

Nové poznatky v genetice rostlin

IV. Pohlavní chromozomy a historie jejich zkoumání

Pohlavní chromozomy tvoří součást genomu většiny živočichů a některých rostlin. Funkce těchto chromozomů souvisí s určením pohlaví, čímž je zabezpečeno na úrovni genomů to, co je zřejmé na úrovni fenotypové – rozdílnost samčího a samičího pohlaví. Aby se důležité znaky pro jednotlivá pohlaví nemíchaly (jedním z těchto znaků jsou samotné geny pro determinaci pohlaví), přestane určitý pár chromozomů alespoň ve své části rekombinovat. Tím se vyřeší konflikt zájmů mezi pohlavími, ale nastane problém druhý. Rekombinace sama o sobě funguje jako nástroj na odstranění chyb (mutací) na úrovni DNA. Tyto chyby se v případě potlačené rekombinace hromadí a daný chromozom je odsouzen k zániku. Jak vidíme u chromozomu Y člověka, po určitém evolučním čase se začnou geny ztrácet a původní pohlavní chromozomy, jež se odlišovaly pouze funkcí některých genů, se stávají zcela morfologicky odlišnými – heteromorfními. Existuje několik teorií, které se přou, zda výše zmíněný zánik může být zpomalen nebo dokonce zastaven, případně, co se stane s daným druhem, až nerekombinující pohlavní chromozom zmizí. Shrnutí teorií o zániku pohlavních chromozomů by sahalo nad rámec tohoto příspěvku, v němž bych chtěl nastínit zejména historii zkoumání chromozomů jako nositelů pohlavnosti a zmínit související kontroverze. Závěrem si ukážeme některé otevřené otázky a současné problémy v oblasti evoluce pohlavních chromozomů především u rostlin. Ty představují ideální model pro studium pohlavních chromozomů, protože blízké příbuzné druhy se mohou naprosto zásadně lišit ve strategii rozmnožování. V rostlinné říši najdeme celé spektrum fází evoluce pohlavních chromozomů – současné poznatky naznačují, že procesy jejich formování mohou být u rostlin mnohem pestřejší než u živočichů.

Pohlavní rozmnožování pohledem historie

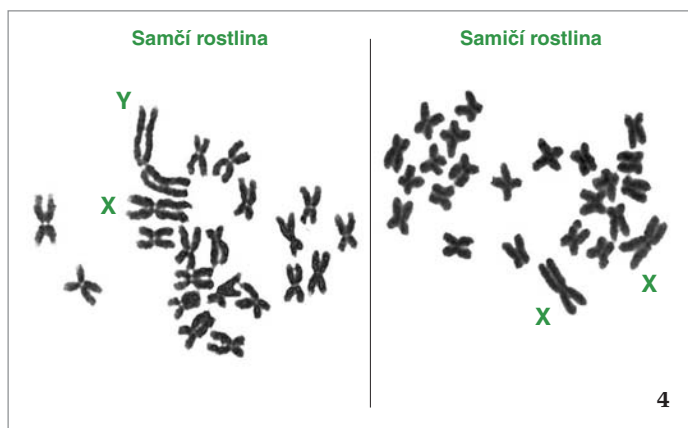
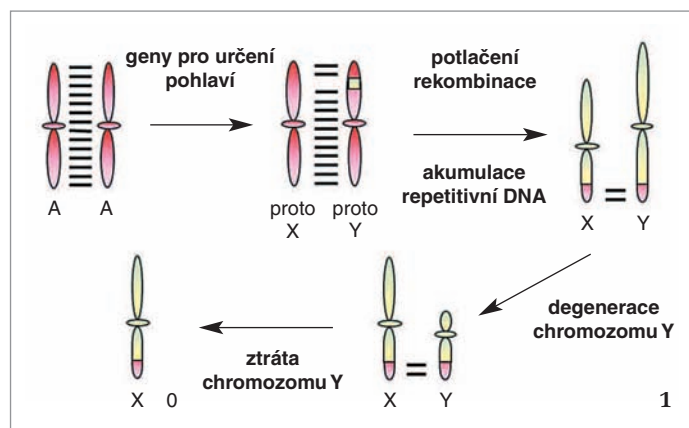
Jako mnoho dalších fenoménů v biologii, i tento se poprvé snažil zkoumat Aristoteles. Domníval se, že pro pohlaví dítěte je důležitá teplota při jeho zplodění. Doslovně řečeno, podle něho z vášně vznikají chlapi a z chladu děvčata. I když se tato myšlenka může zdát v dnešní době jako vědecky naprosto nepodložená, Aristotelův další poznatek, že vývoj ženy probíhá na počátku jako vývoj muže a kvůli sníže-

