- (3) Další oblast využití je spjata s představou indukce vyšší četnosti haploidní partenogeneze, následným výběrem haploidních rostlin a po jejich diploidizaci rychlým odvozením homozygotních linií. Takové linie se mohou úspěšně využít jako rodičovské linie při tvorbě výkonných hybridů.

- (4) Opakovaný vznik partenogenetických rostlin je často pozorován v potomstvech mezidruhových i mezirodových hybridů, kdy v důsledku poruch v meióze dochází v některých případech k tvorbě neredukovaných gamet. Jejich vznik v řadě případů umožňuje i fixaci amfidiploidního stavu např. u mezirodových hybridů *Haynaldia* x *Triticum*, *Triticum* x *Aegilops*. Nejvíce amfiploidů s následným praktickým využitím bylo však získáno z křížení *Triticum* x *Secale*.
- (5) Adventivní embryonie je významným způsobem reprodukce u *Citrus* sp. a využívá se k získání bezvirózního potomstva. Tento typ reprodukce se prakticky využívá i u dalších rodů např. *Mangifera*, *Malus*, *Ribes* a *Beta*.

K uskutečnění uvedených šlechtitelských záměrů je nutná záměrná introgrese jednotlivých složek (geneticky kontrolovaných komponent) apomixie do pohlavně se množících hospodářsky důležitých rostlin. To je možné buď výběrem rostlin z cizosprašných populací (u samosprašných rostlin se předpokládá, že jsou tyto geny rychle eliminovány), nebo indukci mutací. V neposlední řadě je to možné uskutečnit přenosem celých chromozomů (nebo jejich fragmentů) vzdálenou hybridizací z geneticky příbuzných apomiktických forem nebo druhů a následným výběrem linií s vhodnými složkami apomixie. K jejich identifikaci se využívají izoenzymové nebo DNA markery. Byly rozpracovány vysoce efektivní metody přenosu částí chromozomů, které mohou tento proces podstatně urychlit. Podařilo se například přenést složky apomixie z *Tripsacum dactyloides* do *Zea mays*. K introdukci apomixie byly využity také druhy rodů *Beta*, *Malus*, *Agropyron*, *Elymus* a *Solanum*. Pokusy o introdukci složek apomixie ze vzdálených příbuzných druhů do druhů se zemědělským využitím však byly většinou neúspěšné, protože výsledkem byly jen částečně fertillní apomiktické rostliny. Z těchto důvodů se úsilí výzkumných pracovníků zaměřilo na identifikaci a izolaci klíčových regulačních genů.

Přes mnohaleté úsilí šlechtitelů není apomixie ve větší míře využívána ve šlechtitelských programech a její genetická kontrola není doposud zcela objasněna. Pravděpodobně jde o znak kvalitativní, geneticky kódovaný jedním nebo několika geny. U většiny sledovaných druhů segregovala apomixie jako jeden lokus. U druhů *Panicum maximum*, *Ranunculus auricomus* a *Brachiaria* sp. byla zjištěna aposporie s monogenní dědičností, kde byla tvorba neredukovaného zárodečného vaku determinována dominantní alelou. Hlavními modelovými druhy při studiu genetiky diplosporie byly druhy rodu *Taraxacum*. U nich je gen nebo několik málo genů determinujících tento typ apomixie lokalizován na jednom chromozomu. U druhů rodu *Tripsacum* je apomixie kontrolována několika těsně vázanými geny a dědí se mendelovsky jako jeden lokus. Výskyt obligátní nebo fakultativní apomixie a odlišný stupeň fakultativní apomixie v rámci jednoho druhu naznačuje vliv jiných genů, tzv. modifikátorů, nebo vliv genetického pozadí.

Genetická determinace apomixie

Gametofytická apomixie zahrnuje několik modifikací pohlavního reprodukčního cyklu, jako je apomeióza, partenogenetická tvorba embrya a v některých případech změny tvorby centrální buňky zárodečného vaku a různé způsoby tvorby endospermu.

Výzkum prováděný v 80. a 90. letech minulého století u několika druhů naznačuje, že apomeióza se dědí monogenně, dominantní alelou. Různá penetrance genu vysvětluje výskyt fakultativních apomiktů. U některých druhů, jako je *Ranunculus auricomus*, *Pennisetum maximum* a *Hieracium piloselloides*, se apomeióza společně s dalšími elementy apomiktické reprodukce dědí také jako 1 znak. U druhů *Taraxacum officinale*, *Poa pratensis* a *Erigeron*

annuus, apomei6za ne vřdy kosegreguje s dalšími rysy apomei6zy. U všech testovaných druhů je silná suprese rekombinace v okolí lokusu pro apomei6zu, což naznačuje, že apomixis je asi kontrolována mnoha geny, které jsou v těsné vazbě, geny tvoří jeden nebo dva komplexy.

Práce od r. 1999 dokládají nezávislou kontrolu jednotlivých komponent apomei6zy a partenogeneze dominantními alelami majorgenů. Ale to nevylučuje, že každá komponenta apomixis může být kontrolována více geny. Doposud nejsou žádné poznatky o faktorech podmiňujících penetranci a expresivitu u různých genetických pozadí.

Genetické nalůzy jsou komplikovány nízkou rekombinací, nepravidelnou segregací a řastou polyploidii druhů. Nejobtížnější jsou analůzy tvorby apomiktických semen, protože gametofytická generace je reprezentována jen několika málo buňkami a je omezena na krátký řasový interval.

Rozdíly v expresivitě a interakce genů jsou zodpovědné za širokou škálu způsobů reprodukce. Aposporie a partenogeneze a také jednotlivé geny segregují nezávisle.

Poa pratensis je významná pícnina. Je to aposporní pseudogamní apomikt s $2n=18$ až 150. Genetická kontrola apomixis byla studována u řady segregujících potomstev pocházejících z křížení a selfování obligátních pohlavních rodičů a fakultativních apomiktických rodičů. Výsledkem je model s pěti geny s velkým účinkem, které jsou nezbytné pro kontrolu tvorby asexuálních semen:

Apospory initiator *Ait* aktivace aposporie

Apospory preventer *Apv* inaktivace tvorby aposporního zárodečného vaku

Megaspore development *Mdv* tvorba mateřské buňky megasp6ry

Partenogenesis initiator *Pit* aktivace partenogeneze

Partenogenesis preventer *Ppv* inaktivace partenogeneze

Rozdíly v expresivitě a interakce genů jsou zodpovědné za širokou škálu způsobů reprodukce. Aposporie a partenogeneze a také jednotlivé geny segregují nezávisle.

1. Geny *Apv*, *Ppv* brání tvorbě aposporního zárodečného vaku a embrya bez oplození.
2. Penetrance a expresivita je úplná u genů *Apv* a *Ppv* u rostlin s amfimixií.
3. Recesivní alely *apv*, *ppv* tolerují, ale neindukují apomei6zu nebo partenogenezi.
4. Dvojnásobný recesivní homozygot *apv apv ppv ppv* tvoří apomiktická semena sporadicky.
5. Pro vyšší podíl apomixie existují dva další geny. Dominantní alely *Ait* a *Pit* indukují aposporii a partenogenezi.
6. Nejvyšší podíl apomixie je u genotypů *Ait - apv apv*, *Pit - ppv ppv*.
7. Obligátní amfimixie je u genotypů *ait ait Apv - pit pit Ppv - .*
8. Recesivní alela *mdv* způsobuje aborci megasp6r nebo megagametofytů.
9. Genotyp stabilního aposporního apomikta je *Ait - apv apv mdv mdv Pit - ppv ppv*.

Určete fenotypy k následujícím genotypům:

Ait - apv apv (apomikt)

ait ait Apv - pit pit Ppv - (amfidiploid)

Pit - ppv ppv (apomikt)

Je možné šlechtění na apomixis?

Testované přístupy introdukce apomixy do kulturních druhů:

(1) Hybridizace příbuzných druhů, apomikt x pohlavně se množící kulturní druh.

Čeleď *Poaceae* má řadu apomiktických druhů a řadu ekonomicky významných druhů. V řadě programů byly snahy přenést pseudogamní apomixi do kulturního druhu prostřednictvím hybridizace:

Tripsacum dactyloides x *Zea mays*

Pennisetum squamulatum x *Pennisetum squamosum*

Hybridizace byla vždy problémová, docházelo ke ztrátě apomiktické schopnosti, aborci semen a sterilitě v důsledku nerovnováhy endospermu, v důsledku fúze neredukovaných centrálních buněk s haploidní spermatickou buňkou.

Introgrese autonomní apomixy, která je schopná obejít problémy s endospermem, však není k dispozici u čeledě *Poaceae*, ale vyskytuje se jen u čeledě *Asteraceae*.

(2) Indukce mutací u pohlavně se množícího druhu a výběr rostlin s autonomní tvorbou semen.

Byla prováděna řada pokusů. Jednotlivé dílčí znaky byly získány, jako je schopnost tvorby neredukovaných gamet a partenogenetických embryí. Ale nepodařilo se získat rostlinu, která vytváří asexuální embrya ve vysokých četnostech.

Mutagenese a skrínink apomixy u *Arabidopsis*:

Byly identifikovány tři mutace

fis (*fertilisation independent seed*)

fis1/mea (*medea*)

fis2

fis3/fie (*fertilization independent endosperm*)

U mutantů docházelo k autonomnímu vývoji centrální buňky. Avšak žádná mutace samostatně není schopná indukovat plnou diferenciaci autonomního endospermu. Dále neexistuje vývoj vaječné buňky, asi proto, že gen *FIS* je pozdě exprimován.

(3) Identifikace alel kódujících apomixi v přírodě a jejich využití při genetické transformaci.

Klonování genů pro apomixii z genomů rostlin a apomixií je velmi obtížné z různých důvodů: suprese rekombinace v okolí lokusu, polyploidie druhů, redukovaná sexualita apomiktů. Ačkoli některé lokusy byly zmapovány, žádné nebyly osekvenovány. Je nezbytné aplikovat jiné přístupy, např. přes mRNA.

Dosažené výsledky s identifikací genů pro indukci embryogeneze bez oplození.

AtSERK1 - gen je exprimován u vajíček před oplozením a u raných embryí; exprese genu zvyšuje embryogenní potenciál kalusů *in vitro* (výsledky výzkumu r. 2001).

BABYBOOM - exprese během tvorby semen, *in vitro* indikuje tvorbu somatických embryí např. na okrajích listů a apikálním vrcholu (výsledky výzkumu r. 2002).

Exprese těchto genů stimuluje somatickou embryogenezi *in vitro* u vegetativních orgánů, avšak zdaleka nic neříká o možnosti indukovat partenogenezi v semenech, což je nezbytné pro apomixii.

2 Pohlavní rozmnožování a jeho vztah ke šlechtění rostlin

Pohlavní rozmnožování je nejrozšířenějším způsobem rozmnožování vyšších rostlin. Rozmnožovací orgán – květ má téměř neomezenou rozmanitost morfologických a fyziologických znaků, jejichž kombinace představuje různá přizpůsobení květů především k efektivnějšímu opylení a regulaci stupně cizosprášení. Jedním z takových přizpůsobení je i různé rozmístění pohlavních orgánů v květech, na rostlinách a ve skupinách rostlin.

V současné době je klasifikace typů pohlaví a symboly, které se pro jejich označení používají, zcela jednoznačná. Při klasifikaci je třeba rozlišovat typy pohlaví v samostatných květech, na celých rostlinách a v rámci skupiny rostlin (obr. 4).

2.1 Typy pohlaví jednotlivých květů

- (1) Oboupohlavný (obojaký, hermafroditní, hermaphroditus) - květ, který má jak tyčinky, tak i jeden nebo několik plodolistů
- (2) Tyčinkový (samčí, masculum) – květ, který má pouze tyčinky a nemá plodolisty
- (3) Pestíkový (samičí, feminus) – květ, který má pouze plodolisty a nemá tyčinky

2.2 Typy pohlaví jednotlivých rostlin

- (1) Oboupohlavná (obojaká, hermafroditní, hermaphroditus) – rostlina, která má pouze oboupohlavné květy
- (2) Jednodomá (monoecická, monoická, monoecious) – rostlina, která má jak tyčinkové, tak pestíkové květy
- (3) Samčí (androecická, androecious) – rostlina, která má pouze tyčinkové květy
- (4) Samičí (gynoecická, gynoecious) – rostlina, která má pouze pestíkové květy
- (5) Andromonoecická (andromonoecious) – rostlina, která má jak oboupohlavné, tak tyčinkové květy (*Veratrum album*, *Astrantia major*)
- (6) Gynomonoecická (gynomonoecious) - rostlina, která má jak oboupohlavné, tak pestíkové květy (*Paraetaria officinalis*)
- (7) Trimonoecická (trimonoecious) – rostlina, která má tři typy květů: oboupohlavné, tyčinkové a pestíkové (*Saponaria ocimoides*)
- (8) Agamonoecická (agamonoecious) – rostlina, která má vedle oboupohlavných květů ještě květy bezpohlavné se zakrnělými nebo abortovanými tyčinkami a semeníky (*Viburnum opulus*)

2.3 Typy pohlaví skupiny rostlin (populace, druhu, odrůdy)

- (1) Oboupohlavná (obojaká, hermafroditní, hermaphroditus) – skupina, která má pouze oboupohlavné rostliny

- (2) Jednodomá (monoecická, monoická, monoecious) – skupina, která má pouze jednodomé rostliny (*Zea mays*, *Juglans regia*, *Corylus avellana*)
- (3) Dvoudomá (dioecická, dioická, dioecious) – skupina, která má samčí a samičí rostliny, (*Bryonia dioica*, *Melandrium album*, *Silene alba*, *Humulus lupulus*)
- (4) Androdioecická (sub-androecická, androdioecious) – skupina, která má rostliny oboupohlavné a samčí (*Dryas octopetala*)
- (5) Gynodioecická (sub-gynoecická, gynodioecious) – skupina, která má rostliny oboupohlavné a samičí (*Origanum vulgare*, *Cirsium oleracea*, *Thymus serpyllum*)
- (6) Trioecická – skupina, která má rostliny oboupohlavné, samčí i samičí (*Fraxinus excelsior*, *Asparagus officinalis*)

Přehled uvedených typů a používané symboly uvádí obr 4.

