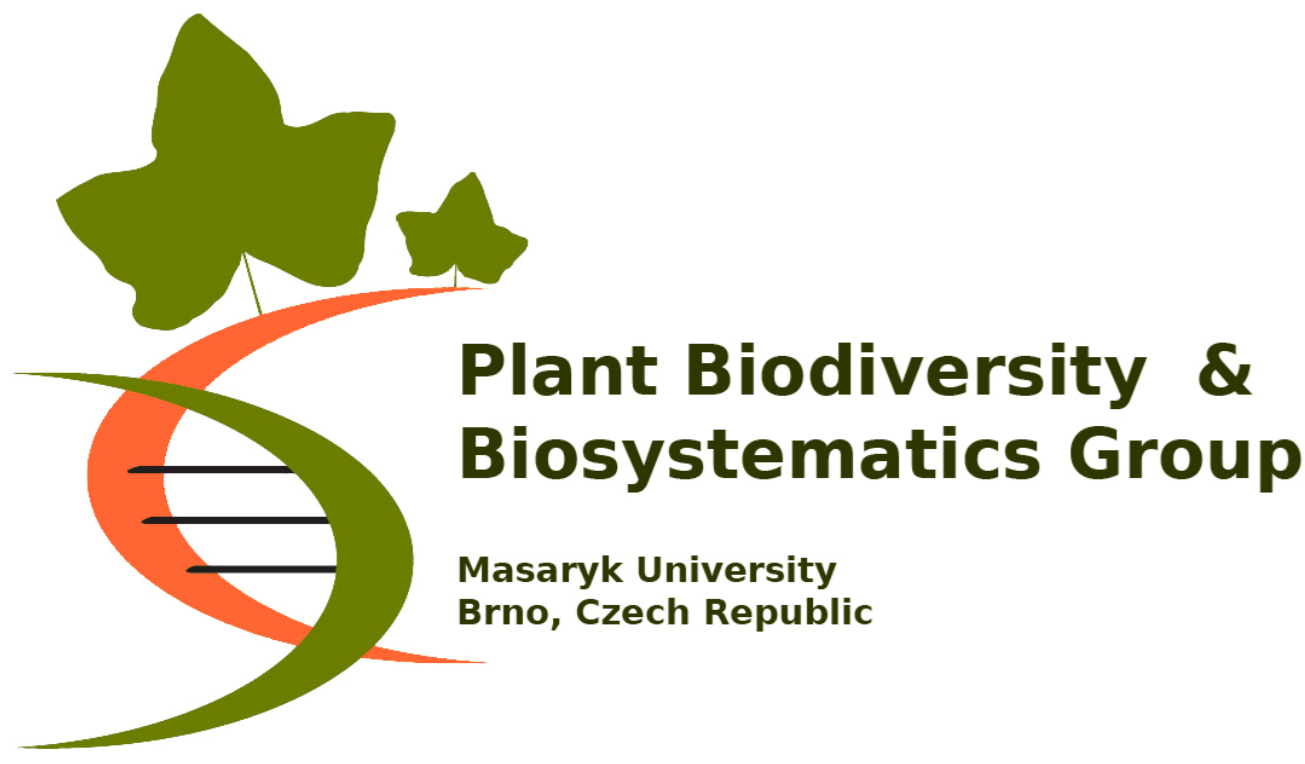


# Velikost genomu, AT/GC genomový poměr a délka průduchů u ostřic



Ivana Hralová & Petr Bureš  
Ústav botaniky a zoologie, Masarykova univerzita, Brno

## Ostřice (*Carex*)

jsou jedním z druhově nejbohatších rodů vůbec, zahrnují okolo 2000 druhů, což je zhruba polovina všech druhů v čeledi *Cyperaceae*. Více jak sto let jsou ostřice zkoumány z morfologického a zejména karyologického hlediska a vyznačují se několika karyologickými zvláštnostmi s dalekosáhlými důsledky. Mají chromozomy postrádající centromeru, kinetochor je tedy rozprostřen po celé délce chromozomu (tzv. holocentrické chromozomy). Další neobvyklostí je mikrosporogeneze se 3 abortovanými a jediným zralým pylovým zrnem. S tím je spojený velmi častý výskyt fúzí a rozpadů chromozomů jakožto hlavního způsobu karyotypické evoluce rodu a na druhé straně nízká frekvence polyploidních událostí. Důsledkem je velká variabilita v počtu chromozomů mezi druhy i v rámci druhů, která může být jedním z motorů evoluce ostřic.

