



1

Cypřiš tassilský (*Cupressus dupreziana*)

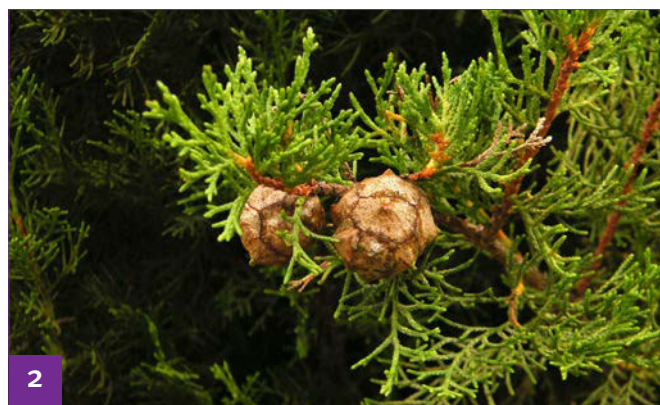
## ANDROGENEZE ANEŽ KDYŽ MÁ ROSTLINA POUZE OTCE

Způsob rozmnožování, při kterém potomek zdědí genetickou informaci pouze od jednoho z rodičů, nazýváme apomixií. Pokud je tímto rodičem samčí rostlina nebo jen samčí pohlavní orgány či buňky oboupohlavné rostliny, hovoříme o androgenezi. V takovém případě mateřská samičí rostlina, pokud je její přítomnost a úloha nezbytná, slouží pouze jako jakýsi inkubátor k vývoji nového jedince.

Tento poměrně neobvyklý způsob rozmnožování „objevilo“ několik rostlinných druhů přirozeně a v takovém případě hovoříme o **paternální apomixii** jako opaku daleko častější apomixie maternální, kdy je jediným rodičem potomka mateřská rostlina. O vlastní **androgenzi** pak hovoříme v případě, když samčí zárodečná linie prochází meiotickým dělením a výsledkem je haploidní pylové zrno a po dalším vývoji i embryo a semeno. Praktický význam má zejména umělá androgenze u rostlin, kdy nové rostliny vznikají v důsledku narušení správného vývoje pylových zrn, která normálně obsahují samčí pohlavní buňky, a jeho přesměrováním na sporofytickou vývojovou dráhu a následnou indukci embryogeneze a tedy i vznik celé rostliny.

### Přirozená androgenze a paternální apomixie

V přírodě je androgenze známá u některých živočichů i rostlin. V živočišné říši byla popsána například u několika druhů mra-



2

Cypřiš tassilský produkuje embryo bez oplození, které se vyvíjí v semeno v samičím zárodečném vaku blízkce příbuzného cypřiše stálezeleného (*Cupressus sempervirens*).

venců, u škeblí rodu *Corbicula* či u strašilek ze Středomoří. U rostlin byl vývoj rostlin ze samčích gamet popsán u jednoho druhu jehličnanu – cypřiše tassilského (*Cupressus dupreziana*; Obr. 1). Ve vzácných případech byla androgenze pozorována i u krytosemenných rostlin, například u **tabáku** (*Nicotiana tabacum*) či **kukuřice** (*Zea mays*), u kterých je však frekvence výskytu velmi malá, pohybuje se jen kolem tisícín procenta.

**Rozmnožování cypřiše tassilského je unikátní** tím, že zde dochází k vývoji semene z neredukované samčí gamety a vzniklé embryo je tedy diploidní. Právě proto se pro tento specifický typ rozmnožování používá termín **paternální apomixie**. U cypřiše tassilského je paternální apomixie jediný známý způsob reprodukce. Jeho pyl je vždy diploidní – neprochází tedy meiotickým dělením a má také největší pylová zrna ze všech cypřišů. Na samičích šištících vyklíčí pylové zrno v pylovou láčku, která doroste k zárodečnému vaku, jenž zřejmě žádný genom neobsahuje, a uvolní samčí pohlavní buňky, které samy následně dávají vzniknout diploidnímu embryu. Je zřejmé, že se jedná o poměrně riskantní způsob rozmnožování, zejména uvědomíme-li si, že cypřiš tassilský je velice vzácný strom. Jistou výhodou pro tento druh možná představuje schopnost využít pro svůj



