

Darwinova „odporná záhada“ po 130 letech aneb souvisí polyploidie s rozmanitostí krytosemenných rostlin?

K 200. výročí narození Charlese Darwina

Jméno Charlese Darwina bývá pravidelně uváděno v souvislosti s nejrůznějšími evolučními a ekologickými teoriemi, počínaje původem druhů, přes speciace na ostrovech až třeba po otázky týkající se četnosti výskytu různých organismů. Ve stínu klasického příkladu ekologické diferenciacce galapážských „pěnkav“ (ve skutečnosti jde o ptáky z příbuzenstva strnadů; Živa 2008, 7), který se dostal snad do všech evolučně zaměřených učebnic, se možná trochu ztrácí další otázka, na něž Darwin hledal odpovědi. Mezi ně patří i vznik a počáteční rychlá diverzifikace krytosemenných (kvetoucích) rostlin – jedna z největších suchozemských radiací všech dob, která dala vzniknout více než 250 000 druhům. Sám Darwin v dopisu z července 1879 adresovaném svému dlouholetému příteli, botanikovi J. D. Hookerovi tento problém popisuje jako odporou záhadu (an abominable mystery), s jejímž zodpovězením si příliš nevěděl rady. Pojďme se tedy na „odporou záhadu“ podívat s odstupem téměř půldruhého století, zejména ve světle moderních molekulárně-genetických poznatků a s důrazem na polyploidizaci (znásobení genetického materiálu).

Polyploidie a polyploidie

Polyploidie (neboli genomová multiplikace) je stav, kdy se v somatických buňkách určitého organismu nacházejí více než dvě identické sady chromozomů (pokud jsou přítomny tři sady, mluvíme o triploidii, při čtyřech o tetraploidii, při šesti o hexaploidii atd.). Polyploidie je velice častá zejména v rostlinné říši, kde bývá považována za jednu z hlavních hnacích sil evoluce. Kvalifikované odhady ukazují,

že 2–4 % veškerých speciálních událostí u kvetoucích rostlin je možné připsat právě genomové duplikaci (a jde tedy o vůbec nejčastější mechanismus sympatrické speciace, tj. evolučního rozrůznění druhů rostoucích společně v téže oblasti). V poslední době však vychází najevo, že velký počet polyploidů najdeme i mezi živočichy, především u ryb a obojživelníků. Pravou senzaci pak způsobil nedávný objev dvou polyploidních hlodavců v Argentině

– osmáka pouštního (*Tympanoctomys barerae*) a osmáka slaništního (*Pipanacoctomys aureus*, Gallardo a kol. 1999). Až do jejich nálezu se totiž soudilo, že polyploidie nebývá u savců slučitelná se životem. Je však vhodné poznamenat, že i zdravé lidské tělo obsahuje tkáně tvořené polyploidními buňkami – konkrétně v játrech.

Podle způsobu vzniku bývají tradičně rozlišovány dvě základní kategorie polyploidů: (I) autopolyploidie vznikající zdvojením počtu chromozomů v rámci jednoho a téhož druhu a (II) allopolyploidie, kteří kombinují genetický materiál minimálně dvou různých rodičovských druhů (v jejich evoluční historii tedy nezbytnou úlohu hraje mezidruhová hybridizace). Do první skupiny patří z domácí květeny např. srha říznačka (*Dactylis glomerata*, obr. 1), tetraploid odvozený od diploidní srhy hajní (*D. polygama*, obr. 2). Z kulturních rostlin můžeme jmenovat vojtešku (*Medicago sativa*), jetel luční (*Trifolium pratense*) nebo višň (Cerasus vulgaris). Allopolyploidie reprezentuje mimo jiné konopice polní (*Galeopsis tetrahit*, obr. 3, 4, 5), vzniklá z k. zdobné (*G. speciosa*, obr. 7, 9) a k. pýřitě (*G. pubescens*, obr. 6, 8), z pěstovaných druhů pak pšenice (*Triticum aestivum*), banánovníky (různé odrůdy vzniklé křížením *Musa acuminata* a *M. balbisiana*), tabák (*Nicotiana tabacum*) nebo kulturní bavlníky (*Gossypium barbadense* a *G. hirsutum*). Dalším kritériem pro klasifikaci polyploidů bývá jejich stáří – zatímco mladé typy s blízkými příbuznými označujeme jako neopolyploidie, starobylé taxony, často evolučně izolované, se nazývají paleopolyploidie.