Rozsah hodnot, variabilita a potažmo evoluce velikosti genomu a AT/GC genomového poměru jsou naproti tomu téměř neznámé.

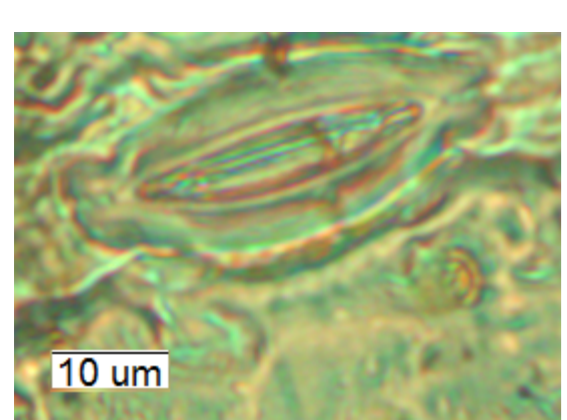
## Materiál a metody

Rostliny byly sbírány v průběhu let 2006-2009 v terénu i z botanických zahrad, celkem 159 druhů. Velikost genomu a zastoupení AT bazí v DNA byly změřeny průtokovou cytometrií two-step metodou s barvami propidium jodid a DAPI, standardem bylo *Lycopersicon esculentum* cv. 'Stupické polní tyčkové rané'. Pro vyjádření ekologických nároků druhů jsme využili ve fytoecologii často používané Ellenbergovy indikační hodnoty (EIH), délky průduchů jsme změřili z lakových otisků epidermis. ITS sekvence použité pro tvorbu stromu pocházejí z databáze NCBI GenBank (105 ostřic a 2 outgroupové druhy), fylogenetický strom byl sestaven Bayesiánskou metodou algoritmem Monte-Carlo Markovových řetězců (viz prezentovaný strom, čísla pod větvemi označují míru spolehlivosti, tzv. posterior probabilities, vyznačeny jsou některé sekce morfologického systému). Získaný strom jsme využili k testování vztahů analýzou fylogenetických kontrastů a k sledování prevalence fylogenetického signálu studovaných znaků.

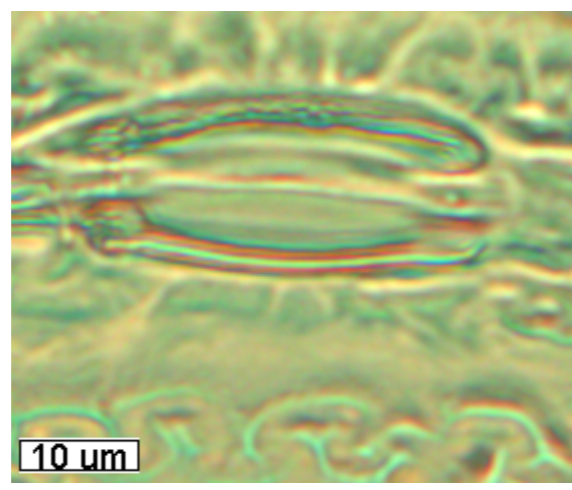
## AT/GC genomový poměr

Obecně se soudí, že jednoděložné rostliny mají vysoký obsah GC bazí. Pro čeleď *Poaceae* toto naprosto platí, mají jedny z nejvyšších obsahů GC bazí u rostlin. Ostřice a celé *Cyperaceae*, ač jsou řazeny do stejného řádu *Poales*, se od trav liší jak menšími genomy, tak přítomností holokinetických chromozomů. Jak jsme zjistili, odlišují se i v obsahu GC bazí, který je nižší než u trav a tedy se více blíží obsahům běžným u dvouděložných rostlin.

Pro rozdíly v obsahu GC bazí mezi podrody a v rámci nižších taxonomických skupin platí to samé jako pro velikost genomu.