Výčet typů v uvedeném přehledu není vyčerpávající a existují ještě další možnosti či varianty, které by vyžadovaly zvláštní popis. Jako příklad můžeme uvést tři varianty jednodomé rostliny:

- (1) tyčinkové a pestíkové květy jsou rozmístěny po celé rostlině (např. četné odrůdy okurek),
- (2) tyčinkové a pestíkové květy se shlukují v samčí a samičí květenství (např. kukuřice) a
- (3) v určitém stadiu růstu má rostlina květy pouze jednoho typu, jako např. u *Arisaema japonica* se zpočátku objevují pouze tyčinkové květy, později pouze pestíkové, takže se při zblžném pohledu jeví rostliny jako dvoudomé.

Při rozdělení rostlin podle pohlaví by byla možná i jiná terminologie (monoecious, andromonoecious, gynomonoecious), jsou to však detaily, které není třeba rozvádět. Podstatné je, aby se přesně vymezovalo pohlaví květů, rostlin a skupiny rostlin (např. musíme mluvit o tyčinkovém květu, samčí rostlině a dvoudomé populaci).

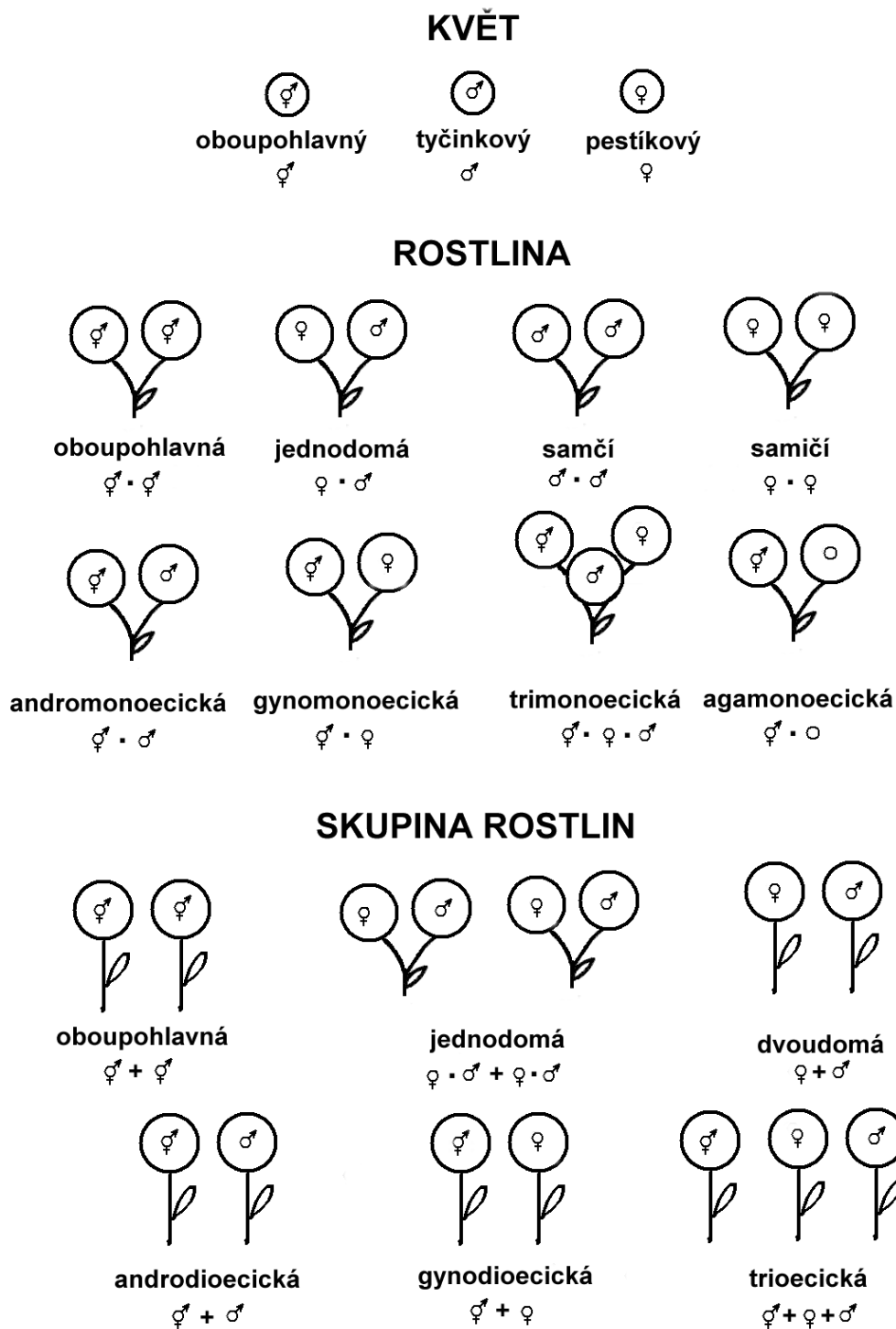
Převážná většina rostlin jsou rostliny oboupohlavné. Uvádí se, že mezi přibližně 120 tisíci druhy krytosemenných rostlin je 86% druhů s rostlinami, které mají pohlavní orgány obou typů, 4% druhů s rostlinami odděleného pohlaví a 10% druhů ostatních. Je vidět, že jednopohlavných forem není v rostlinné říši mnoho. Toto rozdělení je významné z evolučního hlediska, neboť oboupohlavnost spolu s mechanismy izolace různého typu dává více možností ve smyslu adaptace k měnícím se podmínkám prostředí než jednopohlavnost.

U kulturních rostlin se pohlavní dimorfismus vyskytuje pouze u několika málo druhů; u mnoha dvoudomých kultur se objevují pravidelně nebo občas oboupohlavné nebo jednodomé rostliny v četnosti závislé na genetických faktorech či vnějších podmínkách. Dvoudomost se u rostlin hospodářsky významných vyskytuje hlavně u víceletých plodin. Jsou to např. *Cannabis sativa*, *Simonsia californica*, *Humulus lupulus*, *Piper nigrum*, *Dioscorea* sp., *Spinacia oleracea*, *Asparagus officinalis*, *Poa arachnifera*, *Atriplex* sp., *Ilex aquifolium*, *Acer negundo*, *Fraxinus* sp., *Pistacia vera*, *Carica papaya*, *Vitis rotundifolia*, *Morus alba*, *M. nigra*, *Ficus carica* a *Phoenix dactylifera*. U těchto rostlin dochází více nebo méně často k obligátnímu cizosprašení v závislosti na výskytu oboupohlavných nebo jednodomých rostlin v populacích a na stupni jejich inkompatibility (kap. 6).

U oboupohlavných rostlin můžeme pozorovat velkou rozmanitost ve způsobu rozmnožování. Takovéto rozdíly jsou podmíněny jak genotypovou variabilitou uvnitř druhů, tak vnějšími podmínkami, kterým je tato potenciálně cizosprašná populace vystavena. Podle způsobu rozmnožování se rostliny rozdělují na samosprašné (autogamní) a cizosprašné (alogamní).

Přitom je nutné předeslat, že samosprašné jsou takové rostliny, u kterých dochází nejen k opylení, ale i oplození vlastním pylem a podobně u cizosprašných rostlin předpokládáme nejen opylení, nýbrž i oplození cizím pylem. Proto je výstižnější hovořit o rostlinách se samooplozením a náhodným oplozením.

Obr. 4: Schematické znázornění a názvy jednotlivých typů pohlaví u květů, rostlin a skupin rostlin.



3 Způsoby opylení a oplození u rostlin

Na důležitou roli mechanismů opylení pro existenci druhu poukázal už Darwin. I když tehdy ještě neměl jasné představy o původu genetické variability, podrobně tuto problematiku rozpracoval a popsal téměř všechny známé mechanismy cizosprášení u rostlin (různopohlavnost, protandrii, protogynii, inkompatibilitu a různé modifikace květu a přizpůsobení hmyzím opylovačům), pozoroval i inbrední depresi a v této souvislosti poukázal na důležitost mechanismů cizosprášení.

Počáteční popisné morfologické metody byly vystřídány funkčním přístupem. Vlivem prací, které se zabývaly vzájemnými souvislostmi mezi opylovači a strukturou květu, se začaly studovat takové oblasti jako indukce kvetení, genetické aspekty tvorby pylu, fyziologie a dědičnost inkompatibility, dědičnost samčí sterility apod.

Mechanismy kontrolující systém opylení, ať už zajišťuje samosprášení či cizosprášení, se vyskytují v mnoha různých formách. Pro jejich správné pochopení je však zapotřebí studovat jak strukturní tak i funkční aspekty biologie květů. Příčinné spojení mezi strukturou květu a způsobem opylení je zřejmé při pohledu na jejich evoluci. Strukturální přizpůsobení k cizosprášení mohou být často pouze evolučním reliktem, na který se navrstvil nový mechanismus rozmnožování. Můžeme uvést mnoho příkladů: např. rozdělení pohlaví mezi různé rostliny (dvoudomost) zabezpečuje obligátní opylení a oplození cizím pylem (např. u špenátu). Některé dvoudomé rostliny se však navzdory tomu rozmnožují apomikticky (např. *Simonsia chinensis*). U bobovitých jsou květy přizpůsobeny k opylování hmyzem. V některých případech skutečně tato přizpůsobení slouží cizosprášení (např. u *Vicia villosa*, *Medicago sativa*, *Trifolium pratense*), v jiných případech se však jejich pomocí uskutečňuje samoopylení (např. u *Vicia sativa*, *Medicago hispida*, *Trifolium fragiferum*). Dalším příkladem jsou rostliny čeledě *Poaceae*, z nichž většina je přizpůsobena opylení větrem (prašníky se vysunují a visí z květu ven). Avšak nacházíme mezi nimi vedle cizosprašných (*Secale cereale*, *Hordeum bulbosum*, *Setaria sphacelata*) i samosprašné druhy (*Triticum aestivum*, *Hordeum vulgare*, *Setaria italica*). U pšenice prašníky dozrávají a zabezpečují samoopylení před tím, než se vysunou z květu. Chazmogamní (otevřené) kvetení však dovoluje i náhodné cizosprášení.

Zkoumáme-li mechanismy opylení, můžeme říci, že obecně je méně obtížné zabezpečit účinné samosprášení než stejně účinné cizosprášení, poněvadž samosprášení nevyžaduje genetickou rozdílnost mezi individui. Zábava cizosprášení je téměř vždy zajištěna kleistogamií (opylením uvnitř zavřeného květu) nebo mechanismy podobného účinku. Pravá kleistogamie se vyskytuje např. u trávy *Danthonia californica* a *Festuca megalura*. Mechanismy zajišťující samosprášení však podléhají modifikacím jak genetickým, tak podmíněným prostředím. U rajčete, kde dochází k opylení v otevřeném květu, je samoopylení zajištěno tím, že kuželovitě srostlé tyčinky obepínají bliznu. Existují však i odrůdy s odlišnou morfologií květů, která umožňuje cizosprášení.

Je známo i mnoho mechanismů zabezpečujících cizosprášení. Je to především časově nesynchronní dozrávání prašníků a schopnosti blizny přijmout pyl. Tak např. u karotky a maliníku dozrává dříve pyl (tzv. protandrie) a u vlašského ořechu a avokáda dozrává dříve blizna (tzv. protogynie). Jiným příkladem prostředku cizosprášení je uzpůsobení květů vojštěsky. Ty jsou uspořádány tak, že blizna, uložená uvnitř květu ve člunku, se může uvolnit z květu ven pouze tehdy, jestliže nějaký hmyz velikosti čmeláka dosedne na květ, a tím vyvine na člunek určitý tlak. V okamžiku, kdy se blizna dostane ven, otře se o hmyz, který způsobil její uvolnění, a tím se na bliznu dostane cizí pyl, který hmyz na svém těle přinesl.