Proč vlastně má smysl se podrobně zabývat duplikací genomu? Především, velké množství organismů (či alespoň jejich jednotlivých buněk) je polyploidních a můžeme tedy shrnout, že život je v velké části polyploidním fenoménem. Navíc, naprostá většina lidské civilizace závisí na polyploidní stravě (zejména na obilovinách) a neméně důležitou roli hrají polyploidie v produkci krmiva pro hospodářská zvířata, v produkci vláken atd. To dobře ilustrují celosvětové statistiky o využití orné půdy – na 83,7 % rozlohy se pěstují polyploidní plodiny. Polyploidní je i čtveřice nejrozšířenějších hospodářských plodin (pšenice, rýže, kukuřice, sója) a mezi 21 nejdůležitějšími plodinami najdeme jen 6 diploidů (v tradičním pojetí).

Vlastnosti polyploidů

Zdvojení počtu chromozomů se projevuje prakticky na všech úrovních biologické organizace. Univerzálním efektem bývá zvětšení buněk a s ním související změny povrchu a objemu. Ty se následně projevují změnami v intenzitě metabolických procesů. Polyploidie proto zpravidla bývají robustnější než jejich diploidní příbuzní (jak ve vegetativních, tak i generativních

1 a 2 Mezi základní kategorie polyploidů patří autopolyploidie a allopolyploidie. Do první skupiny náležejí např. tetraploidní srha říznačka (*Dactylis glomerata*, obr. 1) vzniklá zdvojením chromozomů diploidní srhy hajní (*D. polygama*, obr. 2). Snímky L. Hroudy





3 až 9 Zástupcem allopolyploidů je konopice polní (*Galeopsis tetrahit*, obr. 3, 4, 5), která kombinuje genomy konopice pýřité (*G. pubescens*, obr. 6, 8) a k. zdobné (*G. speciosa*, obr. 7, 9). Snímky M. Štecha (3, 4, 7, 8) a L. Hroudy (5, 6, 9)

částech), vykazují však pomalejší ontogenetické procesy a pozdější kvetení. Zdvojení počtu chromozomů s sebou často přináší i změny v reprodukčních charakteristikách – např. polyploidie obecně vykazují větší podíl samoopylování (self-kompatibility) a často se rozmnožují apomikticky (vytvářejí semena bez oplození a vzniklí potomci jsou geneticky zcela shodní s mateřským jedincem). Nezřídka polyploidie osidlují širší rozpětí ekologických podmínek, bývají konkurenčně zdatnější a odolnější vůči různým patogenům.

Z genetického hlediska vykazují polyploidní druhy větší variabilitu (větší podíl polymorfních lokusů, více alel na lokus atd.) a jsou méně náchylní ke snižování genetické diverzity v důsledku příbuzenského křížení. Např. při samosprášení heterozygotního diploida bude plná polovina jeho potomků homozygotních, zatímco u tetraploida to bude jen o něco málo přes 5 %. K poklesu původní genetické

variability na 1 % kvůli příbuzenskému křížení stačí u diploidních organismů 7 generací, naproti tomu u tetraploidů nastane stejný stav za 27 generací a u hexaploidů dokonce až za 46.

Duplikované geny navíc mohou sloužit jako „experimentální“ materiál pro evoluci. Jedna část genů bude zajišťovat funkce nezbytné pro přežití organismu, zatímco u jejich kopií může docházet k mutacím, které nakonec mohou vést až k rozrušení a specializaci pro nové funkce.

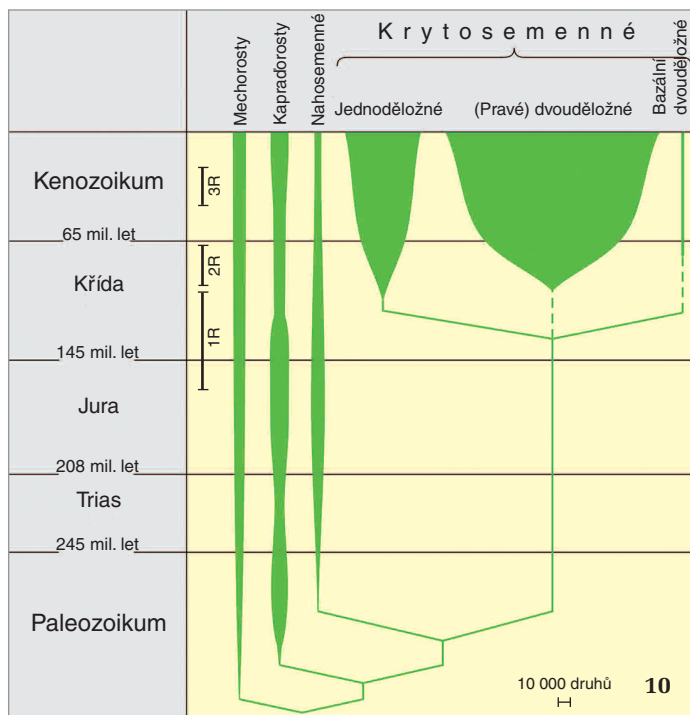
Jak častá je polyploidie u rostlin?