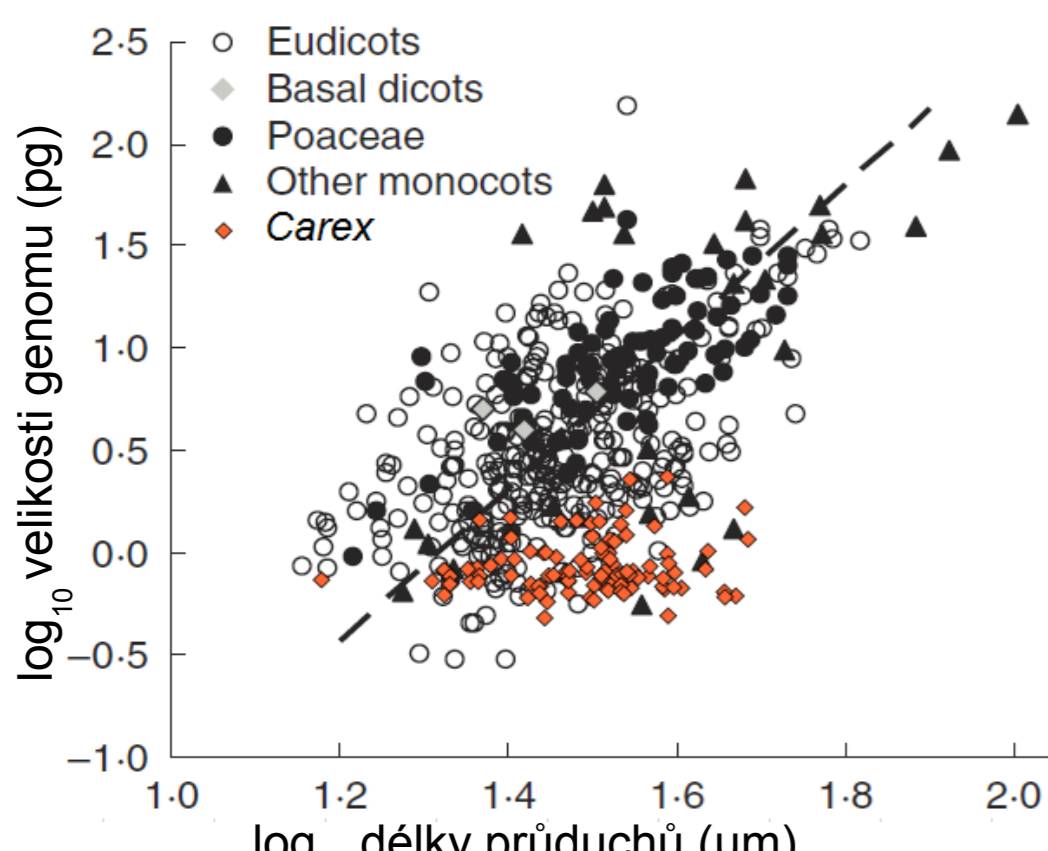
*C. vaginata* 0,74 pg



*C. montana* 0,34 pg

## Délka průduchů

Silný vztah mezi velikostí genomu a délkou průduchů (nebo velikostí buněk) byl dokumentován několika nedávnými studiemi u vyšších rostlin a dalších skupin organismů (Beaulieu *et al.* 2008 a další). Existence tohoto vztahu napříč živými organismy je jedním ze stavebních kamenů nukleoskeletární teorie (Cavalier-Smith 2005), podle které sice není přímý příčinný vztah mezi velikostí genomu a velikostí buněk, ale jejich nepřímá provázanost je nevyhnutelná z důvodu cytoskeletární stavby a ekonomie provozu proteosyntetického aparátu buněk.