## CYPŘIŠ TASSILSKÝ (*CUPRESSUS DUPREZIANA*)

Cypřiš tassilský je menší jednodomý strom dosahující výšky 16–18 metrů. Vystoupavé větve tvoří kónickou či pyramidální korunu, listy jsou šupinovité, šedozelené či bledě žlutozelené. U rostlin se tvoří samčí i samičí šištice, vejcovitá až kulovitá semena jsou po dozrání tmavě hnědá. Rozeznáváme dvě variety cypřiše tassilského: *Cupressus dupreziana* var. *dupreziana* a *C. d.* var. *atlantica*. Dříve byly uváděny také jako samostatné druhy, ale rozdíl je pouze ve tvaru šištice a semen. Cypřiš tassilský (var. tassilský) je endemit jihozápadní části pohoří Tassili n'Ajjer v Alžírsku, kde se vyskytuje v počtu cca 250 jedinců. Roste v nadmořských výškách 1430–1830 m n. m. Stáří některých stromů je odhadováno na 1200–2300 let. Cypřiš tassilský je velmi dobře adaptován na suché podnebí, neboť srážky v oblasti dosahují jen 30 mm za rok.

vývoj i opylený, avšak neoplozený samičí zárodečný vak blíže příbuzného cypřiše stálezeleného (*C. sempervirens*; Obr. 2).

## Umělá androgeneze – trocha historie

V klasické mikrosporogenezi procházejí nezralé buňky pylových zrn meiotickým dělením (Obr. 3) za vzniku haploidních mikrospor, jež se následně vyvíjejí v samčí gametofyt, pyl. Ve chvíli, kdy není cesta vývoje samčího gametofytu a samčí zárodečné linie ještě zcela determinována, je možné přerušit normální gametofytickou cestu a indukovat vývoj sporofytu. Na rozdíl od přirozené androgeneze, kterou vytvořila evoluce, vyžaduje umělá androgeneze neboli pylová embryogeneze vnější zásah, nejčastěji působení stresu (o jiném typu embryogeneze, somatické embryogenezi jehličnanů, více v NB 2018/1). Její praktická historie se začala psát v 60. letech 20. století. Indiští vědci tehdy experimentovali s kultivací prašníků durmanu neškodného (*Datura innoxia*; Obr. 4) v podmínkách *in vitro* a v podstatě náhodou se jim podařilo získat haploidní semenáčky původem z pylových zrn. Jejich objev odstartoval další experimentální práci, kdy nejintenzivnější výzkum týkající se pylové embryogeneze probíhal v 70. letech 20. století. Zahrnoval převážně aplikaci a optimalizaci známých postupů pro nové rostlinné druhy nebo úpravy stávajících postupů pro zvýšení úspěšnosti při získávání pylových embryí. Výzkum androgeneze byl v té době částečně i módní záležitostí, byť naděje vkládané v možnost produkci dvojité haploidních rostlin se zcela nenaplnily. Po nějaké době se navíc množily komplikace a často bylo dosaženo technologických limitů, což bránilo širšímu praktickému využívání těchto technik. V 80. letech proto nastal ve výzkumu androgeneze jistý útlum, ač výzkum zdokonalování postupů stále probíhal. Zájem o androgenezi se poté navrátil s příchodem nového tisíciletí, hlavně díky zavedení a bouřlivému rozvoji nových celogenomových metodických postupů a technologií.