Navzdory obecné shodě, že polyploidie představuje jeden z klíčových evolučních mechanismů v rostlinné říši, na zdánlivě banální otázku, jaký je vlastně podíl polyploidů, není vůbec jednoduché odpovědět a v literatuře se setkáváme se značně rozdílnými odhady. Klasické studie pracovaly s chromozomovými počty a snažily se najít určitou hranici mezi diploidním a polyploidním stavem. Různí autoři však pro stanovení této arbitrární hranice používali různá kritéria, a tak i podíl polyploidních typů se dramaticky měnil. Nejstřízlivější odhady u krytosemenných rostlin udávaly kolem 30–35 % polyploidů, jiné studie dospěly zhruba k jedné polovině a v posledních desetiletích se asi nej-

častěji objevovaly hodnoty mezi 70 a 80 %. Nutno však poznamenat, že rozdíl mezi 30 % a 70 % je opravdu markantní a představuje 100 tisíc (!) rostlinných druhů.

Ještě častější je výskyt polyploidů u karpadorostů – zde se odhady ustálily kolem 95 %. Naproti tomu rostliny nahosemenné (cykasy, jinaný a jehličnany) vykazují jen mizivý počet polyploidů (méně než 5 %), přičemž naprostá většina z nich jsou tetraploidi. Nejvyšší známý stupeň ploidie v této skupině je hexaploidní a byl zjištěn u věhlasné kalifornské sekvoje vždyzelené (*Sequoia sempervirens*). Nejistota panuje ohledně četnosti polyploidů u mechorostů – přijmeme-li nízká základní chromozomová čísla, může se jejich podíl vyšplhat až k 80 %; mnozí autoři se však přiklánějí k výrazně menšímu zastoupení polyploidních typů. Jisté je, že valnou většinu polyploidů najdeme mezi mechy, zatímco u jatrovek a hlevíků je genomová duplikace nesrovnatelně vzácnější. O výskytu polyploidie u řas stále existují jen útržkovité informace, nicméně lze předpokládat, že vzhledem k vysokým chromozomovým počtům (i více než 500 chromozomů v somatických buňkách) bude podíl polyploidů též značný.

Nejenom podíl polyploidů, ale i vlastní míra polyploidizace může u některých



skupin dosahovat úctyhodných hodnot. Rekordmanem v celé rostlinné říši je tropická kapradina hadilka *Ophioglossum reticulatum*, jejíž některé populace mají 1 440 somatických chromozomů, což odpovídá 96násobku základní sady (každý jednotlivý chromozom je tedy v genomu přítomen v 96 (!) kopiích). Mezi rostlinami dvouděložnými drží prvenství mexický rozchodník *Sedum suaveolens*, který je 80ploid s 640 chromozomy, zatímco nejvíce chromozomů u jednoděložných rostlin bylo dosud zjištěno u vzácné madagaskarské palmy *Voaniola gerardii* ($2n = 596$, cca 50ploid).

Otázka četnosti polyploidie u rostlin by nebyla úplná bez alespoň krátké zmínky o tzv. somatické polyploidii, kdy v rámci organismu dochází k dalšímu zmnožení genetického materiálu v určitých buňkách. Často jde o buňky zásobní (např. endosperm či elaiosom semen) nebo buňky mající nějakou specializovanou funkci (antipody, trichomy apod.). I v těchto případech může míra polyploidizace dosahovat značně vysokých hodnot, a to až dvou (např. trichomy u kopřivy dvoudomé) nebo dokonce i tří řádů (např. masička – elaiosomy na semenech ladoňky dvooulisté).