O podobných prostředcích k zabezpečení cizosprašení je známo poměrně málo. Mohou však být velmi efektivní, jako např. u kukuřice, která je vysoce cizosprašná (90% i více) v důsledku kombinace monoecie a protandrie. Podobně je tomu u cukrové řepy a jetele lučního. Vysoký stupeň cizosprašení u těchto druhů nemusí být podmíněn pouze dichogamií (tj. nestejným časovým dozráváním blizen a prašníků). Např. u jetele lučního se k protandrii připojuje ještě vysoký stupeň autoinkompatibility (kap. 6). Také vojtěška má kromě popsané entomofilie určitý druh inkompatibilního systému. U vojtěšky byla dokonce nalezena tzv. somatoplastická sterilita, kdy embrya pocházející z autogamie přežívají hůře než embrya z alogamie. Somatoplastická sterilita tedy zjevně zvýhodňuje heterozygotnost. Je-li o účinnosti takovýchto prostředků cizosprašení známo málo, ještě méně je známo o jejich genetické kontrole. Jak již bylo řečeno, nejnápadnějším z geneticky kontrolovaných systémů alogamie je dvoudomost. Ta však nevylučuje křížení bratr x sestra a podobné formy inbridingu. Mnohem důležitější než dvoudomost je v tomto smyslu autoinkompatibilita, o které pojednává samostatná kapitola.

Uvedené mechanismy opylení vedou ke dvěma základním způsobům oplození: autogamii (samosprašení, samooplození) a alogamii (cizosprašení, náhodné oplození). Má se za to, že samosprašné druhy vznikaly většinou z druhů cizosprašných. Populace alogamních druhů vykazují vzhledem ke své genetické variabilitě větší přizpůsobivost (flexibilitu) ke změnám prostředí než geneticky uniformější autogamní druhy. Autogamní druhy naopak vzhledem k vysoké homozygotnosti jsou schopny vysoké bezprostřední fitness. To jim dovoluje čelit určitým krátkodobým požadavkům prostředí lépe než jejich variabilnější cizosprašným předkům. Tato teorie se dobře hodí na situaci u kulturních druhů, z nichž mnoho je samosprašných snad proto, že prvotní důležitost byla spjata s vysokou bezprostřední fitness při jejich kultivaci.

3.1 Autogamie

Na evoluční strategii samosprašných rostlin se musíme dívat především jako na reakci na určité životní podmínky. Je to např. jejich zvýhodnění při osídlování nového prostoru, kdy je zapotřebí zabezpečit rychlé rozmnožování a kdy vytvoření homogenní populace může být výhodné. U kulturních rostlin se na počátku jejich domestikace prováděl výběr na genetickou stabilitu a dobré produkční vlastnosti. U mnoha samosprašných rostlin můžeme skutečně vysledovat jejich evoluci až k cizosprašným předkům. Taková evoluce probíhala s největší pravděpodobností cestou postupného přizpůsobování systémů křížení (ztráta autoinkompatibility, strukturní přizpůsobení květu) a omezováním efektivní velikosti rozmnožující se části populace.

Variabilita v autogamních populacích

Ačkoliv převládající samoopylení zmenšuje možnost genetické kombinace a rekombinace, neznamená začátek konce evolučního procesu. Vyplyvá to z toho, že některé autogamní skupiny rostlin přežívají svoje alogamní příbuzné a že se v inbredních populacích udržuje určitá úroveň genetické variability. Omezení genetické rozmanitosti inbridingem se může kompenzovat takovými faktory, jako je krátká perioda pohlavní generace, větší počet chromozomů, vysoká fertilita hybridů aj. Avšak genetická rozmanitost v populacích inbredních rostlin je podmíněna hlavně lokální diferenciací v ekologických nikách.

Zkušenosti šlechtitelů ukazují na to, že téměř u každé autogamní odrůdy se uchovává v určitém stupni zbytková heterozygotnost a jako odpověď na usměrněnou selekci potomstva jednotlivých rostlin pak často dochází ke zlepšení odrůdy. To znamená, že genetický polymorfismus u samosprašných druhů má velký význam v metodologii šlechtění. V populacích samosprašných rostlin se často setkáváme s mechanismy, které napomáhají udržet v populaci určité nezanedbatelné procento heterozygotů. Vedle již zmíněného náhodného cizosprašení je to selekční zvýhodnění heterozygotů, které může být zvládnutě ještě selekcí závislou na četnosti genotypů.

Přechodu systému křížení od obligátního cizosprašení k samosprašení musí předcházet poruchy herkogamie (tj. prostorového rozdělení orgánů v květu), dichogamie a autoinkompatibility. V takovémto přechodu můžeme odlišit řadu stadií.

Nucené samoopylení při pozdním kvetení, které zajišťuje oplození v těch případech, kdy se cizosprašení z jakýchkoliv příčin neuskutečnilo. Mechanismus takového opylení může být založen na změnách polohy prašníků a blizny při pozdním kvetení, na stupni překrývání period zralosti blizny a uvolňování pylu u dichogamních rostlin nebo na oslabení mechanismů autoinkompatibility (např. sníženým vylučováním látek, které v blizně brání samooplození).

Dalším stadiem vývoje autogamie je nepravidelné samoopylení, které je jako doplňující k cizosprašení. Smíšené cizosprašení a samosprašení je výsledkem narušení mechanismu cizosprašení, ještě úplně nenahrazeného mechanismy autogamie.

Další etapou jsou strukturní a poziční změny oboupohlavního květu vedoucí k funkční autogamii. Dále může dojít k samoopylení ještě před otevřením kvetením, což činí chasmogamii funkčně zbytečnou. Konečně květ vůbec nerozkvétá a opylení se uskutečňuje v uzavřeném poupěti (kleistogamie).

Kleistogamie

S kleistogamií se setkáváme u kulturních rostlin poměrně často, zřídka však bývá obligátní pro celý druh. Mechanismus kleistogamie je založen na synchronním dozrání pylu a blizny v uzavřeném květu. Častá přítomnost přechodných typů květů ukazuje na to, že kleistogamie je stavem odvozeným od chasmogamie. Základem pro vznik zcela uzavřených květů jsou květy, které se zavírají za nepříznivého počasí (ekologická kleistogamie). Pro kleistogamní květy je charakteristické, že mají menší rozměry a je jich také menší počet. V řadě případů se ukazuje, že kleistogamie je kontrolována geneticky (např. u čiroku a rýže).

Ekologická kleistogamie je přizpůsobením, které zajišťuje opylení v nepříznivých podmínkách (vliv sucha, tepla, zastínění, výživy apod.) V tomto smyslu se může kleistogamně-chasmogamní typ květního dimorfismu stát sezónním. Např. květy *Oxalis acetosella* a *Viola odorata* jsou kleistogamní, jsou-li zastíněny jinými rostlinami. Tento květní dimorfismus se vyskytuje často u trav, u *Bromus catharticus* se při suchém a teplém počasí tvoří mnoho kleistogamních květů. Podobně u *B. carinatus* se ve stresových podmínkách tvoří na okrajích laty květy kleistogamní, zatímco v jejím středu jsou květy chasmogamní.

Ukázalo se, že dva typy květů u kleistogamně-chasmogamních rostlin mohou mít i rozdílnou fertilitu. Např. u *Viola odorata* bylo zjištěno, že chasmogamní květy nejsou funkční a že semena se tvoří pouze v květech kleistogamních. Zajímavým případem je *Lithospermum caroliniense*, kde systém heteromorfní inkompatibility (viz dále) je doplněn autoinkompatibilitou kleistogamních květů. Kleistogamní květy pak dávají více semen než květy chasmogamní, což má vliv na zvýšení podílu inbredních rostlin v potomstvu, než by se očekávalo podle zastoupení kleistogamních květů v populaci. U mnohých trav naopak

kleistogamní květy na okrajích květenství zřídka tvoří semena v důsledku nedostatku výživných látek.

U trav se vyskytuje také tzv. konstituční kleistogamie, která je podmíněna genetickými faktory (např. u *Festuca microstachys*, u některých druhů čiroku a rýže a u ječmene). U některých rostlin vykazuje kleistogamie a chasmogamie vazbu na pohlaví, např. některé druhy *Plantago* mají oboupohlavné květy kleistogamní a při samoopylení dávají pouze kleistogamní potomstvo. Křížením těchto kleistogamních a chasmogamních jednopohlavných samčích rostlin vznikne pouze chasmogamní samčí potomstvo.

Chasmogamie

Existují četná přizpůsobení, která napomáhají samosprášení i v květech, které se normálně otevírají.

Opylení některých rostlin můžeme charakterizovat jako smíšené cizosprášení a samosprášení (*Vicia faba*, *Capsicum annuum*, *C. frutescens*), jejichž poměr značně kolísá v závislosti od genotypu, klimatu, množství opylovačů, apod.

Existuje také mnoho případů vynuceného samoopylení způsobeného oslabením mechanismů cizosprášení. Mezi normálně protogynickými rostlinami může být dichogamie překonána, není-li přítomen cizí pyl (např. u *Gerbera viridifolia*). U starých květů může být zeslabena autoinkompatibilita (u *Sinapis alba* nebo *Brassica campestris*), nebo při nepřítomnosti cizího pylu při pozdním kvetení mohou být květy opyleny vlastním pylem (u některých odrůd *Helianthus annuus* a *Rubus idaeus*).

Autogamie a šlechtění rostlin

Při šlechtění, kdy používáme především různá křížení rostlin, jsou u autogamních druhů nejdůležitější metody kastrace oboupohlavných květů, sběr pylu a opylení cizím pylem, dále pak je nutné zabezpečit izolaci květů, jejich označení a selektivní sběr plodů nebo semen.

Výběr a efektivní kastrace závisí na morfologii a velikosti květu, době otvírání prašníků, ekonomických aspektech, aj. Kastrace může být uskutečněna mechanickými, chemickými a genetickými prostředky.

Mechanická kastrace zahrnuje odstranění pylových zrn, prašníků, jednotlivých tyčinek nebo srostlých tyčinek, či celých květních plátků s přirostlými tyčinkami. Obecně se doporučuje co nejšetrnější zásah do květu. Nejčastěji se odstraňují tyčinky těsně před otevřením prašníků. K tomu je potřeba u každé kultury přesně stanovit nejvhodnější dobu kastrace, která se většinou udává stadiem vývoje poupěte. K minimalizaci nebezpečí samosprášení se pro kastraci volí vhodná denní doba (kdy je nejvyšší vlhkost vzduchu a možnost prasknutí prašníku je malá), nástroje se omývají v alkoholu, apod. Jinými variantami mechanické kastrace je odplavování pylu proudem vody, která se používá při výrazné protandrii květů (např. u salátu). Někdy je možné použít odsávání prašníků vzduchem (např. u rýže) nebo máčení květů na několik minut do vody teplé 40 až 44°C (čirok, rýže) nebo vystavit květy nízkým teplotám (na 10 min. do vody 0 až 4°C, např. rýže).

Při chemické kastraci se používají chemické preparáty, tzv. gametocidy, které zabraňují klíčení pylu, avšak nepoškozují bliznu, neboť androeceum je obvykle citlivější než gynaeeum. Úspěšně bylo vyzkoušeno mnoho chemických látek, hlavně retardantů, např. etylalkohol u vojtěšky, dichloracetát sodný u hledíku, maleinhydrazidová kyselina u rajčete,

aj. K těmto účelům byly použity i některé růstové látky, které způsobují anomálie v mikrosporogenezi. Takto působí např. giberelin u cibule a cukrové kukuřice. Giberelin může v některých případech indukovat heterostylii (např. u rajčete), a tak funkčně zasahovat do procesu samoopylení. Problém širokého použití chemické kastrace spočívá v potížích při přesném stanovení vhodného stadia mikrosporogeneze, v nesynchronním vývoji květních poupat na rostlině aj.

Hned po kastraci (stejně jak po vlastním opylení) je třeba kastrované květy či květenství izolovat a zabránit tak případnému nekontrolovanému opylení cizím pylem. Používají se k tomu různé celofánové, papírové nebo pergamenové sáčky a každé křížení se označí štítkem.

Nejefektivnějším prostředkem je genetická kastrace, tj. samčí sterilita a autoinkompatibilita, kterým jsou věnovány kapitoly 5. a 6.

Při sběru pylu před vlastním opylením se sbírají prašníky donora ještě před otevřením a nechávají se dozrát v kontrolovaných podmínkách. V některých případech se používají speciální přístroje – kolektory pylu založené na principu vibrace či vakuové aspirace.

Při přenosu pylu se někdy přímo nanáší pyl ze zralých prašníků donora na bliznu mateřské rostliny. Ruční opylení je však pracné a v semenářství většinou ekonomicky nevýhodné. Využití přirozených opylovačů při umělém opylení odstraňuje práci při sběru pylu i při vlastním opylení. Při tomto způsobu opylení však musí být splněno mnoho podmínek: kastrované nebo autosterilní mateřské rostliny, synchronizovaný vývoj mateřských a otcovských rostlin, dostatečná produkce pylu, dostatečné množství opylovačů apod.