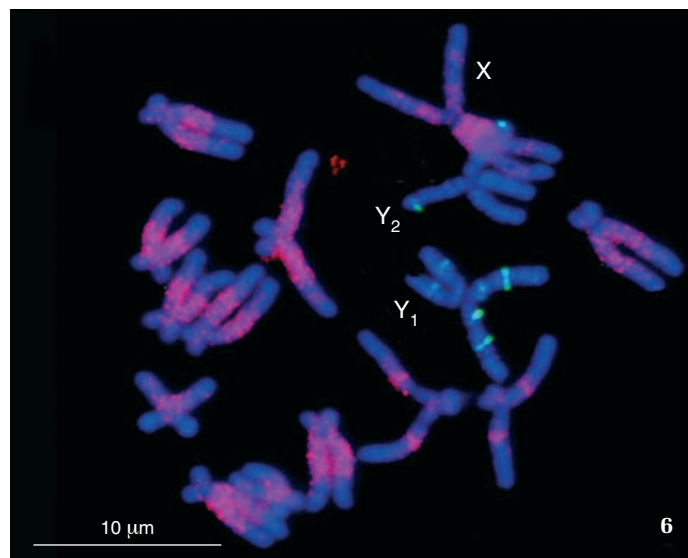
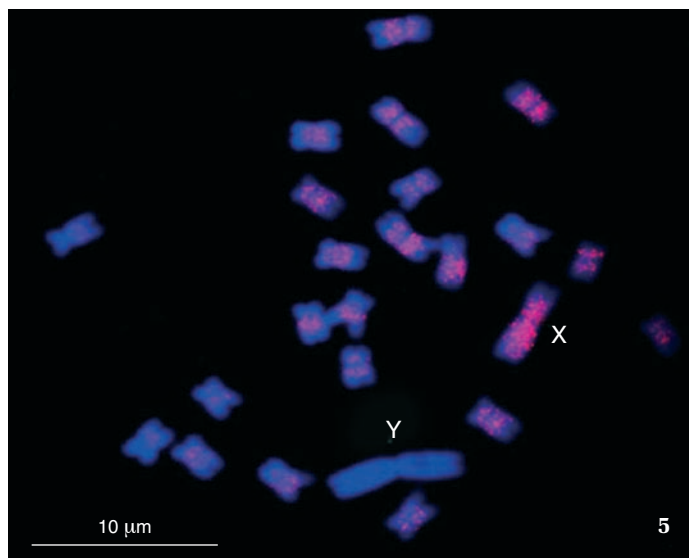
né teplotě dojde k zástavě mužského plánu, je z hlediska moderní vývojové biologie jako obecný koncept velmi blízko skutečnosti. Dějiny sexuality jako biologického fenoménu jsou spojeny se jmény mnoha velkých vědců – např. nizozemského přírodovědce Antonie van Leeuwenhoeka (animalcula seminis – spermie je v podstatě již hotový, ale malý organismus), nizozemského lékaře a anatoma Reiniera de Graafa (formování embrya z vajíčka) nebo švýcarského anatoma, fyziologa a histologa



Alberta von Köllikera (nutnost kontaktu spermie a vajíčka pro úspěšnou reprodukci). Podrobnější pochopení role pohlavních chromozomů v sexualitě začíná až koncem 19. stol.

Mnoho lidí dnes bere jako samozřejmé, že používáme název pohlavní chromozomy a označení chromozomů X a Y přejde bez hlubšího zamyšlení, kde se tyto symboly vzaly. Jako první popsal strukturu chromozomů v r. 1842 švýcarský botanik Karl Wilhelm von Nägeli, který se zabýval především buněčným dělením, a útvary, o nichž mluvíme jako o chromozomech, nazval v angličtině transitory cytoblasts. Byl to tentýž von Nägeli, který vedl korespondenci s Gregorem Johannem Mendelem a kupodivu nesouhlasil s mnoha jeho závěry dnes označovanými jako základy genetiky. Navíc i Mendel se dotkl výzkumu pohlavnosti