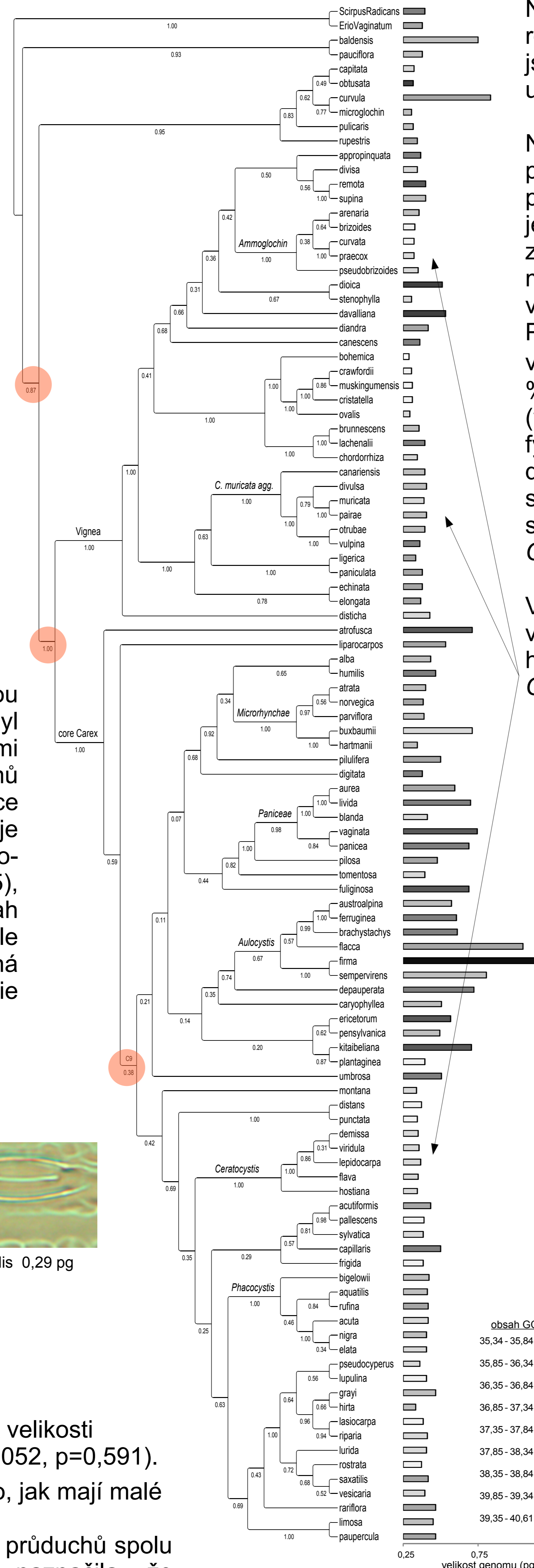


Obr. 2. Bodový graf délky průduchů a velikosti genomu u krytosemenných rostlin. Převzato z Hodgson *et al.* (2010) a upraveno.

Navzdory těmto očekáváním jsme závislost velikosti genomu a délky průduchů nenalezli ( $R_{Sp}=0,052$ ,  $p=0,591$ ).

Ostřice tedy mají příliš velké průduchy na to, jak mají malé genomy, a naopak (Obr. 2).

Absence fylogenetického signálu pro délku průduchů spolu s analýzami environmentálních faktorů naznačila, že velikost průduchů je podmíněna nejspíše komplexním vlivem prostředí.



## Velikost genomu

Námi studované ostřice mají malé genomy, jsou při dolní hranici rozsahu hodnot krytosemenných rostlin. Nejmenší velikost genomu jsme našli u slanomilné *C. secalina* (0,24 pg), největší pak u italského poddruhu *C. flacca* subsp. *serrulata* (1,64 pg).