Novinky z paleobotaniky

Do diskuse o četnosti polyploidie v rostlinné říši v posledních letech výrazně zasáhla paleobotanika. Díky ní můžeme např. odhadnout, jaký ploidní stupeň měli dávno vyhynulí předci současných rostlin. Je samozřejmé, že vlastní DNA nefosilizuje, a není tedy možné stanovit přesné počty chromozomů. Nicméně jak již bylo řečeno dříve, obsah DNA se odráží ve velikosti buněk, které se ve fosilním záznamu zachovávají. Na základě srovnání určitého dobře definovaného typu buněk (u rostlin to nejčastěji bývají svěrací buňky průduchů) mezi žijícími a vyhynulými druhy pak můžeme činit závěry o výskytu polyploidizace v historických dobách. Např. menší svěrací buňky u vyhynulých

zástupců svědčí o tom, že skupina téměř jistě v minulosti prodělala nějakou multiplikaci genomu a moderní typy je tedy nutno řadit mezi polyploidy. Taková situace byla skutečně pozorována mimo jiné u zástupců čeledi šácholanovitých (*Magnoliaceae*), vavřínovitých (*Lauraceae*) nebo platanovitých (*Platanaceae*), jež byli tradičně považováni za diploidy. Paleobotanická data tak celkově ukazují na vyšší zastoupení polyploidů, než jaké bychom mohli usuzovat jen na základě samotných karyologických údajů.

Molekulární překvapení

Podobně jako v mnoha dalších odvětvích biologie byl i ve studiu polyploidie průlomovým okamžikem nástup molekulárně-genetických technik. Nevyčerpatelnou studnicí informací o složení genomu (včetně toho, zda a jaké jeho části byly duplikovány) představují kompletně sekvencované organismy. Mezi cévnatými rostlinami se dosud podařilo přečíst úplnou genetickou informaci u pěti druhů. Jako první to byl v r. 2000 modelový druh genetických studií, jednoletý huseníček rolní (*Arabidopsis thaliana*) z čeledi brukvovitých (*Brassicaceae*). Následovala první jednoděložná rostlina – rýže setá (*Oryza sativa*; 2004) a první dřevina – americký topol chlupatoplodý (*Populus trichocarpa*; 2006). V posledních letech k nim pak přibýly ještě dvě užitkové rostliny – réva vinná (*Vitis vinifera*; 2007) a papája (*Carica papaya*; 2008). Bohužel fylogenetické pokrytí zdaleka není optimální, neboť s výjimkou rýže patří všechny uvedené druhy do jedné velké příbuzenské skupiny označované jako Rosidy.

Kompletní sekvenace genomů je činnost nesmírně časově, finančně i organizačně náročná a i přes značné technické pokroky nelze předpokládat, že v nejbližších letech budou k dispozici úplné sekvence pro reprezentativní počet rostlinných druhů. V praxi jsou proto primárním zdrojem dat jakési náhledy do organizace genomu – složení tzv. exprimovaných

10 Druhá diverzita hlavních evolučních linií rostlin v průběhu geologických dob. Nápadný je dramatický nárůst počtu krytosemenných ve svrchní křídě. Znázorněna je přibližná datace tří plošných polyploidizačních událostí (1R, 2R, 3R), k nimž u krytosemenných rostlin došlo. Upraveno podle: S. De Bodt a kol. (2005)

11 Nejprimitivnější krytosemenná rostlina a pravděpodobně i jediný druh, který v minulosti neprodělal duplikaci genomu – *Amborella trichopoda* z Nové Kaledonie. Foto S. Zona

12 Hadilky (rod *Ophioglossum*) drží v rostlinné říši primát v počtu somatických chromozomů. Ukázkovým příkladem extrémně vysoké polyploidizace je i hadilka obecná (*O. vulgatum*) – jediný zástupce svého rodu v naší květeně, v jehož buněčných jádrech najdeme 480 chromozomů. Foto M. Štech

sekvenčních úseků (EST – Expressed Sequence Tag). Ve veřejně přístupných databázích je v současné době k dispozici přes 50 milionů EST pro různé eukaryotní organismy, včetně mnoha rostlinných druhů. Jejich analýzou pak můžeme např. určit, zda-li v určité linii proběhla polyploidizace a jaká je její přibližná datace. Statistické metody jsou založeny na hodnocení rozdílů v sekvencích u dvojic duplikovaných genů (tzv. paralogních genů), přičemž důraz se klade na synonymní záměny bází – tedy takové, které nemění typ kódované aminokyseliny a funkčnost genů a bývají proto selekčně neutrální.