1 Fáze evoluce pohlavních chromozomů. Na počátku evoluce všech pohlavních chromozomů je pár autozomů (A). Na jednom z chromozomů se selektuje oblast s několika geny pro určení pohlaví (žlutozeleně). Aby se geny pro dané pohlaví u potomků nemíchaly, dochází v oblasti s těmito geny k zástavě rekombinace např. jednoduchou inverzí (otočením úseku) v rámci chromozomu. Vzniklá nerekombinující oblast může začít fungovat jako selekční nika pro další geny ovlivňující vývoj pohlaví. Mohou se sem dostávat třeba pomocí retrotranspozice, kdy retrotranspozony při pohybu genomem přenesou, v podstatě omylem, i kousek okolní DNA, která může obsahovat geny. Kromě jiného je ale tato oblast náchylná k hromadění genetických chyb (degeneraci) v důsledku chybějících opravných procesů na bázi rekombinace. Ukazuje se, že některé druhy (včetně člověka) si zálohují důležité geny na chromozomu Y v mnoha kopiích a intrachromozomální rekombinací pak tyto geny, pokud jsou poškozené, opravují. S degenerací souvisí i množení repetitivní DNA v podobě různých satelitních sekvencí a retrotranspozonů. V této fázi evoluce se chromozom Y zvětšuje. Po určitém evolučním čase míra degenerace chromozomu Y natolik vzroste, že může dojít ke ztrátě jeho části (částí) bez ovlivnění funkce celého systému. Začíná se zmenšovat a v poslední fázi jeho vývoje může dojít až k zániku a ztrátě. Orig. R. Hobza **2 až 4** Silenka široolistá (*Silene latifolia*) – samčí (obr. 2) a samičí rostlina (3). Druh představuje klasický model pro studium evoluce pohlavních chromozomů. Chromozom Y je největším v genomu (4) a nedávné studie ukazují, že začal již ztrácet některé geny, a tím degenerovat. Snímky: Wikimedia Commons, v souladu s podmínkami použití; foto A. Salo (obr. 3) **5 a 6** Chromozom Y silenky široolisté (obr. 5) i chromozomy Y₁ a Y₂ u šťovíku kyselého (*Rumex acetosa*, 6) jsou schopny se bránit před šířením retrotranspozonů, a tím brzdit degenerativní procesy. Červený signál – rozsah rozšíření konkrétního typu retrotranspozonu v genomu, zelený – specifická oblast pro chromozomy Y, zde tvořená tandemovou repeticí (blíže v textu). Snímky: R. Hobza (obr. 4–6)

při jeho méně známých experimentech s křížením silenky široolisté (*Silene latifolia*, obr. 2 a 3). Nedokázal však správně interpretovat segregční výsledky získané u této rostliny, které narušovaly jeho závěry o volné kombinovatelnosti sledovaných znaků – pravděpodobně proto, že mnoho znaků u této dvoudomé rostliny je vázáno na pohlaví. Výsledky pak diskutoval prostřednictvím korespondence s von Nägelim a ten svou nedůvěru k Mendelovým pokusům shrnul v jednoduché radě, aby Mendel experimenty zopakoval. Tím korespondence na dané téma ustala. Kdyby se oba veličníci dostali k bližší diskuzi, možná by pochopení chromozomové dědičnosti bylo o několik desetiletí uspišeno.

Chromozomy pojmenoval v r. 1888 německý anatom Heinrich Wilhelm Gottfried von Waldeyer-Hartz, který tak nazval vláknité struktury snadno zviditelnitelné bazo-filními barvivy, vyskytující se při mitotickém a meiotickém dělení. Chromozomy se chovaly při dělení buněk předvídatelně a dceřině buňky obsahovaly stejné počty chromozomů jak v mitóze, tak v meióze (zde samozřejmě v redukovaném počtu).

Vztah chromozomů a pohlavního rozmnožování

Teprve německý cytolog Hermann Henking pozoroval u ruměnice pospolné (*Pyrhacoris apterus*) určité nesouměrnosti v dělení chromozomů. Jeden chromozom se během meiózy nacházel jen v jedné ze dvou dceřiných spermatických buněk. Henking si nebyl vůbec jistý tím, co pozoruje, a nazval tento nadpočetný chromozom „podivný chromatinový element“, anebo také „X element“. Dnes již víme, že pohlaví u ruměnice pospolné je chromozomově určeno jako X0 (sameček) a XX (samička), tudíž tato asymetrie je dána chybějícím samčím chromozomem Y. Henking, přes absolutní nejistotu a neschopnost popsat a zařadit chromatinový element, dokázal získaná data v r. 1891 publikovat. V r. 1899 americký biolog Clarence McClung objevil podobný nadpočetný chromozom u sarančat. McClung znal i Henkingovu práci a uvědomil si, že pozorované elementy představují zvláštní typ chromozomů, které nazval přídatné (accessory chromosomes). V r. 1902 dále popsal, že distribuce přídatného chromozomu v dceřiných sper-

matických buňkách (1 : 1) odpovídá poměru dvou typů pohlaví – samčího a samičího. Překvapivě se však dopustil zásadní chyby, když chromozom X považoval za nositele samčího principu.