Při umělém opylení se pyl nanáší na blizny různými nástroji nebo se shromážděný pyl smíchá s nějakou inertní látkou (kukuřičná nebo pšeničná mouka, uhelný prach, prášková celulóza aj.) a tak se snáze rovnoměrně nanáší na mateřské rostliny. Pro určité významné rostlinné druhy existují prakticky vyzkoušené speciální postupy umělého opylování. Např. u pšenice se mateřský klas s kastrovanými květy uzavře do izolátoru (sáčku) spolu s klasem otcovské rostliny. Otcovský klas je umístěn nad mateřským a jeho stopka je ponořena v malé ampulce s vodou, aby bylo zabezpečeno dozrávání pylu a jeho samovolné vypadávaní na květy mateřské rostliny.

Příklady hospodářsky významných autogamních rostlin jsou uvedeny v tab. 1.

Tab. 1: Příklady hospodářsky významných autogamních rostlin s případným podílem alogamie.

Čeleď	Druh	% náhodného oplození	Pozn. (přenosci pylu, modifikace květu aj.)
<i>Asteraceae</i>	<i>Bellis perennis</i>		
	<i>Callistephus chinensis</i>	10	Mouchy
	<i>Cichorium endivia</i>	15	Mouchy
	<i>Lactuca sativa</i>	1 - 6	Mouchy, částečně kleistog.
<i>Poaceae</i>	<i>Avena</i> sp.	3 - 10	Vítr, většinou kleistogamní
	<i>Hordeum vulgare</i>		Většina odrůd kleistogamní
	<i>Panicum miliaceum</i>	10	Vítr
	<i>Triticum</i> sp.	až 6	Vítr, většinou kleistogamní

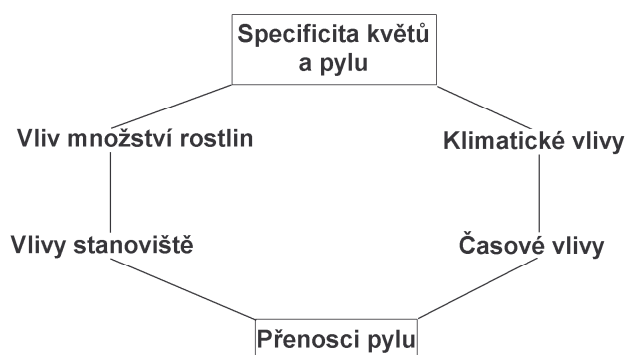
	<i>Agropyron trachycaulum</i>		
	<i>Bromus cartharticus</i>		
	<i>Bromus mollis</i>		
	<i>Elymus</i> sp.		
<i>Fabaceae</i>	<i>Arachis hypogea</i>		
	<i>Glycine max</i>		
	<i>Lens culinaris</i>		
	<i>Phaseolus lunatus</i>	0 - 80	Včely
	<i>Phaseolus vulgaris</i>	1 - 8	Včely
	<i>Pisum sativum</i>	některé odrůdy do 25	
	<i>Vicia faba</i>	30	Včely
	<i>Lupinus albus</i>	10	Včely
	<i>Lupinus luteus</i>	10 – 25	Včely
	<i>Lupinus perennis</i>		
	<i>Trifolium fragiferum</i>		
	<i>Trifolium subterraneum</i>		
	<i>Vicia pannonica</i>		
<i>Linaceae</i>	<i>Linum usitatissimum</i>	3	Včely
<i>Rosaceae</i>	<i>Prunus armeniaca</i>		Některé odrůdy inkompatibilní
	<i>Prunus persica</i>		Inkompatibilní
<i>Rutaceae</i>	<i>Citrus</i> sp.		Mnohé odrůdy apomiktické
<i>Solanaceae</i>	<i>Capsicum annuum</i>	5 - 10	Včely
	<i>Capsicum frutescens</i>	7 - 36	Včely
	<i>Lycopersicon esculentum</i>	2	Protogynie, trubka prašníků napomáhá samosprášení
	<i>Nicotiana tabacum</i>	2 - 3	Včely
	<i>Solanum tuberosum</i>		Mnohé odrůdy mají nefunkční pyl
<i>Vitaceae</i>	<i>Vitis vinifera</i>		Některé odrůdy částečně nebo úplně autoinkompatibilní

3.2 Alogamie

V předchozích dílech jsme hovořili o prostorovém rozdělení pohlavních orgánů rostlin, které představují základní přizpůsobení k cizosprašení. Druhým prostředkem zabezpečujícím alogamii v populacích rostlin je časové rozdělení aktivity pohlavních orgánů. U oboupohlavných rostlin je zabezpečeno neschopností rostliny nebo jednotlivého květu rozšiřovat nebo přijímat pyl v téže době (tzv. dichogamie). Dichogamie existuje také u jednodomých a dvoudomých druhů, je to tzv. skupinová dichogamie. Genetická dichogamie zahrnuje protandrii (prašníky dozrávají dříve, např. tykev, kokos, *Gerbera*) a protogynii (blizny dozrávají dříve, např. mnohé anemofilní lesní dřeviny). Avšak ani oboupohlavné rostliny, které rozšiřují a přijímají pyl ve stejnou dobu (tzv. homogamní), nemusí být nutně samosprašné. U oboupohlavných květů mohou být morfologické a různé fyziologické bariéry zabraňující autogamii. O této funkční neschopnosti samooplození (autoinkompatibilitě a samčí sterilitě) bude pojednáno dále.

Ekonomický přenos pylu je důležitým faktorem cizosprašných rostlin. Proto se dnes na evoluci mechanismů opylení díváme z pohledu funkční efektivity procesu opylení, sestávající z koadaptivních vlastností květu a opylovačů.

Dynamika opylení kulturních rostlin je ovlivněna kromě těchto dvou základních faktorů (tj. specifitou květu a pylu a opylovači) ještě dalšími faktory, jak ukazuje následující schéma:



Specifická květů a pylu je výrazem přizpůsobení k různým opylovačům, ať už biotickým nebo abiotickým, a odráží se ve zvláštnostech struktury, barvy a vůně květu.

U krytosemenných rostlin je častější biotické opylení a abiotické je druhotné, zatímco u nahosemenných rostlin je tomu naopak. Ne všichni antofilní živočichové (tj. navštěvující květy) jsou efektivními opylovači. Základním biotickým opylovačem je hmyz (entomofilie). Z dalších můžeme jmenovat brouky (kantarofilie), vosy (vespofilie), mravence (formikofilie), včely (mellitofilie), motýly (psichofilie), noční motýly (palenofilie), ptáky (ornitofilie) a netopýry (chiropterofilie). Nejdůležitějšími opylovači vůbec jsou včely, které jsou specializované k přenosu pylu a jsou na pylu a nektaru z květů závislé. Za jeden výlet navštíví včela asi 100 květů a nese asi 20 mg pylu; jedna včela udělá za den 5 – 10 výletů; při jednom výletu navštěvuje květy pouze jednoho druhu; jedno včelstvo za rok sebere asi 2 kg pylu.

Z abiotických činitelů můžeme jmenovat samovolné vypadávání pylu, dále pohyb vzduchu (anemofilie, rostliny nazýváme větrosnubné) a pohyb vody (hydrofilie), který je při opylení rostlin poměrně vzácným jevem (dvoudomé vodní rostliny *Elodea* a *Vallisneria*).

Klimatické faktory opylení zahrnují vítr, déšť, vlhkost vzduchu, teplotu, intenzitu osvětlení a spektrální složení světla a hrají roli mechanismu ovlivňujícího kvetení, a tím i aktivitu přenosců pylu.

Doba kvetení, tj. doba, kdy jsou dostupné prašníky i blizna, podléhá denní periodicitě a může se krýt s dobou aktivity opylovačů (např. *Ceiba pentandra* opylovaná netopýry kvete pouze navečer mezi 17. a 18. hodinou). Květy většinou kulturních rostlin se otevírají brzy ráno a zůstávají otevřené různě dlouhou dobu (např. u brambor 8 hodin, u zelí 14 hodin). Přesná doba otevření květu závisí na vnějších podmínkách a na stádiu květu. Také celková délka života květů různých rostlin je různá (*Portulaca* – 1 den, mák, len, malina – 2 dny, klikva – 20 dnů, některé orchideje – i 80 dnů). Dalším důležitým faktorem opylení je doba otevření prašníku. Prašníky se mohou otevírat jednorázově (jako u většiny bobovitých) nebo se otevírají postupně v průběhu několika dní (jabloň, hrušeň, malina). Také denní doba vysypávání pylu je důležitá při opylení. U slunečnice, zelí, hořčice, aj. se hlavní masa pylu vysypává brzy ráno; u pšenice, kukuřice, jahodníku během dopoledne; u jabloně, jetele bílého po poledni a u kapoku pouze v noci.

Životnost pylu se pohybuje od několika hodin do více než jednoho roku. Obvykle si pyl uchovává životnost pouze několik hodin (kukuřice, pšenice, ječmen – do 24 hodin), u ovocných dřevin a vojtěšky několik dnů a u některých větrosnubných dřevin i přes rok. Delší životnost si pyl uchovává při nízké relativní vlhkosti (0 – 40%, i když nízká vlhkost je např. pro pyl trav nevhodná). Životnost pylu se také zvyšuje při nižších teplotách (4 až 5°C) v hermetických nádobách ve vakuu. Takto uměle lze životnost pylu zachovat více než jeden rok u řepy, kukuřice, vojtěšky, tabáku, brambor, hrachu a u jetele. Na vzduchu vysušený pyl a skladovaný při velmi nízkých teplotách (-10 až -35°C) vydrží bez poškození více než jeden rok (u rajčete, brambor, vinné révy, jabloně).

Podobně jako je variabilní životnost pylu různých rostlin, také životnost (vnímavost) blizen je různá a může trvat od několika hodin do jednoho měsíce (mnoho křížatých a tykvovitých – pouze několik hodin, jabloň, cibule – několik dnů, řepa – týden i více).

Dobrá znalost všech vyjmenovaných faktorů ovlivňujících opylení a následné oplození rostlin je velmi důležitá ve šlechtitelské praxi a v semenářství. K výrobě hybridních semen je zapotřebí navodit co nejpříznivější podmínky pro cizosprášení mezi rodičovskými partnery, na druhé straně v semenářství je zapotřebí zabezpečit odrůdu před nežádoucím znečištěním cizím pylem. K tomuto účelu se většinou kombinuje prostorová izolace s vysazováním ochranných pásů kolem odrůdy. Např. minimální izolační vzdálenost pro cukrovou kukuřici je 200 m od zdroje znečištění spolu se čtyřmi krajovými pásy z rostlin – donorů pylu, má-li pokusné pole plochu 4 ha a méně.

Příklady hospodářsky významných alogamních rostlin uvádí tabulka 2.

Tab. 2: Příklady hospodářsky významných alogamních nebo převážně alogamních rostlin.

Čeled'	Druh	% autogamie	Pozn. (přenosci pylu, modifikace květu)
<i>Chenopodiaceae</i>	<i>Beta vulgaris</i>	0	Vítr, protandrie, autokompatibilita + autoinkompatibilita
<i>Asteraceae</i>	<i>Carthamus tinctoria</i>	10 - 95	Včely, autokompatibilita
	<i>Helianthus annuus</i>	25 - 75	Protandrie, různá autoinkompatibilita
	<i>Chrysanthemum</i> sp.		Různý hmyz, autoinkompatibilita

	<i>Cichorium intybus</i>		Autoinkompatibilita
	<i>Helianthus tuberosus</i>		
<i>Convolvulaceae</i>	<i>Ipomea batatas</i>		Včely, protogynie, autoinkompatibilita
<i>Corylaceae</i>	<i>Corylus</i> sp.		Vítr, dichogamie, autoinkompatibilita
<i>Brassicaceae</i>	<i>Brassica</i> sp.		Včely, autoinkompatibilita, autokompatibilita
	<i>Raphanus sativus</i>	< 15	Včely, autoinkompatibilita, autokompatibilita
<i>Cucurbitaceae</i>	<i>Cucumis melo</i>	0 – 100	Včely, protandrie, autokompatibilita
	<i>Cucumis sativus</i>	30	Včely, protandrie, autokompatibilita
	<i>Cucurbita</i> sp.		Včely, autokompatibilita
<i>Fagaceae</i>	<i>Castanea</i> sp.		Hmyz, autoinkompatibilita
	<i>Quercus</i> sp.		Vítr, dichogamie
<i>Poaceae</i>	<i>Secale cereale</i>		Vítr, autoinkompatibilita
	<i>Zea mays</i>		Vítr
	<i>Agropyron</i> sp.		Vítr, autoinkompatibilita
	<i>Dactylis glomerata</i>		Autoinkompatibilita nebo autokompatibilita
	<i>Festuca elatior</i>		Fakultativně apomiktické, autoinkompatibilita nebo autokompatibilita
	<i>Lolium perenne</i>		Vítr, autoinkompatibilita
	<i>Phleum pratense</i>		Vítr, autoinkompatibilita
<i>Iridaceae</i>	<i>Freesia</i> sp.		Včely, autoinkompatibilita
	<i>Gladiolus</i> sp.		Včely, autokompatibilita
	<i>Iris</i> sp.		Včely, autokompatibilita
<i>Juglandaceae</i>	<i>Juglans regia</i>		Vítr, protandrie, autokompatibilita
<i>Lamiaceae</i>	<i>Mentha piperita</i>		Mouchy
	<i>Origanum vulgare</i>		Mouchy
	<i>Rosmarinum officinalis</i>		Včely
<i>Fabaceae</i>	<i>Phaseolus coccineus</i>	< 70	Včela medonosná a čmeláci, autokompatibilita
	<i>Lotus corniculatus</i>	< 10	Včela medonosná, autoinkompatibilita
	<i>Medicago sativa</i>	< 20	Včela medonosná, autoinkompatibilita a autokompatibilita