Překvapivé výsledky na sebe nedaly dlouho čekat. Skutečné pozdvižení mezi vědeckou obcí vyvolalo zjištění, že genom naprosté většiny krytosemenných rostlin vykazuje množství nadbytečných genů, které nejspíše vznikly v důsledku rozsáhlé duplikace genetického materiálu v minulosti. Vždyť ještě před 13 lety (v r. 1996), kdy začal projekt kompletní sekvenace genomu huseníčku, by zajisté i největší



zastánci polyploidizace odpřísáhli, že *Arabidopsis thaliana* představuje typickou diploidní rostlinu (má jen malý počet chromozomů, nepatrnou velikost genomu atd.). Dnes je však zřejmé, že i huseníček je ve skutečnosti polyploid a navíc ne jen tak ledajaký – v minulosti totiž tento druh (či spíše jeho předek) prodělal ne jednu, ale hned tři genomové duplikace. K první došlo nedlouho po vzniku krytosemenných, ke druhé u předka pravých dvouděložných a k poslední u předka řádu brukvotvarých (*Brassicales*). Sekvence genomu rýže (dalšího typicky „diploidního“ druhu) potvrdila správnost úvah o rozsáhlé polyploidizaci v časných fázích evoluce krytosemenných a ke stejným závěrům dospěla i celá řada navazujících studií. Postupně tak vyšlo najevo, že i genom vývojově velice primitivních rostlin (např. stulíku – *Nuphar* nebo liliovníku tulipánokvětého – *Liriodendron tulipifera*, které patří k bazálním větvím krytosemenných, nebo puškvorce obecného – *Acorus calamus*, jakožto značně starobylého zástupce jednoděložných) vykazují rozsáhlé duplikace. V současné době je tedy očividné, že polyploidie je v rámci krytosemenných rostlin prakticky všudypřítomná a otázka již nestojí: Jaký podíl krytosemenných je polyploidní?, ale spíše: Kolik polyploidizačních událostí určitá skupina rostlin v minulosti prodělala?

Přesto však i mezi krytosemennými existuje jedna výjimka, u níž ani detailní analýzy genomu žádnou polyploidizaci neodhalily. Tou je vůbec nejprimitivnější kvetoucí rostlina *Amborella trichopoda* z Nové Kaledonie, jediný zástupce samostatné čeledi *Amborellaceae* (obr. 11). Tato živoucí fosilie představuje evoluční linii, která se od ostatních krytosemenných rostlin oddělila velice záhy po jejich vzniku, před zhruba 130 miliony let. *Amborella* je dvoudomý keř či malý strom s neopadavými vstřícnými listy ve dvou řadách. Drobné květy s nerozlišenými obaly jsou uspořádány v koncových vrcholících květenstvích. Ačkoli jde o dvoudomý druh,

v květech se zakládají jak samčí tyčinky, tak samičí plodolisty, avšak pouze jedno pohlaví se plně vyvine, zatímco druhé zůstane redukováno. Po odkvětu se vytváří červená bobule obsahující jedno semeno. Na svých přírodních stanovištích roste v podrostu horských deštných lesů. Počet jejích lokalit se však stále snižuje vypalováním, těžbou surovin či intenzivní pastvou. Druh je extrémně vzácný i v kultuře – počet botanických zahrad vlastnících tuto raritu bychom mohli spočítat na prstech jedné ruky.

Polyploidie je dynamická

Díky molekulárním metodám vzala za své i někdejší zažitá představa, že polyploidizace je jen ojedinělý jev, jakési vzácné dílo náhody. O polyploidních druzích se původně soudilo, že vznikly pouze jedinkrát (monotopně) a vykazují proto mizivou genetickou variabilitu. Ta se pak měla projevat např. menší přizpůsobivostí k podmínkám prostředí nebo uniformní odezvou při napadení patogeny. Takové typy tedy měly být selekčně znevýhodněny oproti svým diploidním příbuzným. Asi proto nepřekvapí, že ještě v polovině 20. stol. se na polyploidii nahlíželo jako na slepé uličky evoluce. S tímto názorem však kontrastoval neustále se zvyšující počet objevovaných polyploidních rostlin. Až podrobné studie genetické variability polyploidů odhalily, že duplikace genomu je nesmírně dynamický proces, který v krátké době generuje obrovskou proměnlivost. Naprostá většina polyploidních druhů vznikla opakovaně, a to na různých místech (polytopně) a z různých populací diploidních předků. Hned v prvním kroku se tak objevují linie s rozdílnou genetickou konstitucí. Navíc tyto samostatné, nezávisle vzniklé populace se v průběhu doby mohly setkat, vzájemně hybridizovat a dát tak vznik dalším, zcela novým genotypům. Pokračující křížení uvnitř linií i mezi nimi pak zajišťovalo variabilitu, která často byla mnohonásobně vyšší než u diploidních předků.