Rozhodující objev pro pochopení role pohlavních chromozomů učinili několik let po McClungovi ve Spojených státech amerických mladá začínající vědkyně Nettie Stevensová a proslulý biolog své doby americký zoolog a genetik Edmund Wilson. Stevensová pochopila roli pohlavních chromozomů díky volbě vhodného cytologického modelu. Stal se jím brouk potměnkou moučnou (*Tenebrio molitor*), který má podobnou chromozomovou konstituci jako člověk (XY samec a XX samice). Správně popsala úlohu malého (Y) chromozomu jako určujícího pro samčí pohlaví, a tím vyvrátila teorii samčího chromozomu X. Název chromozom Y je odvozen jako slovní hříčka od chromozomu X, ačkoli se občas setkáváme s tvrzením, že Y získal pojmenování od svého tvaru v metafázi u mnoha druhů. Paralelně s N. Stevensovou pracoval na úloze chromozomů při určování pohlaví i E. Wilson. Ačkoli dospěl k podobným výsledkům, které oba publikovali v r. 1905, mnohé jeho závěry byly mylné. Osud N. Stevensové v mnohém připomíná osud Rosalindy Franklinové, známé „čtvrté vzadu“ při objasnění struktury DNA. Wilson tvrdě popíral Mendelovy objevy, pohlavnost měla podle něj kvantitativní charakter v chromozomovém slova smyslu. Naopak Stevensová přisuzovala determinaci pohlaví určitým faktorům, které pohlavní chromozomy nesou. Přesto byl až v podstatě do 70. let 20. stol. objev role pohlavních chromozomů připisován právě Wilsonovi. Příčina není nikde zcela otevřeně diskutována, ale jde pravděpodobně o kombinaci mnoha faktorů. Nettie Stevensová se jako jedna z mála žen ve své době věnovala skutečně vědeckému výzkumu a i díky tomu byla přehlížena. Jako tehdy začínající vědkyně se v boji o prvenství svého objevu střetla s etablovaným profesorem a slavným vědcem. Ačkoli mohlo jít o férový souboj, vědecká komunita citovala hlavně Wilsonovy příspěvky, její práci zlehčovala nebo zcela opomíjela. N. Stevensová navíc bohužel nepřežila o mnoho let své objevy, zemřela na rakovinu v r. 1912.

Kupodivu až do 20. let minulého stol. trvalo, než se ustálil pevný název pro pohlavní chromozomy. První přišel s názvem pro útvary, které dnes takto označujeme, americký cytolog Thomas Montgomery, jenž pojmenoval též autozomy. Jeho název – heterochromozomy – používala ve svých pracích i N. Stevénsová. Naproti tomu E. Wilson navrhl termín idiochromozomy a jako již poněkolkáté v tomto vědeckém příběhu označil, ne zcela správně, jako klíčový pro určení pohlaví chromozom X. Název pohlavní chromozomy a jejich rolí v determinaci pohlaví vědecká komunita obecně odsuzovala jako koncept, který příliš zjednodušuje složitost problému, ale od 20. let se již v literatuře běžně vyskytuje. Přestože např. slavný spoluzakladatel moderní genetiky Američan Thomas Morgan o pohlavních chromozomech a jejich úloze referuje trochu posměšně jako o „travestý koncept“, což dále nerobí, ale dává tím jednoznačně najevo svou nedůvěru k chromozomální determinaci pohlaví.

Pohlavní chromozomy a současný stav poznání – rostlinné modely

Přestože je evoluce pohlavních chromozomů čistě akademické pole týkající se základního výzkumu, kde se těžko hledá přesah do světa aplikací, zůstává toto téma středem zájmu mnoha vědeckých skupin po celém světě. Svěráznou roli hrají v tomto oboru rostlinné modely, u kterých byly objeveny pohlavní chromozomy na počátku 20. let minulého stol. Poprvé je popsali v r. 1923 u silenek, chmele otáčivého (*Humulus lupulus*) a šťovíku kyselého (*Rumex acetosa*) nezávisle na sobě vědci z několika týmů. Přestože jsou rostliny v mnoha ohledech v základním výzkumu pionýry při objevování biologických fenoménů (vzpomeňme třeba objev procesu RNA interference nebo první důkaz semikonzervativní replikace DNA, jež byly poprvé popsány u rostlin, ačkoli to komise při udělování Nobelových cen mírně opomněla; blíže o RNA interferenci v článku na str. XLVII–XLIX kuléru), v tomto případě se na scéně objevují oprávněně až později. Strukturně a funkčně definované pohlavní chromozomy má jen několik druhů dvouděložných rostlin, jako již zmíněná silenka široolistá (viz dále). U těchto rostlin jsou mnohem běžnější hermafroditní druhy, jejichž květy tvoří jak samčí, tak samičí orgány. V tomto případě nedochází k regulaci vývoje jednotlivých pohlaví, jak ji známe u dvoudomých rostlin. Genetická podstata vzniku konkrétních rozmnožovacích orgánů je však v podstatě totožná u dvoudomých i hermafroditních druhů.