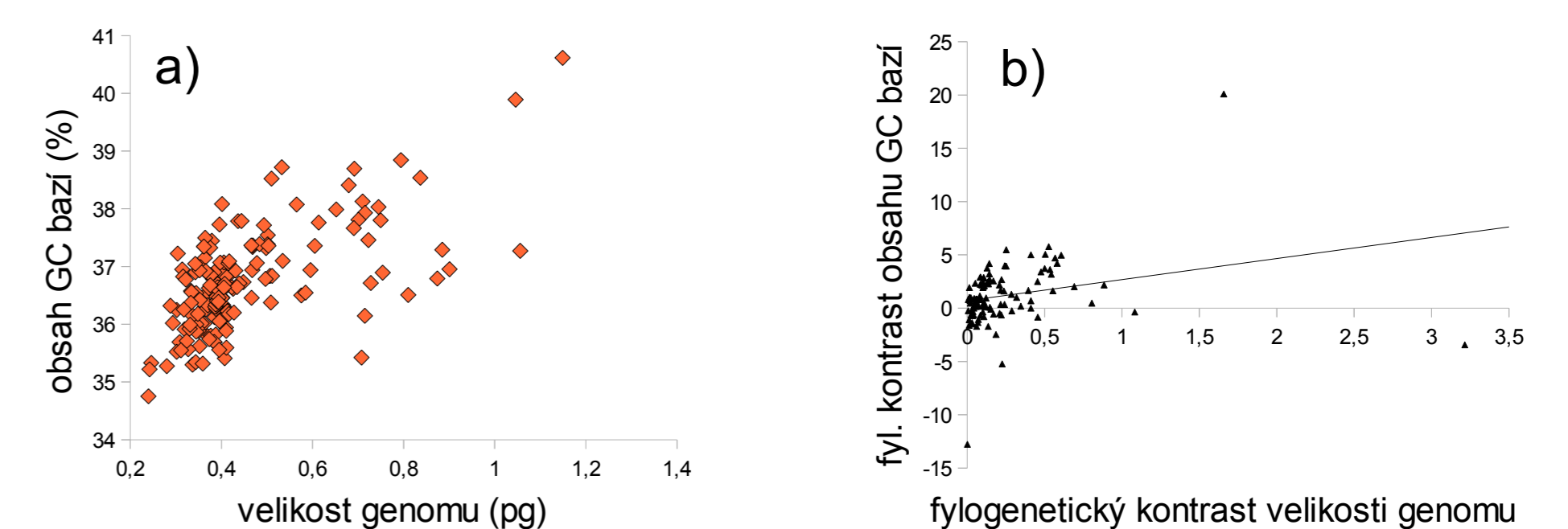
Nalezli jsme rozdíly ve velikosti genomu mezi podrodem *Vignea* a podrodem *Carex*. Podrod *Vignea*, stejnoklasé ostřice, je morfologicky poměrně homogenní, ve všech molekulárně-genetických studiích se jeví jako velmi dobře vylíčená skupina a je obecně považována za monofyletický. Podrod *Carex*, různoklasé ostřice, je naproti tomu mnohem diverzifikovanější, morfologicky variabilnější a jeho vymezení a monofyletičnost jsou zpochybňované a nejasné. Podobný obraz podává i velikost genomu – podrod *Vignea* je méně variabilní než podrod *Carex* ( $CV_{subg. Carex} = 41\%$ ,  $CV_{subg. Vignea} = 20.4\%$ ), což ilustruje namapování těchto hodnot na fylogenetický strom (viz vlevo). Červeně označené jsou uzly, které analýza fylogenetických kontrastů označila za ty, které nejvíce přispívají k dnešní variabilitě velikosti genomu. Jsou to uzly hluboko uvnitř stromu, které oddělují oba výše zmíněné podrody od bazálních skupin ostřic, oba podrody od sebe a dva velké klady uvnitř podrodu *Carex* vymezeného jako klad core *Carex*.

Velikost genomu má taxonomický význam i na nižších úrovních, v sekcích a příbuzenských skupinách, jejichž členové mívají obdobné hodnoty. To platí například pro *C. muricata* agg., *C. flava* agg. (sect. *Ceratocystis*), sect. *Ammoglochin* a další.

## Vztah velikosti genomu a obsahu GC bazí

Tento vztah byl zkoumán v různých skupinách organismů s různými výsledky. Pro všechny krytosemenné rostliny nebyl žádný obecný trend nalezen, v měřítku čeledí či rodů byl tento vztah dokumentován několikrát.

U ostřic je tento vztah pozitivní ( $R_{Sp}=0,588$ ,  $p<0,005$ ), se zvětšujícím se genomem se v něm zvyšuje relativní zastoupení GC bazí, potvrzuje ho i analýza fylogenetických kontrastů (Obr. 1).



Obr. 1. a) Závislost obsahu GC bazí na velikosti genomu. b) Pozitivní vztah fylogenetických kontrastů velikosti genomu a obsahu GC bazí dokazuje existenci vztahu těchto znaků i bez vlivu možného zkreslení fylogenetickou příbuzností studovaných druhů. Regresní přímka ukazuje převládající trend.

Existence tohoto vztahu je vysvětlována různým vlivem jednotlivých bazí na ohebnost a zejména stabilitu molekuly DNA, která se zvyšuje s vyšším obsahem GC bazí. To by mohlo vést jak k preferenci vyššího obsahu GC ve větších genomech (potvrzeno, viz výše), tak k preferenci GC bohatých genomů v extrémně teplých podmínkách (termostabilní hypotéza, Eyre-Walker&Hurst 2001). Tuto hypotézu jsme testovali s využitím EIH pro teplotu a dospěli jsme k opačnému výsledku, tedy vyšší obsah GC bazí je u chladnomilnějších ostřic.

## Shrnutí

1. Rod *Carex* má jedny z nejmenších rostlinných genomů s AT/GC genomovým poměrem srovnatelným s jinými rostlinami.

2. Velikost genomu je pozitivně korelovaná s obsahem GC bazí, což je v souladu s teoriemi vysvětlujícími selektivní výhody GC bohatých molekul DNA.

3. Ostřice mají průduchy delší, než by odpovídalo velikostem jejich genomů.