	<i>Trifolium hybridum</i>	< 10	Většina autoinkompatibilní
	<i>Trifolium pratense</i>	< 10	Většina autoinkompatibilní
	<i>Trifolium repens</i>	< 10	Většina autoinkompatibilní
<i>Liliaceae</i>	<i>Allium cepa</i>	7	Včely, protandrie, autokompatibilita
	<i>Lilium</i> sp.		Autoinkompatibilita
	<i>Tulipa</i> sp.		Většina autoinkompatibilní
<i>Pinaceae</i>	<i>Abies</i> sp.		Vítr
	<i>Larix</i> sp.		Vítr
	<i>Picea</i> sp.		Vítr, autokompatibilita
	<i>Pinus</i> sp.		Vítr
<i>Piperaceae</i>	<i>Piper nigrum</i>		Děšť, protogynie
<i>Rosaceae</i>	<i>Fragaria</i> sp.		Včely, autokompatibilita, někdy samčí sterilita
	<i>Prunus</i> sp.		Včely, autoinkompatibilita, někdy autokompatibilita
<i>Solanaceae</i>	<i>Atropa belladonna</i>		Dichogamní květy
	<i>Petunia hybrida</i>		Většinou autoinkompatibilní
<i>Daucaceae</i>	<i>Daucus carota</i>		Včely, protandrie, autokompatibilita

3.3 Zjištění způsobu opylení

Zjištění, zda je rostlina (odrůda, druh) cizosprašná nebo samosprašná, je poměrně jednoduché. Prvním krokem bývá obvykle studium struktury květu. Někdy, zjistí-li se, že rostlina je dvoudomá nebo dichogamní, je zřejmé, že převládajícím způsobem bude cizosprašnost. Podobně kleistogamie napovídá, že jde o druh samosprašný. Dalším krokem, je izolace jednotlivých rostlin a pozorování, zda se tvoří semena. Nenasazují-li se semena, je téměř jisté, že jde o druh cizosprašný. Ale ne vždy je tomu tak, neboť známe mnoho cizosprašných druhů (např. kukuřice), u kterých dochází při izolaci ve velkém stupni k samooplození. Z toho vyplývá, že zatímco cizosprašnost je poměrně snadné identifikovat, samosprašnost se zjišťuje obtížněji. Dobrým indikátorem samosprašnosti je vliv inbridingu. Jestliže inbriding probíhá bez nepříznivých vlivů, je druh pravděpodobně normálně samosprašný.

U většiny hospodářsky důležitých rostlin je základní způsob reprodukce dobře znám. Jak již bylo řečeno, je určen prostorovým, časovým a fyziologickým rozdělením pohlavních orgánů. Avšak i ekologické a jiné faktory mohou podstatným způsobem opylení modifikovat. Proto je důležité zjistit stupeň přirozeného cizosprašení u každého druhu v konkrétních podmínkách vnějšího prostředí.

3.4 Odhad stupně přirozeného cizosprášení

Před tím, než přistoupíme k vlastním metodám stanovení stupně přirozeného cizosprášení, je třeba předeslat, že z genetického hlediska má termín „cizosprášení“ smysl pouze tehdy, rozumí-li se jím křížení neshodných genotypů. To znamená, že cizosprášení květů v rámci jedné rostliny nebo opylení mezi rostlinami jednoho a téhož klonu (např. u ovocných dřevin) je z genetického hlediska ekvivalentní samoopylení. Termín „samoopylení“ se tedy musí rozšířit i na opylení mezi rostlinami uvnitř odrůdy. Stupeň geneticky významného cizosprášení, tj. alogamie, je funkcí (1) početních vztahů genotypů v populaci květů, (2) reprodukčního potenciálu květů různých genotypů a (3) efektivnosti přenosu pylu.

Také při samotném oplození mohou vznikat rozdíly v četnosti genů: pyl různých genotypů se může lišit rychlostí prorůstání a růstu pylové láčky, také vaječné buňky uložené blíž k blizně mohou být oplozené dříve a snadněji než ty, které jsou dál a také dozrávání semen v plodu nemusí být rovnoměrné.

Stupeň cizosprášení se často stanovuje podle četnosti geneticky markerovaných znaků v potomstvu. Odrůda, jako reálná populace, se může skládat z řady odlišných genotypů. Rozmnožuje-li se takováto odrůda semeny, můžeme očekávat rovnoměrné rozdělení genotypů po celém poli (přispívá k tomu pečlivé promíchání semen před výsevem). Odhad stupně cizosprášení bude různý podle toho, zda je hodnocení založeno na analýze potomstva jednotlivých květů, nebo jednotlivých rostlin, nebo určitých genotypů v populaci, či konečně na hodnocení celé populace. Kromě toho dostaneme různé výsledky u identických populací, avšak pěstovaných v různých podmínkách. Zvláště velké rozdíly mezi odhady můžeme očekávat u normálně samosprašných rostlin s velkým množstvím semen v jednom květu, u kterých cizosprášení, ke kterému dochází s nízkou četností, může způsobit rozdíly v potomstvu jednoho plodu. Vysoký stupeň cizosprášení můžeme pozorovat při tvorbě pouze malého počtu plodů, i když v průměru na populaci je tento stupeň mimořádně nízký.

Všechny metody odhadu stupně přirozeného cizosprášení předpokládají monogenní dědičnost a úplnou penetranci signálních znaků (markerů), stejnou životnost zygot i semen, stejné rozšiřování semen a stejnou životnost semenáčků. Za těchto předpokladů můžeme stupeň přirozeného cizosprášení stanovit na základě četnosti gamet a (nebo) zygot. Je známo, že v náhodně se křížící populaci odpovídají četnosti zygot Hardyho-Weinbergově rovnováze. Populaci s různým typem oplození můžeme pro zjednodušení podrozdělit na část s náhodným oplozením, nacházející se v Hardyho-Weinbergově rovnováze, a na část populace se samooplozením. V této subpopulaci se samooplozením závisí pravděpodobnost toho, že jedinec nese v daném genovém lokusu dvě alely od jednoho a téhož předka, na koeficientu inbridingu, F (tab. 3).

Koeficient inbridingu F a četnost cizosprášení λ jsou navzájem závislé podle výrazu:

$$\lambda = \frac{(1 - F)}{(1 + F)}$$

Tab. 3: Rozdělení částečně inbrední populace (D – dominantní homozygot, H – heterozygot, R – recesivní homozygot).

Zygoty		Náhodné oplození	Samooplození	Četnost genotypů v částečně inbrední populaci
četnost	Genotyp	$(1 - F)$	F	
D	AA	p^2	p	$(1-F)p^2 + Fq = p^2 + pqF$
H	Aa	$2pq$	-	$(1-F)(2pq) = 2pq - 2pqF$ (1)
R	aa	q^2	q	$(1-F)q^2 + Fq = q^2 + pqF$

$$p = D + \frac{1}{2}H$$

$$q = R + \frac{1}{2}H$$

Z rovnice (1) dosazením za p a q vypočítáme F :

$$F = \frac{H^2 - 2H + 4DR + 2DH + 2HR}{(2D + H)(H + 2R)} = \frac{H^2 - 2H + 4DR + 2DH + 2HR + H^2 - H^2}{(2D + H)(H + 2R)} =$$

$$\frac{H(2H - 2 + 2D + 2R) + 4DR - H^2}{(2D + H)(H + 2R)} = \frac{4DR - H^2}{(2D + H)(H + 2R)}$$

(Pozn.: $2H - 2 + 2D + 2R = 2(H + D + R) - 2 = 0$; $H + D + R = 1$)

Výpočtem F a dosazením do vzorce pro λ zjistíme odhad četnosti cizosprašení.

3.5 Význam způsobů opylení ve šlechtění rostlin

Poznání mechanismů opylení sehrálo důležitou úlohu při vypracování racionálních metod ve všech etapách šlechtění. Z hlediska šlechtitele můžeme zemědělské plodiny rozdělit na převážně samosprašné a převážně cizosprašné. U samosprašných druhů cizosprašení nepřesahuje 4%. Toto rozdělení má základní význam, neboť šlechtitelské metody aplikované na samosprašné druhy jsou značně odlišné od metod používaných u cizosprašných druhů rostlin.

Rostliny v populacích cizosprašných druhů jsou vysoce heterozygotní a vynucené samoopylení, tzv. **inbriding**, způsobuje téměř bez výjimky celkové snížení životnosti a jiné nepříznivé vlivy. Heterozygotnost je hlavním znakem komerčních odrůd těchto druhů, a proto musí být uchována v procesu šlechtění nebo obnovena jako konečný krok šlechtitelského programu.

Samosprašné druhy se naopak skládají obvykle ze směsi mnoha úzce příbuzných homozygotních linií, které, ačkoliv existují vedle sebe, zůstávají při reprodukci na sobě víceméně nezávislé. Jednotlivé rostliny v takovýchto populacích jsou většinou zdatní a výkonní homozygoti. Cílem většiny šlechtitelských programů je u těchto druhů čistá linie. Samosprašnost omezuje tvorbu nových genetických kombinací (nedochází k introdukci nových genů prostřednictvím hybridizace). Nové alely genů mohou vznikat pouze cestou

indukce mutace. Takové změny jsou omezeny pouze na jednotlivé linie nebo potomstvo mutantní rostliny.

Opakované samoopylení nemá za následek **inbrední depresi**, jako je tomu u cizosprašných druhů. Také nedochází k **autoinkompatibilitě**.

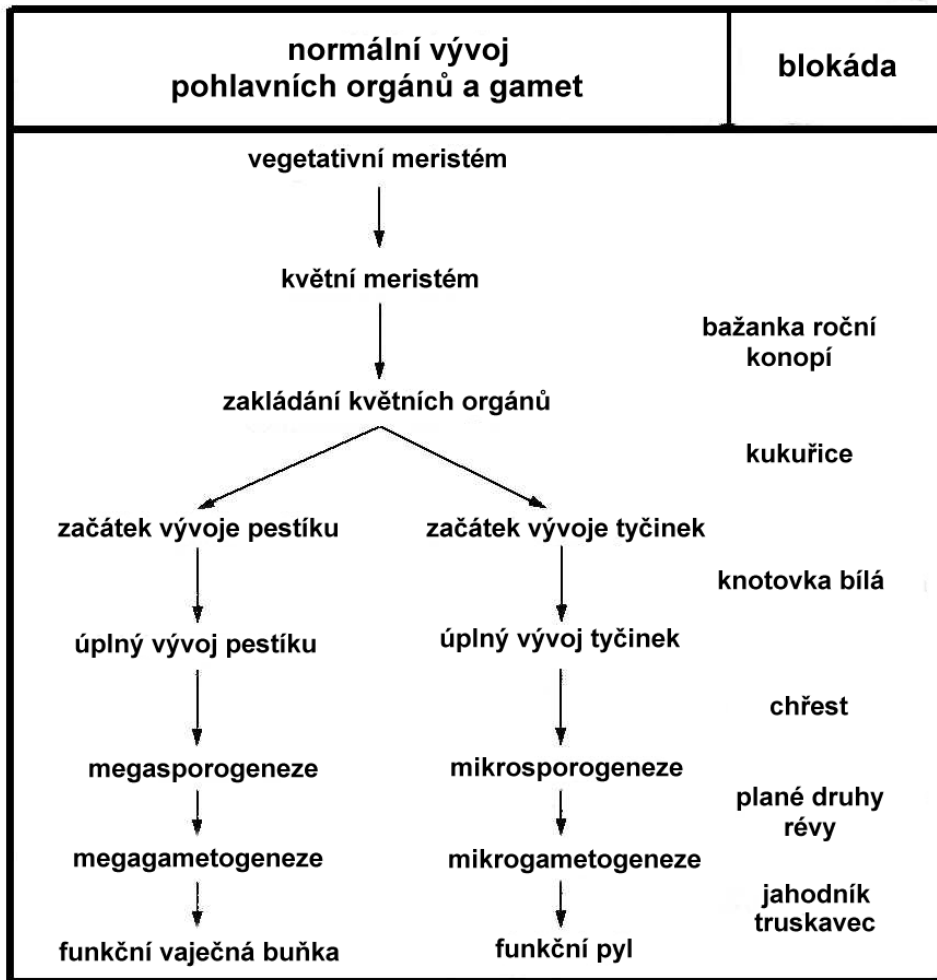
Volba šlechtitelských metod u určitého druhu je tedy řízena především způsobem rozmnožování. Jestliže se rostliny mohou rozmnožovat navíc i vegetativně, pak se mohou ve šlechtitelských programech aplikovat i další postupy. Reprodukční systém má vliv nejen na určení základního šlechtitelského programu, ale také na uplatnění specifických postupů. V moderním šlechtění to jsou především postupy při výrobě hybridních kombinací mezi určitými rodičovskými liniemi. V některých případech vegetativně se množících druhů, kdy je obtížné udržovat rodičovské genotypy, mohou být klony namnožené nepohlavní cestou použity jako rodiče při výrobě hybridních semen F₁. U jiných kultur, které se běžně pěstují pouze vegetativně (např. brambory), mohou mít mechanismy opylení význam právě jen v etapách šlechtění. Mají-li praktický význam reprodukční orgány rostlin rozmnožujících se nepohlavně (např. maliník, ovocné dřeviny), pak je opylení rozhodující zase v konečné etapě. Různých variant významu způsobu opylení ve šlechtění rostlin by se dalo uvést jistě mnohem více.