Popsaná spleť evoluční historie vysvětluje i skutečnost, proč polyploidní skupiny většinou bývají taxonomicky komplikované a mezi jednotlivými druhy často chybějí jednoznačné hranice. Je potřeba poznamenat, že i samotná polyploidizace je bodem, v němž může docházet k zásadním změnám v organizaci genomu (např. ke ztrátám určitých úseků DNA, umlčování jednotlivých genů atd.), které mohou být dalším zdrojem variability a podporovat tak rychlost evoluce. Jako dobrý příklad poslouží experimentálně vytvoření polyploidů brukví (*Brassica*), u nichž se již během několika málo generací začaly projevovat rozdíly mezi jednotlivými liniemi pocházejícími z identických diploidních rodičů. Na rozdíl od původních představ o stabilitě genomu je tedy dnes zřejmé, že po vlastním zdvojení počtu chromozomů záhy následují další výrazné přestavby a reorganizace genetického materiálu.

Chvilí se ještě zastavme u zmíněného mnohonásobného vzniku polyploidů, který můžeme vystopovat v evoluční historii naprosté většiny z nich, od mechorostů, přes četné kapradiny až po krytosemenné

rostliny. Naopak kdysi tradovaný monotopní vznik se ukázal být výjimečný – dosud byl prokázán např. u užitkové podzemnice olejné (*Arachis hypogaea*) nebo trávy mořských pobřeží *Spartina anglica*. Kolikrát tedy takový polyploidní druh může vzniknout? Na základě současných poznatků můžeme říci, že většina polyploidů má na svém kontě několik desítek nezávislých vzniků. Např. u jedné z nejlépe prozkoumaných polyploidních skupin, amerických kozích brad (rod *Tragopogon*, obr. 13 a 14), se ukázalo, že druh *T. mirus* vznikl nejméně 11krát a druh *T. miscellus* minimálně 21krát, a to vše během pouhých sedmi nebo osmi desítek let v geograficky omezeném prostoru zahrnujícím východ státu Washington a přilehlé Idaho. Opakovaný vznik byl dokonce prokázán i na území jednoho jediného města. Pro získání představ o četnosti vzniku polyploidů však nemusíme chodit nijak daleko – např. chudina *Draba norvegica* s nevelkým areálem ve Skandinávii vznikla nejméně 13krát. Uvedená čísla jasně dokládají kdysi těžko představitelnou četnost a dynamiku polyploidizace v přírodních populacích.

Ovlivňuje polyploidizace druhovou bohatost?

Závěry některých výzkumů naznačují možnou pozitivní vazbu mezi polyploidizací a diverzifikací (ať již z důvodu rychlejší speciace polyploidů oproti diploidům, pomalejšího vymírání nebo kombinací obou faktorů). Odhalení několika starobylých duplikací genomu na různých místech fylogenetického stromu krytosemenných rostlin otevírá jedinečnou možnost předpokládaný vztah mezi polyploidii a druhovou bohatostí určitých linií statisticky testovat. Ačkoli výsledky takových srovnání jsou stále předběžné, obecně se ukazuje, že polyploidizace skutečně vede ke zvýšení druhové diverzity. Jako dobrý příklad nám mohou posloužit trávy – zatímco u jádra lipnicovitých (*Poaceae*), které zahrnuje zhruba 10 tisíc druhů, byla prokázána duplikace genomu (zhruba před 50–70 miliony let), druhově chudé bazální větve a nejbližší příbuzné čeledi žádné zdvojení genetického materiálu nevykazují. Podobná situace je i u bobovitých (čeleď *Fabaceae*), kde pravděpodobně došlo k polyploidizaci u linie, jež dala vznik cca 7 tisícům druhů, na rozdíl od pěti skupin, jejichž počty druhů nepřesahují dvě desítky. A do celkového obrázku dobře zapadá i řád brukvotvarých. Naprostá většina z jeho 17 čeledí je druhově chudá (stěží 15 zástupců) a v jejich evoluční historii duplikace genomu chybí. Výjimku tvoří trojice velkých čeledí (kaparovité – *Capparaceae*, luštěnicovitě – *Cleomaceae* a vlastní brukvovitě – *Brassicaceae*), které jsou všechny polyploidní.