## A jak se to dělá?

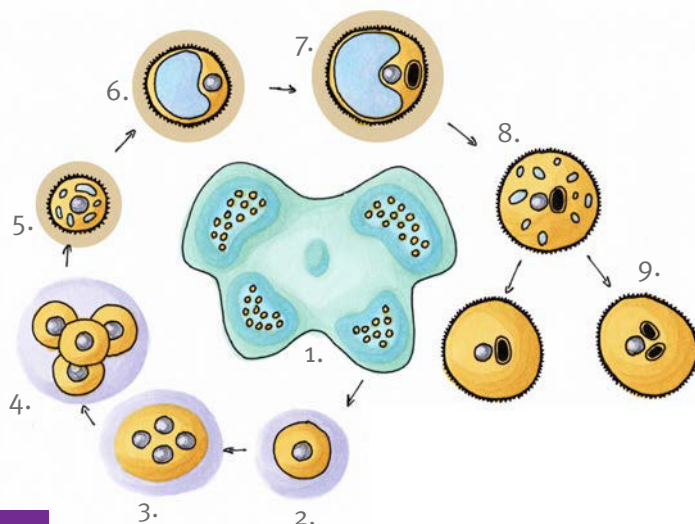
Pro indukci umělé androgeneze se obvykle využívají dvě základní metody – starší prašníková kultura a odvozenější kultivace mikrospor. Při původnější prašníkové kultuře pracujeme s celými poupaty a posléze prašníky; výhodou je zde hlavně jedno-

duchost provedení. Při odvozenější kultivaci mikrospor naopak izolujeme samostatná nezralá pylová zrna, což je sice postup obtížnější, avšak přinášející několik nepopíratelných výhod. Předně není vývoj embryí omezen malým prostorem prašníku, je tedy možné získat mnohem větší počet embryí. Zároveň je eliminována možnost kontaminace sporofytickými pletivy prašníku. Zatímco mikrospory jsou jakožto samčí zárodečná linie haploidní, samotné prašníky jsou, stejně jako zbytek rostliny, diploidní. Možnost vzniku embryí původem z pletiv prašníků je tedy nežádoucí, nejednalo by se pak o androgenezi, nýbrž o pouhé klonování.

Na úspěšnost indukce embryogeneze má vliv celá řada faktorů. Klíčové je zde zejména vývojové stadium pylu (Obr. 3). Za vhodná se označují vývojová stadia kolem první pylové mitózy (Obr. 5), neboť v tomto období není gametofytická vývojová dráha ještě zcela determinována a fixována a vývoj samčí zárodečné linie je možno působením stresu zvrátit. Dalším faktorem zásadně ovlivňujícím úspěšnost androgeneze je genotyp. Zatímco u některých rostlin lze snadno získat velké množství pylových embryí, u jiných je to prakticky nemožné. Vliv má konečně i složení kultivačního média či podmínky, kterým je v průběhu indukce pyl vystaven.

## Využití aneb k čemu to je dobré

Prvotní možné využití androgeneze bylo jasné již v 70. letech. Rostliny získané tímto způsobem jsou totiž často buď haploidní, nebo je u nich možno indukovat duplikaci genetické informace. Takovéto rostliny jsou poté homozygotní v každém svém genu (dvojitě haploidní). Jsou tedy ideálním výchozím materiálem pro všechny šlechtitele. Možné využití se proto nabízí například při produkci tzv. heterózního F1 osiva, v praxi se však tyto techniky



3

Schematický diagram znázorňující vývoj samčího gametofytu se znázorněnými stadii používajícími se při umělé androgenezi (v hnědém kolečku). 1. prašník s prašnými pouzdry a diploidními mikrosporocyty, 2. mikrosporocyt, 3. meiotické dělení – vznikají haploidní mikrospory, 4. tetráda mikrospor, 5. mladá mikrospora s jedním jádrem a drobnými vakuolami, 6. pozdní mikrospora s jedním jádrem a velkou vakuolou, 7. časný dvoubuněčný pyl (obsahuje jedno generativní a jedno spermatické jádro) po mitotickém dělení, 8. pozdní dvoubuněčný pyl, 9. zralý dvou- či trojbuněčný pyl (v závislosti na druhu).