4. Determinace pohlaví u krytosemenných rostlin

Genetické založení pohlaví u rostlin bylo experimentálně prokázáno brzy po znovuobjevení Mendelových principů dědičnosti. Jedním z těch, kteří se o to zasloužili byl Carl Correns, který svoje závěry založil na výsledcích tří základních pokusů s křížením rostlin rodu *Bryonia*. V prvním případě křížil samičí rostliny *B. dioica* s jednodomými rostlinami *B. alba* a dostal 11 rostlin, které byly buď zcela samičí nebo samičí s několika brzy odumírajícími nebo nefunkčními tyčinkovými květy. Ve druhém pokusu křížil Correns samičí rostliny *B. dioica* se samčími rostlinami téhož druhu a získal 41 kvetoucích rostlin (21 samčích a 20 samičích). Ve třetím pokusu křížil *B. alba* se samičími květenstvími se samčími rostlinami *B. dioica* a získal 76 kvetoucích rostlin, polovinu samčích a polovinu samičích. Correns ještě tehdy neznal význam vnějších podmínek na projev znaku, proto některé výsledky nemohl spolehlivě vysvětlit. Jasně však poukázal na vztah mezi pohlavím a genotypem rostliny.

Objev pohlavních chromozomů u rostlin se datuje do roku 1923, kdy Blackburn, Kihara a Ono a nezávisle na nich Winge objevili heteromorfní bivalenty u *Silene latifolia* (*Melandrium album*), *Rumex acetosa* a *Humulus* sp. Poté byly pohlavní chromozomy objeveny u mnoha dalších dvoudomých rostlin. Přitom se však ukázalo, že ne všechny dvoudomé rostliny musí obsahovat tento heteromorfní bivalent.

Obr. 5: Jednotlivé fáze potlačení vývoje orgánů určitého pohlaví u dvoudomých rostlin.



Determinace pohlaví u krytosemenných rostlin je proces, který zajišťuje potlačení vývoje samčích nebo samičích orgánů v jednotlivých květech. V případě dvoudomých druhů dochází takto ke vzniku jedinců nesoucích pouze samčí nebo samičí květy. K potlačení vývoje orgánů opačného pohlaví dochází v různých fázích vývoje květu (obr. 5). Tento proces je ovlivněn geneticky; u některých druhů však může být ovlivněn také různými faktory vnějšího prostředí, jako je např. intenzita světla, délka dne, teplota a minerální výživa. Exogenní aplikace rostlinných hormonů také vede v některých případech k ovlivnění pohlaví květů. Žádná z těchto látek nemá shodný účinek u všech druhů s jednopohlavními květy.

Roku 1956 Hartmann formuloval tzv. „zákon potenciální oboupohlavnosti“, podle kterého nesou obě pohlaví veškerou genetickou informaci potřebnou k vytvoření pohlavních orgánů opačného pohlaví. Tento zákon odráží situaci u evolučně málo pokročilých typů determinace pohlaví, které jsou založeny na působení jednoho nebo několika genů řídicích pohlaví. U druhů s pohlavními chromozomy se však setkáváme s tendencí k akumulaci genů, které jsou výhodné pouze pro heterogametní pohlaví, na chromozomu Y. Může proto docházet k výjimkám z tohoto zákona, neboť u homogametního pohlaví nemusí být potom přítomny všechny geny potřebné pro vznik orgánů opačného pohlaví. U pohlaví heterogametního však platí tento zákon bez výjimek.

Obecná teorie genetické determinace pohlaví vychází z předpokladu, že geny zapojené do exprese pohlaví je možné rozdělit do dvou skupin. Početná je první skupina genů, které jsou přímo zapojeny do morfogeneze pestíků nebo tyčinek (angl. sex differentiation genes). Druhou skupinu tvoří geny, které řídí expresi genů první skupiny (angl. sex determination genes).

4.1 Determinace pohlaví u jednodomých druhů

Jedním z možných modelů pro výzkum determinace pohlaví u rostlin je kukuřice, která je nejprozkoumanějším jednodomým druhem, ale podařilo se u ní získat i jednopohlavné linie. U kukuřice standardního fenotypu jsou samčí květy soustředěny v terminální latě (angl. tassel) a květy samičí se zase vyskytují pouze v postranních palicích (angl. ear), jejichž pestíky se vyznačují dlouhými bliznami (angl. silk). U kukuřice byl proveden pokus o vytvoření umělého systému dvoudomosti založeného na působení recesivních mutantních alel *silkless1* (*sk1*) a *tasselseed2* (*ts2*). Přítomnost alely *sk1* v homozygotním stavu vede k potlačení vývoje pestíků samičích květů v postranních klasech a vzniká rostlina samčího fenotypu. Pokud je rostlina homozygotní pro alelu *ts2*, dochází u ní k přeměně všech samčích květů v latě v samičí, a proto opět vzniká jednopohlavná rostlina. K vytvoření stabilní dvoudomé populace mělo vést křížení rostlin genotypu *sk1 sk1, ts2 ts2* (předpokládaný samičí fenotyp) se samčími rostlinami genotypu *sk1 sk1, Ts2 ts2*, jež by dalo vznik samčím a samičím rostlinám v poměru 1 : 1. Lokusy *silkless1* a *tasselseed2* však spolu interagují, a proto se rostliny genotypu *sk1 sk1, ts2 ts2* vyznačovaly zcela neočekávaným fenotypem; v postranních palicích se u všech květů vyskytovaly pestíky a v koncovém květenství se kromě očekávaných samičích květů vyskytovaly také květy samčí a hermafroditní.

V současné době je již známo několik lokusů důležitých pro orgánově specifickou aborci, která je nezbytná pro vývin jednopohlavných květů u kukuřice. Dva lokusy zapojené do suprese tvorby pestíků v terminálním květenství byly identifikovány pomocí recesivních mutací *tasselseed* (*ts1* a *ts2*) a jeden lokus pomocí dominantní mutace *Tasselseed5* (*Ts5*). Genů, které se podílejí na řízení procesu aborce tyčinek je známo celkem sedm. Šest z nich jsou recesivní mutace: *dwarf* (*d1, d2, d3, d5*), *anther ear* (*an1*) a *silkless* (*sk1*). Jedna mutace je dominantní povahy *Dwarf8* (*D8*) a má vliv na porušení aborce tyčinek. V dalším výzkumu se ukázaly být velmi cenné rostliny recesivně homozygotní v lokusech *dwarf* (*d1, d2, d3, d5*), protože bylo zjištěno, že narušení funkce kteréhokoli z těchto lokusů vede k výraznému snížení obsahu giberelinů.

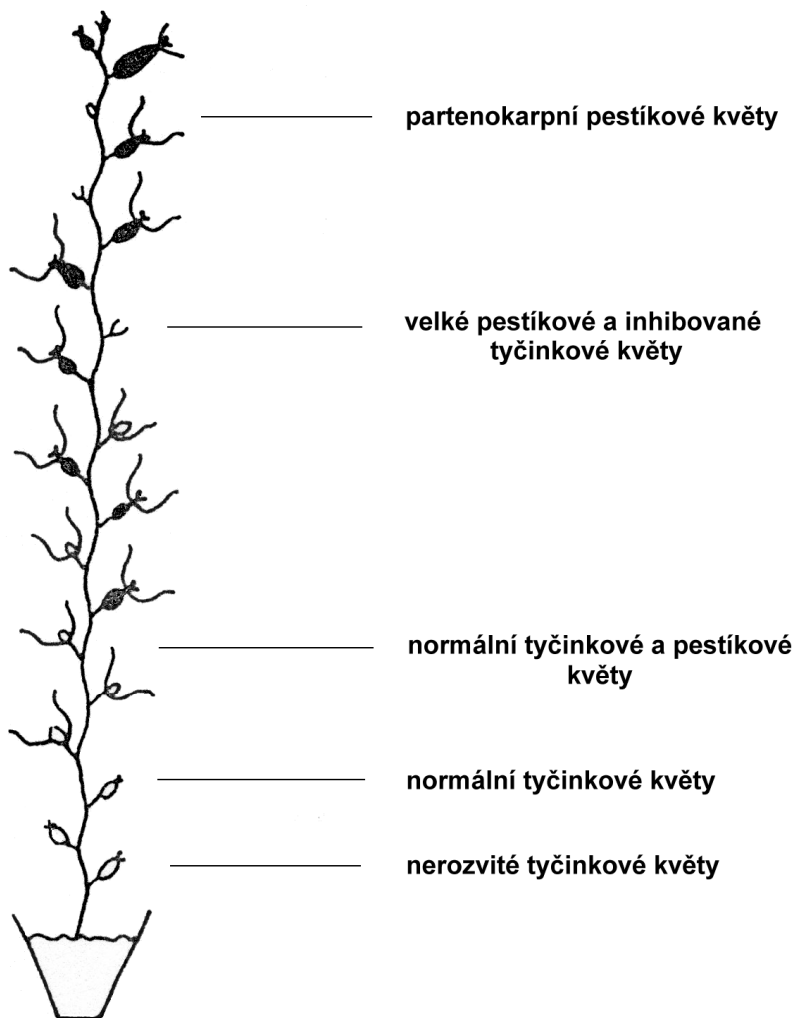
Ve studiu genetické determinace pohlaví se využívá několik modelových druhů, které zastupují různé typy determinace pohlaví. K perspektivním modelovým objektům patří kukuřice setá (*Zea mays*), bažanka roční (*Mercurialis annua*) a knotovka bílá (*Silene latifolia*).

Na základě studia vzájemných interakcí různých lokusů byl navržen model, podle kterého jsou v procesu determinace pohlaví u kukuřice rozhodující interakce mezi lokusy *TASSELSEED2*, *SILKLESS1* a hladinou giberelinů. Podle tohoto modelu standardní alela lokusu *Sk1* blokuje působení produktu genu *TASSELSEED2*, a tak vede k tvorbě pestíků v květech postranních klásků. V koncovém květenství je zase naopak působení genu *SILKLESS1* blokováno genem *TASSELSEED2*, a proto zde dochází k aborci pestíků. Aborce tyčinek v koncovém samičím klasu u homozygotů *ts2 ts2* je pravděpodobně důsledek antagonistického působení pestíků na tyčinky prostřednictvím blíže neurčeného feminizujícího faktoru, jakým by mohly být např. gibereliny.

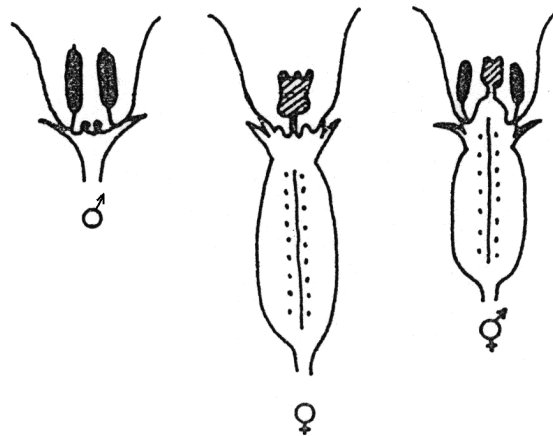
Gen *TASSELSEED2* již byl izolován pomocí inzerční mutagenese a bylo zjištěno, že předpokládaná sekvence aminokyselin proteinu, který je tímto genem kódován, vykazuje významnou podobnost se sekvencemi dehydrogenáz alkoholů s krátkými řetězci, především pak s hydroxysteroiddehydrogenázami. Vzhledem k tomu, že jsou steroidy strukturně podobné giberelinům, je pravděpodobnější účast produktu tohoto genu v metabolismu giberelinů. Prokázaná schopnost giberelinů feminizovat terminální květenství svědčí o tom, že produkt genu *TASSELSEED2* působí antagonisticky vůči feminizujícímu účinku giberelinů. Toto působení může být buď přímé, narušením syntézy giberelinů, nebo nepřímé, jestliže je snížení obsahu giberelinů důsledkem aborce pestíků. Pro tuto druhou variantu svědčí prokázaná lokalizace transkriptů genu *TASSELSEED2* v buňkách pestíků před programovanou buněčnou smrtí (apoptóza).