Polyploidie v historickém kontextu

Pro osvětlení možné role polyploidie v diverzifikaci kvetoucích rostlin si nejprve udělejme krátkou exkurzi do historie, do doby úsvitu krytosemenných. Nejstarší dosud známé fosilní nálezy moderních krytosemenných pocházejí ze spodní křídy a jejich stáří se odhaduje zhruba na 132 milionů let (str. 209–211 tohoto čísla *Živy*).

Nicméně určité evoluční experimenty s krytosemenností se objevily již mnohem dříve – v triasu a juře. Navíc i molekulární analýzy datují vznik krytosemenných daleko před nejstarší fosilní doklady – do svrchní jury, před 140–180 miliony let. První moderní krytosemenné rostliny byly nejspíše vodní byliny (jako např. známý rod *Archaeofructus*, viz také str. 209 až 211 tohoto čísla) nebo drobné keře. Je samozřejmé, že jejich vznik nebyl skokový, ale skupina se vyvinula postupně ze svých primitivnějších předků. Jako zásadní momenty v evoluci krytosemenných můžeme označit vznik plodolistů, dvojitého oplození a květů. A právě kombinace těchto tří znaků je to, co dělá krytosemenné rostliny krytosemennými a co umožnilo jejich velice rychlou diverzifikaci v dalším období. Je potřeba zdůraznit, že rychlost radiace moderních krytosemenných byla vskutku nevídaná. Vždyť existence všech jejich hlavních vývojových linií je jasně doložena pouhých 10–12 milionů let po nejstarších fosiliích. Ještě v průběhu křídy se staly dominantami mnohých stanovišť a v té době již existovalo 42 z 94 současných řádů (tj. 44 %) a 63 z 439 čeledí krytosemenných (tj. 14 %) odlišovaných v současnosti.

Celkem logicky proto vyvstává otázka, proč právě období křídy je v evoluci kvetoucích rostlin tím klíčovým. V průběhu doby bylo formulováno množství teorií, které se snažily explozivní křídovou radiaci krytosemenných vysvětlit. Mezi ty nejvíce přijímané náleží vzájemná koevoluce rostlin s jejich opylovači – zastánci této teorie poukazují na skutečnost, že různorodost květních struktur během křídy šla ruku v ruce se vznikem mnoha nových skupin hmyzu (motýlů, blanokřídlých, dvoukřídlých). Další hypotéza bere do úvahy abiotický stres související s nárůstem koncentrace oxidu uhličitého. Kvůli tektonické aktivitě docházelo v geologické minulosti opakovaně ke zvyšování koncentrace CO₂, přičemž poslední výkyv se datuje do doby před 120–80 miliony let. Vyšší koncentrace CO₂ a tudíž efektivnější fotosyntéza umožnily rostlinám kolonizovat sušší a živinami chudší stanoviště, na kterých se mohly vyvinout nové morfologické typy.

V souvislosti s pokroky molekulární biologie bývá v posledních letech s druhovou bohatostí krytosemenných stále častěji spojována i polyploidie. Je totiž docela dobře možné, že právě genomová duplikace mohla být oním spouštěčem rychlé morfologické i ekologické diverzifikace krytosemenných. Jak již bylo řečeno, polyploidie násobí množství genetického materiálu důležitého pro vývoj, regulaci a signalizaci. Duplikované geny pak umožňují vytvoření složitějších struktur i metabolických drah, a tím celkový nárůst biologické complexity. Významnou roli polyploidie dobře dokumentují současné poznatky, které prokázaly, že naproti většina genů účastnících se regulačních a signalizačních procesů byla u dnešních krytosemenných rostlin získána právě starobylými polyploidizacemi. Např. tři historické duplikace zjištěné v genomu huseníčku rolního jsou zodpovědné za více než 90 % takových genů. Pokud by tedy žádná polyploi-



dizace v minulosti neproběhla, množství regulačních genů by u rostlin zůstalo výrazně omezeno. Duplikované geny tedy představují materiál pro evoluční diverzifikaci a mohou svému nositeli poskytovat významnou selekční výhodu.