4a



b

Jeden z prvních experimentálních modelů pro kultivace prašníků, durman neškodný (*Datura innoxia*), a) květ, b) plod

využívají převážně **pro urychlení šlechtění nových, výnosnějších odrůd, převážně u obilnin (ječmen, pšenice), případně řepky.**

Kromě šlechtění představuje androgenese i užitečný nástroj pro další výzkum, ať už pro studium embryogeneze jako takové, nebo k identifikaci nejrůznějších genů.

## Komplikace

Androgenní rostliny jsou rozhodně zajímavé a mohou být i užitečné. Nicméně existují důvody, které brání jejich rozsáhlejšímu praktickému využívání. Získaných rostlin například může být jen velmi málo, případně nemusí být indukce u daného druhu vůbec možná.

Asi **nejvíce pozornosti se však upíná k albinismu, který postihuje hlavně obilniny.** Zdá se, že zatímco se zde daří změnit osud a směřování vývoje pylových zrn a vytvořit semenáčky, jejich plastidy však pokračují v původním vývojovém plánu a namísto chloroplastů se diferencují spíše v amyloplasty obsahující škrob či tvoří nedovyvinuté proplastidy. Albinotické rostliny díky tomu postrádají chlorofyl, a nejsou tedy životaschopné mimo podmínky *in vitro*. Po příčině i možných řešeních se stále pátrá, zásadní roli však i zde pravděpodobně hraje genotyp.

Autoři:

Bc. Helena Kočová a doc. RNDr. David Honys, Ph.D. (Laboratoř biologie pylu, Ústav experimentální botaniky AV ČR, kocovah@ueb.cas.cz, david@ueb.cas.cz)

Foto: (1) Dmitry Pichugin, Dreamstime, (2, 4) Zdeňka Navrátilová, (3) Barbora Honysová, (5) Jana Kůrková



Abdoun F., Gardner M.F. (2016): Threatened conifers of the world. Dostupné z: <http://conifers.rbgeughes.webfactional.com/> (1.10.2019).

Guha S., Maheshwari S.C. (1964): *In vitro* production of embryos from anthers of *Datura*. *Nature*, 204: 497.

Kumari M. et al. (2009): Albinism in plants: a major bottleneck in wide hybridization, androgenesis and doubled haploid culture. *Critical Reviews in Plant Science*, 28: 393–409.

Makowska K. et al. (2015): Androgenic capability among genotypes of winter and spring barley. *Plant Breeding*, 134: 668–674.

Pichot C. et al. (2001): Surrogate mother for endangered *Cupressus*. *Nature*, 412: 39.

Schwander T., Oldroyd B.P. (2016): Androgenesis: where males hijack eggs to clone themselves. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 371 (1706).

## SLOVNÍČEK

**diploid, diploidní** – mající 2 sady chromozomů, běžný stav ve většině somatických buněk

**gamety** – pohlavní buňky

**haploidní** – mající 1 sadu chromozomů, obvykle zárodečné linie

**homozygot, homozygotní** – mající 2 stejné alely (varianty téhož genu)

**in vitro** – ve skle

**mikrosporogeneze** – první fáze vývoje pylu do stadia mikrospory zahrnující meiotické dělení

**mikrogametogeneze** – druhá fáze vývoje pylu od stadia mikrospory (zahrnuje dvě mitotická dělení)

**zárodečný vak** – samičí gametofyt nahosemenných a krytosemenných rostlin, uvnitř je ukryta samičí haploidní vaječná buňka (celý zárodečný vak je haploidní)



5

Přibližné vývojové stadium pylu lze někdy stanovit z velikosti prašníků, případně celých pupat. Když je u tabáku (*Nicotiana tabacum*) délka kališních a korunních lístků srovnatelná, případně jsou korunní lístky o trochu delší, pyl se zrovna nachází zhruba ve stadiu kolem první pylové mitózy.