Typické zástupce jednodomých rostlin najdeme v čeledi *Cucurbitaceae*. Jeden z nejdůležitějších hospodářských druhů této čeledě je *Cucumis sativus* (dyně okurka). Snad u žádné jiné kultury nebyl prozkoumán projev pohlaví tak detailně, jako právě u okurky. Kromě toho je tento objekt modelovým systémem ke zkoumání morfogeneze vyšších rostlin. Proto také genetická kontrola jednodomosti může být vyložena na příkladu okurky.

Obr. 6: Schéma rozdělení květů různých typů na hlavním stonku *Cucurbita pepo* cv. Acorn.



Obr. 7: Typy květů u *Cucumis sativus*.



Rostliny okurky se vyznačují velkou různorodostí v projevu pohlaví (obr. 6). Květní poupata v raných fázích vývoje mají základy jak tyčinek, tak pestíků, avšak květy jsou většinou různopohlavné. Jednotlivé rostliny se vyznačují velkou variabilitou v rozmístění a počtu samčích a samičích květů. U jednodomých rostlin okurky je prakticky ve všech úžlabích listů buď několik samčích nebo jednotlivé (zřídka dva a více) samičí květy. Tendence k feminizaci je větší v akropetálním směru (podobně jako u *Cucurbita pepo*).

Některé odrůdy okurek mohou mít na rostlině kromě samčích květů i květy hermafroditní. Květy různého pohlaví se výrazně liší morfologicky (obr. 7).

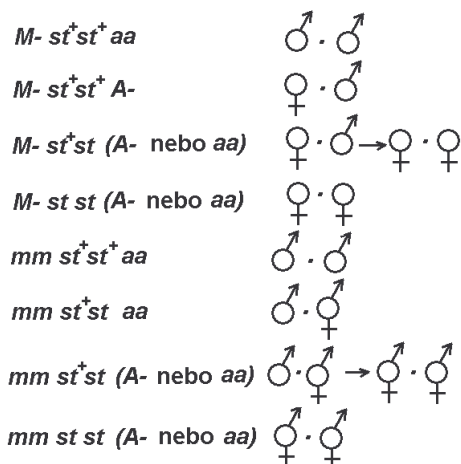
Determinace pohlaví u okurky se účastní tyto hlavní geny:

M/m kontroluje spouštěcí mechanismus v květním poupěti; v přítomnosti alely *M*, která je úplně dominantní, se tvoří pouze jednopohlavné květy;

st⁺/st kontroluje schopnost k vývinu pestíku; rostliny *st st* mají silnou potenci k tvorbě pestíku; alela *st* je částečně dominantní a fenotyp *st⁺ st* je pod silným vlivem vnějších podmínek a jiných genů, které kontrolují projev pohlaví (místo *st* se někdy používají symboly *acr* nebo *acr^F*);

A/a zvyšuje v přítomnosti *st⁺st⁺* samčí tendenci (je hypostatický k *st*); genotyp *M- st⁺st⁺* a alela *a* má pouze samčí květy (*a* je úplně recesivní).

Kombinace těchto tří hlavních genů zodpovědných za determinaci pohlaví mohou dát následující fenotypy:



Projev pohlaví u okurky může v některých případech podléhat i působení dalších genů.

Důležité je, že na projev pohlaví mají značný vliv i vnější podmínky, a to do té míry, že identické genotypy mohou dávat v různých podmínkách různé fenotypy a naopak různé genotypy mohou mít shodné fenotypy. Kromě klimatických podmínek (délka dne a teplota) mohou projev pohlaví ovlivňovat růstové regulátory a jiné chemické látky. Jedinou skupinou růstových regulátorů indukujících u okurky vývoj samčích květů (v těch úžlabích listů, kde se obvykle vyvíjejí květy samičí) jsou gibereliny. Jiné látky naopak indukují feminizaci (auxiny, acetylen, etylen). K získání partenokarpních plodů se používá morfaktin spolu s 2-chloretylfosfonovou kyselinou. Působením chemických látek lze tedy v současné době změnit pohlaví libovolným směrem.

Znalost genetického mechanismu a vnějších podmínek, které ovlivňují projev pohlaví, dovolují lépe organizovat zemědělskou produkci, zejména při výrobě hybridních semen F_1 . První ekonomicky významné hybridy okurek se podařilo získat asi před 30 lety (Galun a Peterson se spolupracovníky). Metoda jejich výroby se zakládala na křížení samičích homozygotních linií s normálními liniemi a zahrnovala dvě hlavní etapy:

- (1) Feminizace se do žádané rodičovské linie zavede křížením se samičí linií a zpětným křížením s jednou nebo několika šlechtitelsky cennými liniemi. Reprodukce samičí linie se zabezpečuje aplikací kyseliny giberelové. Otcovské linie se získávají obvyklou cestou.
- (2) Hybridní semena se vyrábějí na izolovaném pozemku, kde se střídá několik řádků samičích rostlin s jednou nebo dvěma řadami opylitele. Na pozemku hybridní produkce se zároveň množí semena opylitele (z řádků opylitele). Samičí linie se množí na jiném izolovaném pozemku, kde se na každou třetí nebo čtvrtou řadu aplikuje kyselina giberelová. Na obou pozemcích musí být zajištěno dostatečné množství opylovačů (včel).

Tato metoda má jeden velký nedostatek: hybridní rostliny jsou genotypu $st^+ st$ a mohou tedy mít různý projev pohlaví v souladu se svou genetickou výbavou a podmínkami prostředí. Jsou-li rostliny F_1 téměř zcela samičí, je na pozemek zapotřebí přidat opylitele (jsou-li naopak jednodomé, ztrácí se jedna z předností hybridu). I přes tento nedostatek se popsaná metoda výroby hybridních semen používá v mnoha zemích ve značném měřítku.

Úsilí šlechtitelů se v poslední době zaměřilo na zavedení genetické **partenokarpie** do vhodných odrůd. V tom případě by se pak mohlo využívat čistě samičích rostlin F_1 . Dosažení úplné feminizace hybridů F_1 spočívá v křížení dvou samičích linií, z nichž jedna se ovlivňuje kyselinou giberelovou, aby mohla na pozemku hybridní produkce sloužit jako opylitel. Tento postup je však nákladný vzhledem k udržování rodičovských linií a k poměrně velkému množství potřebné kyseliny giberelové.

Další metoda je založena na využití hermafroditní linie jako opylitele na produkční ploše. Tzn., že obě rodičovské linie mají genotyp $st st$, avšak jedna z nich má hermafroditní květy ($mm stst$) a může tedy sloužit jako opylitel a zároveň může být množena bez působení kyseliny giberelové. Tato metoda byla navržena několika autory, zatím se však při výrobě hybridních semen u okurky ve větším měřítku nepoužívá.

4.2 Systémy dvoudomosti založené na jednotlivých lokusech

Dvoudomost se vyskytuje v rostlinné říši asi dvakrát méně než jednodomost. Zcela dvoudomých je pouze asi 5% čeledí a 75% čeledí obsahuje některé dvoudomé druhy.

Pozornost byla dosud soustředěna převážně na druhy s pohlavními chromozomy, a proto jsou v současné době známy pouze dva druhy, u kterých je vznik samčích a samičích rostlin řízen jednotlivými lokusy: tykvice stříkavá (*Ecballium elaterium*) a bažanka roční (*Mercurialis annua*).

Typickým zástupcem této skupiny je druh tykvice stříkavá z čeledě tykvovitých (*Cucurbitaceae*), u které o expresi pohlaví rozhoduje přítomnost tří druhů alel (a^D , a^+ , a^d) v lokusu určujícím pohlaví. Alela a^D je dominantní vůči alele a^+ i alele a^d , její přítomnost vede u rostlin k samčímu fenotypu. Pokud se uplatní alela a^+ , která je recesivní vzhledem k alele a^D a dominantní vůči alele a^d , vzniká rostlina jednodomá. Vznik samičích rostlin je podmíněn přítomností alely a^d v homozygotním stavu.

4.3 Pohlaví řízené více lokusy

Morfogeneze tyčinek a pestíků je determinována větším počtem genů. U oboupohlavných rostlin jsou všechny geny potřebné k tvorbě obou typů květních orgánů přítomné a funkční. V procesu diferenciaci (tj. při vývoji tyčinek nebo pestíků) jsou tyto geny různě exprimovány. Ztráta formy nebo funkce může být pak způsobena potlačením exprese příslušného genu nebo jeho nepřítomností.

U dvoudomých rostlin vzniknou při křížení mezi samičími a samčími rostlinami zase buď samičí nebo samčí rostliny. Za předpokladu, že u obou pohlaví jsou přítomné jak geny zodpovědné za tvorbu tyčinek (A , B , C), tak geny pro vznik pestíků (D , E , F), pouze jejich aktivita je různá, odpovídá následující schéma:

$$Mm \begin{bmatrix} AA & BB & CC \\ DD & EE & FF \end{bmatrix} \text{♂}$$

$$mm \begin{bmatrix} AA & BB & CC \\ DD & EE & FF \end{bmatrix} \text{♀}$$

Je vidět, že klíčovou roli hraje alelový pár M/m : mm podmiňuje expresi pouze těch genů, které jsou zodpovědné za tvorbu pestíků, Mm pouze za tvorbu tyčinek. Podle tohoto modelu může být diferenciaci tyčinek a pestíků podmíněna neomezeným počtem genů, avšak determinace pohlaví je kontrolována pouze jedním lokusem působícím jako jakýsi spouštěcí mechanismus (angl. trigger).

U bažanky roční je pohlaví determinováno třemi lokusy A/a , B_1/b_1 a B_2/b_2 , které nevykazují genetickou vazbu. Pro vývoj samčího pohlaví je nutná přítomnost dominantní alely lokusu A/a a navíc alespoň v jednom z lokusů B . Dominantní alela lokusu B_1/b_1 má silnější maskulinizační efekt než alela B_2 . Zároveň se samčí a samičí rostliny vyznačují rozdílným obsahem rostlinných hormonů. Cytokininový hormon trans-zeatin je přítomen pouze u samičích rostlin, příbuzný cytokininový hormon trans-zeatin mononukleoid se vyskytuje pouze u samčích rostlin. Expres pohlaví může být u jednoho druhu ovlivněna rostlinnými hormony v souladu s výše uvedenými rozdíly. Auxiny mají maskulinizující a cytokininy feminizující vliv.

Vícelokusovému modelu odpovídá experimentální navození dvoudomosti u kukuřice. U kukuřice bylo nalezeno mnoho mutantů, u kterých jsou potlačena samičí květenství (rostliny silkless) nebo změněna samčí květenství – laty tak, že místo nich se tvoří pestíkové květenství (tzv. tassel seed).

Alelový pár *Ts2*, *ts2* můžeme v soulase s předchozím modelem považovat za spouštěcí mechanismus (trigger). Kromě genů *Ts2/ts2* jsou ostatní geny determinující vývoj pohlavních orgánů pro obě pohlaví společné a homozygotní a je tedy lhostejné, kde jsou lokalizovány (rekombinace je neúčinná). V tomto modelu tvoří samčí rostliny vždy dva druhy gamet, zatímco samičí rostliny pouze jeden druh.

Umělá dvoudomost u kukuřice byla také navozena pomocí jiné kombinace genů. Gen *ba* (*barren stalk*) je recesivní, lokalizovaný na III. chromozomu a genotyp *ba ba* tvoří na rostlinách pouze laty. Podobně jako v předchozím případě budou rostliny *ba ba ts2 ts2* samičí a *ba ba Ts2 ts2* samčí. Podobně jako gen *Ts2/ts2* může působit i jiný gen *Ts3/ts3*, v tomto případě však budou heterogametní rostliny samičí (*ba ba Ts3 ts3*). I když tyto systémy u *Zea mays* jsou velmi známé a často se uvádějí jako příklady umělé dvoudomosti, v některých případech se ukazuje tento systém složitější.

Jiný, složitější systém umělé dvoudomosti byl nalezen u *Rubus idaeus*. Předpokládá supresorové geny a vazbu mezi geny. Při determinaci pohlaví u normálně hermafroditního druhu *R. idaeus* působí dva geny: jeden potlačuje diferenciaci tyčinek (*M/m*) a druhý diferenciaci pestíků (*F/f*). Přitom samičí supresor je dominantní nad samčím supresorem. Tzn., že genotypy *FF MM*, *Ff Mm* a *FF Mm* budou samčí rostliny a genotyp *ff mm* samičí. Mezi oběma geny existuje navíc silná vazba. V tomto případě křížení ♀ *fm fm* x ♂ *FM fm* dá pouze rodičovské typy, což odpovídá systému dvoudomosti u *R. idaeus*.

Popsaný model se může zdát složitý, představuje však obecný princip pohlavního dimorfismu u rostlin. Jiným způsobem zábrany crossing-overu mezi dvěma protichůdnými supresorovými geny je mechanická bariéra na chromozomové úrovni, tj. chromozomová aberace.