Pokusme se nyní alespoň o přibližné datování jednotlivých polyploidizačních událostí, zejména v kontextu druhové rozmanitosti krytosemenných (obr. 10). První rozsáhlá duplikace genomu proběhla nejspíše někdy v období svrchní jury až spodní křídy, tedy v době, kdy krytosemenné rostliny vznikly a postupně se stávaly dominantní ekologickou skupinou. Je pravděpodobné, že nový genetický materiál umožnil vytvoření složitějších vegetativních i generativních struktur – tedy se např. objevují oboupohlavné květy, mění se morfologie listů atd. Důkazem nejstarší genomové duplikace mohou mimo jiné být tzv. MADS-box geny, což je skupina genů pro iniciaci a další vývoj květů. Druhá polyploidizační vlna se datuje do svrchní křídy, kdy se u krytosemenných formovaly nejrůznější opylovací strategie. Z tohoto období se v genomu současných rostlin zachovaly např. duplikované geny ovlivňující tvorbu sekundárních metabolitů, jako jsou antokyany určující barevnost květů a plodů nebo vonné silice. Lze předpokládat, že nápadně zbarvené a vonné květy účinněji lákaly opylovače a výrazné plody byly zase efektivněji rozšiřovány živočichy (ve srovnání s anemochorií – evolučně původním přenosem semen větrem). Obě tyto evoluční novinky pak mohly vést k reprodukční izolaci a vyšší rychlosti vzniku nových druhů. Opomenout nelze ani spektrum metabolitů uplatňujících se v obranných reakcích rostlin při napadení patogeny nebo herbivory (např. alkaloidy či polyfenoly). Nejmladší rozsáhlá genomová duplikace spadá do třetihor a její význam pro vznik nových druhů rostlin je již menší a projevuje se zejména na úrovni čeledí. Celkově tedy můžeme shrnout, že starobylé polyploidizační události (především z období křídy) byly zásadní pro vznik mnoha klíčových regulačních a vývojových genů. Genomová duplikace tak mohla stát za nárůstem počtu druhů i zvýšením morfologické complexity krytosemenných rostlin pozorovaným od spodní křídy.

13 až 14 Zřejmě nejvíce klasických poznatků o polyploidii bylo získáno studiem kozích brad (rod *Tragopogon*). Zatímco v Evropě rostou jen diploidní druhy, jejich hybridizací a následnou polyploidizací v americkém kontinentu, kam byly zavlečeny člověkem, vznikly tetraploidní druhy. Snímky F. Koláře (13) a L. Hroudy (14) zobrazují jeden z rodičovských druhů tetraploidů – kozí bradu pochybnou (*T. dubius*), která je lehce poznatelná podle nafouklé lodyhy pod květenstvím.

Zmínku si zaslouží i zajímavé výsledky studií prováděných na nahosemenných rostlinách (cykasech, jehličnanech a jinanu), případně liánovcích (řád *Gnetales*), kteří představují izolovanou skupinu kombinující znaky nahosemenných a krytosemenných. Obě jmenované skupiny jsou ve srovnání s krytosemennými chudšími příbuznými – celkový počet jejich druhů jen stěží přesahuje 800. Molekulární data u nahosemenných rostlin neodhalila žádné stopy genomové duplikace a jen nejednoznačná polyploidizace byla pozorována u liánovců. Ze bychom tedy měli v ruce další důkaz pozitivního vztahu mezi druhovou bohatostí rostlin a duplikací genomu?

Výhledy do budoucna

Je zřejmé, že nové poznatky z paleobotaniky, fylogenetiky, genomiky či evoluční biologie získané hlavně během posledního desetiletí významně přispěly k rozluštění Darwinovy „odporné záhady“. Velké množství otázek však stále zůstává nezodpovězeno a k pochopení vzniku a rychlé radiace krytosemenných rostlin ještě povede dlouhá cesta. Zapotřebí jsou molekulárně-genetická data pro reprezentativní soubor rostlinných druhů, dosud nedostatečně přesné je také datování jednotlivých polyploidizačních událostí. Již nyní je však zřejmé, že prakticky všechny krytosemenné rostliny v minulosti prošly minimálně jednou (častěji několika) duplikacemi genomu, které mohly být důležitým katalyzátorem jejich diverzifikace a následné evoluční úspěšnosti. Naše úvahy o příčinách obrovské variability kvetoucích rostlin se proto neobejdou bez zohlednění vlivu polyploidizace a jejího evolučního potenciálu.