4.4 Systémy determinace pohlaví u rostlin s pohlavními chromozomy

Pohlavní dimorfismus založený na supresorových genech se bude nejefektivněji projevovat při vazbě těchto genů. To vedlo ke vzniku pohlavních heteromorfních chromozomů, které se zřejmě vyvíjely v pozdějších stadiích evoluce a pouze u těch druhů, u kterých existovala dvoudomost. U mnohých dvoudomých druhů je heteromorfismus pohlavních chromozomů morfologicky vyjádřen slabě a může být cytologicky odhalen pouze v určitých fázích meiózy. Navíc se stupeň tohoto dimorfismu může i u velmi blízkých dvoudomých druhů značně lišit, což často vedlo k nejednotným experimentálním závěrům. V současné době byl dimorfismus pohlavních chromozomů bezpečně prokázán u 13 druhů rostlin ze tří rodů (někteří autoři uvádějí 70 druhů z 24 rodů).

Nejjednodušším případem dimorfismu chromozomů je systém X/Y. Tyto pohlavní chromozomy musí obsahovat alespoň dva odlišné segmenty: jeden homologní, který umožňuje synapsi v meióze a druhý heterologní. Složitější systémy zahrnují několik chromozomů X a Y. Zvláštním případem je systém X/0, jehož existence byla zjištěna pouze u tří druhů rostlin patřících k rodu *Dioscorea*, avšak některými autory nebyla potvrzena.

V tab. 4 jsou uvedeny druhy rostlin s heterologními pohlavními chromozomy a je z ní zřejmé, že v převážné většině případů jsou heteromorfní chromozomy u samčího pohlaví. Pouze u *Fragaria elatior* je heteromorfní samičí pohlaví. V rodu *Fragaria* se vyskytuje dvoudomost pouze na polyploidní úrovni (*F. orientalis* – 4x, *F. elatior* – 6x, *F. virginiana*, *F. grandiflora* – 8x).

Tab. 4: Druhy rostlin s heterologními pohlavními chromozomy.

Druh	Pohlavní chromozomy	
	♀	♂
<i>Cannabis sativa</i>	XX	XY
<i>Fragaria elatior</i>	XY	XX
<i>Humulus lupulus</i>	XX	XY
<i>H. lupulus</i> var. <i>cordifolius</i>	X ₁ X ₁ X ₂ X ₂	X ₁ Y ₁ X ₂ Y ₂
<i>H. japonicus</i>	XX	XY ₁ Y ₂
<i>Rumex angiocarpus</i>	XX	XY
<i>R. tenuifolius</i>	(XX)XX	(XX)XX
<i>R. acetosa</i>	XX	XY/Y ₂
<i>R. paucifolius</i>	XX	XY
<i>Silene latifolia</i>	XX	XY
<i>Melandrium rubrum</i>	XX	XY
<i>Populus</i> sp.	XX	XY
<i>Urtica dioica</i>	XX	XY
<i>Spinacia oleracea</i>	XX	XY nebo YY

U rostlin s pohlavními chromozomy jsou zpravidla uváděny základní typy determinace pohlaví, které jsou reprezentovány dvěma modelovými objekty: knotovkou bílou (*Silene latifolia*) a šťovíkem kyselým (*Rumex acetosa*). Nejvíce pozornosti bylo dosud věnováno druhům, které se vyznačují přítomností heteromorfních pohlavních chromozomů (tab. 4.6).

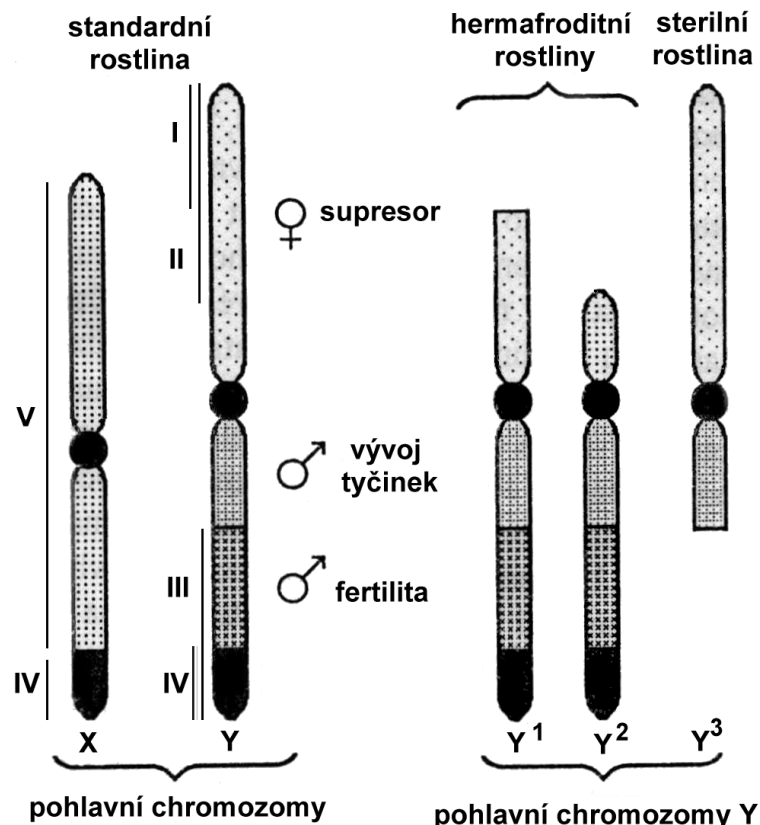
Typ s aktivní úlohou chromozomu Y – *Silene latifolia*

U *S. latifolia* uskutečnil už Correns ve 20. letech technicky velmi jednoduché pokusy ke zjištění, které pohlaví je heterogametní. Tyto pokusy byly založeny na předpokladu, že heterogametní pohlaví produkuje dva druhy pylu, u nichž existuje konkurence. Ta se projeví při opylení dostatečným množstvím pylu tak, že v potomstvu vzniká více samičích rostlin než samčích. Naopak při opylení malým množstvím pylu se konkurence neuplatní a poměr pohlaví je zhruba 1:1. Podobné jednoduché pokusy byly založeny na rozdílném přežívání pylových zrn. Knotovka bílá má systém determinace pohlaví založený na aktivním působení chromozomu Y (samci se vyznačují konstitucí AAXY a samice AAXX), který obsahuje geny důležité pro tvorbu tyčinek a gen nebo genový komplex suprimující expresi samičího pohlaví. Chromozomy X a Y se u knotovky bílé navíc významně liší a exprese pohlaví nepodléhá vlivům prostředí. Kromě knotovky bílé a její příbuzné knotovky červené se tímto typem určení pohlaví vyznačují i některé jiné druhy z různých čeledí: chřest (*Asparagus officinalis*), plané druhy révy (*Coccinia indica*), šťovík menší (*Rumex acetosella*) a pravděpodobně i mnoho dalších dosud neprozkoumaných druhů s heteromorfními, případně i homomorfními pohlavními chromozomy. Chřest se vyznačuje homomorfními pohlavními chromozomy. Také funkční odlišnost mezi chromozomem X a Y není u tohoto druhu tak výrazná jako u

dvoudomých druhů knotovek a je tedy možno získat i tzv. supersamce, kteří mají genetickou konstituci AAYY. Zatímco samičí rostliny nesou pouze rudimenty tyčinek, nejsou u samčích rostlin pestíky zcela zakrnělé a vykazují značnou variabilitu. Také tento fakt svědčí o menší evoluční pokročilosti systému determinace pohlaví u tohoto druhu a pravděpodobném vzniku dvoudomosti prostřednictvím gynodioecie. Dosavadní studie se zde zaměřovaly spíše na hledání pohlavně specifických rozdílů na úrovni proteinů. Z obecně genetického hlediska je zjevná podobnost determinace pohlaví u knotovky a typu savčího. Oba tyto systémy jsou založeny na aktivní úloze chromozomu Y, který nese geny potlačující expresi samičího pohlaví. Vlastní biochemické mechanismy, které realizují expresi pohlaví, jsou však zásadně odlišné i vlivem celkově odlišného metabolismu rostlin a savců.

Studium rostlin s aberantními chromozomy, které prováděl Westergaard, ukázalo na různý význam jednotlivých segmentů chromozomu Y (obr. 8): segment I potlačuje vývoj samičích orgánů, avšak nepřekáží vývoji samčího pohlaví (rostliny XY^1 mají květy se ♀ i ♂ orgány). Segmenty III a IV nepotlačují vývoj samičích orgánů, mají však vliv na konec etapy diferenciace prašníků (rostliny XY^3 jsou samčí a pylově sterilní). Centrální segment II obsahuje geny, které kontrolují počáteční etapy tvorby prašníku. Chromozom Y je částečně homologní s chromozomem X (segment IV). Zbývající nehomologní část chromozomu X (segment V) obsahuje determinanty samičího pohlaví. Y^1 , Y^2 a Y^3 jsou skupiny rostlin z určité populace, které nesou delece různého rozsahu a polohy. Na základě hermafroditního fenotypu rostlin s chromozomem Y^1 a Y^2 bylo zjištěno, že diferenciální rameno chromozomu Y nese samičí supresor. Jelikož rostliny, které diferenciální rameno zcela postrádaly (typ Y^2), tvořily normální prašníky, bylo možné konstatovat, že geny nezbytné pro tvorbu tyčinek (tzv. male promoter) leží v rameni částečně homologním s chromozomem X. V distální části homologního ramene chromozomu Y Westergaard dokázal přítomnost genů důležitých pro samčí fertilitu na základě fenotypu rostliny typu Y^3 .

Obr. 8: Schematické znázornění normálních chromozomů X a Y u *Silene latifolia* a experimentálně získaných aberantních chromozomů Y.



U *S. latifolia* se sleduje možný vliv metylace DNA při determinaci pohlaví, protože byla pozorována hypermetylace jednoho nebo dvou chromozomů X. Nabízí se domněnka, že u rostlin by mohl existovat mechanismus zajišťující kompenzaci funkčních alel uložených v pohlavních chromozomech X genetickou inaktivací jednoho nebo dvou chromozomů X u samičích rostlin a to metylací. Podobně je tomu u homogametického pohlaví savčího typu (tzv. lyonizace).

Podobně jako u *S. latifolia* je určeno pohlaví u *R. acetosella*, který však obsahuje homomorfní pohlavní chromozomy, označované jako S^F a S^m . Chromozom S^m hraje rozhodující úlohu v determinaci pohlaví tím, že inhibuje samičí potenci lokalizovanou v chromozomu S^F . Předpokládá se, že celkově je pohlaví kontrolováno několika málo geny s velkým účinkem a několika geny s malým účinkem lokalizovanými na uvedených chromozomech S^F a S^m . Autozomy se nepodílejí na determinaci pohlaví.

Typ s omezenou rolí chromozomu Y – Rumex acetosa

U druhů příbuzných šťovíku kyselému (*Rumex acetosa*) rozhoduje o expresi pohlaví poměr chromozomů X a sad autozomů. Tento pohlavní index je u samičích rostlin 1,0 ($2A + XX$) a u samčích rostlin 0,5 ($2A + XY_1Y_2$). V pokusech s polyploidy bylo zjištěno, že rostliny s poměrem 0,5 a menším, např. $3A + XY_1Y_2$ byly samčí, zatímco rostliny s poměrem 1,0 a vyšším, např. $3A + XXXX$ byly samičí. Rostliny s poměrem od 0,5 do 1,0 zaujímají střední postavení (oboupohlavné rostliny s karyotypy $3A + XXY$ a $3A + XXYY$ mají pohlavní index 0,67).

Vývoj tyčinek není závislý na přítomnosti chromozomu Y. Expres pohlaví je velmi stabilní. Ztráta role chromozomu Y se projevuje jeho značným polymorfismem v populacích rostlin. U samotného šťovíku kyselého jsou dokonce přítomny v buňkách samčích rostlin současně s chromozomem X také dva chromozomy Y, které vykazují opět značnou variabilitu. Chmel japonský (*Humulus japonicus*) se podobně jako šťovík kyselý vyznačuje přítomností dvou chromozomů Y v buňkách. Systém determinace pohlaví u typu šťovík je z obecně genetického hlediska podobný typu *Drosophila*, neboť ani zde nerozhoduje o expresi daného pohlaví přítomnost či nepřítomnost chromozomu Y, ale poměr počtu chromozomů X a sad autozomů.

Typ s heterogametním samičím pohlavím

Heterogametnost samičích rostlin byla dosud popsána pouze u planých polyploidních druhů jahodníků a u silenky ušnice (*Silene otites*). U silenky ušnice to bylo prokázáno křížením uměle získaných polyploidních samčích a samičích rostlin s diploidními rostlinami. Pokud byla samičí rostlina tetraploidní, tedy konstituce AAAAXXYY, vyskytovaly se v potomstvu takřka výhradně rostliny samičí, neboť gamety XX a YY se tvoří pouze výjimečně a převládají gamety XY. Tento typ připomíná systém determinace pohlaví u ptáků, neboť i zde je heterogametním pohlavím pohlaví samičí.