Jinou situaci ale nacházíme u mechorostů, kde jsou pohlavní chromozomy velmi rozšířené, tak jako např. u živočichů. Zmíněné skupiny organismů se však výrazně liší reprodukčními strategiemi. Mechorosty se vyskytují jako haploidní organismy, a tudíž je těžké představitelné, že by v nepřítomnosti chromozomu X v samčím jedinci začal chromozom Y degenerovat. Došlo by ke genetické sebevraždě, a to minimálně v případě samčího pohlaví. Hlavní model pro studium pohlavních chromozomů u mechorostů představuje porostnice mnohotvárná (*Marchantia polymorpha*),

u které nedávné výzkumy ukázaly přítomnost řady funkčních genů na chromozomu Y. U dvouděložných rostlin se usuzovalo, že mírou degenerativních procesů budou připomínat spíše živočišné modely. Ke klasickým modelům evoluce pohlavních chromozomů zde patří historicky zejména zástupci rodů *Silene* (silenky nebo též knotovky) a *Rumex* (různé druhy šťovíků). Mezi další v současné době studované náleží hlavně papája (*Carica papaya*), tomel obecný (*Diospyros lotus*) nebo bažanky (*Mercurialis* spp.). Kupodivu početné studie naznačují obecně výrazně nižší míru degenerace rostlinných pohlavních chromozomů oproti srovnatelným živočišným modelům. Je zvláštní, že degenerace chromozomu Y má tudíž u rostlin a živočichů odlišný charakter. Snad by se zdálo logičtější, že dramatictější a rychlejší degenerativní procesy probíhají u rostlin.

Rostliny obecně snášejí lépe než živočichové velké změny ve struktuře genomu. Jsou schopny existence při změně z diploidního jedince na haploidního a často podstupují polyploidizaci (zmožení chromozomové sádky v buňkách organismu). Opak je ovšem pravdou. Jedna z příčin může být, že rostliny (a to nejen zmíněné mechorosty) během svého vývoje procházejí poměrně dlouhou haploidní fází ve formě láčky, kde musí být většina genů aktivních (a ve funkční podobě, a to jak v „samčích“ (Y nesoucí), tak v „samičích“ (X nesoucí) láčce. Láčka svým „transkripčním chováním“ představuje spíše aktivní komplexní tkáň, zatímco živočišné spermatické buňky, u kterých transkripce neprobíhá a je aktivní pouze malá část genomu, se chovají více jako pasivní nosiči genetické informace. Kromě toho se ukazuje, že rostliny dokážou lépe bránit svůj chromozom Y před šířením retrotranspozonů (také Živa 2006, 6: 242–244). Tito kočovníci genomem se podílejí na genetické degeneraci chromozomu Y (retrotranspozony se mohou pohybovat z místa na místo mechanismem „copy – paste“, čímž zvyšují své zastoupení v genomu). Zdá se, že na epigenetické úrovni si minimálně některé rostliny s pohlavními chromozomy, jako je silenka široolistá a šťovík kyselý, vyvinuly účinné mechanismy na potlačení šíření škodlivých retrotranspozonů (blíže o epigenetické dědičnosti rostlin rovněž v Živě 2014, 6: 269–270).

K výše uvedeným výzkumům přispívají nemalou měrou i badatelské týmy z České republiky. K pionýrům molekulárních analýz pohlavních chromozomů rostlin u nás patří zejména Oddělení vývojové genetiky rostlin působící na Biofyzikálním ústavu Akademie věd ČR, v. v. i., v Brně, které ve spolupráci s Centrem strukturální a funkční genomiky Ústavu experimentální botaniky AV ČR, v. v. i., v Olomouci unikátně kombinuje přístupy klasické genetiky s moderní strukturální genomikou. K významným výsledkům této spolupráce se řadí především sekvenování jednotlivých pohlavních chromozomů u silenky širolisté a šťovíku kyselého. Podrobná analýza získaných dat v blízké budoucnosti ukáže, jak moc jsou procesy evoluce pohlavních chromozomů odlišné nebo shodné mezi konkrétními rostlinnými a živočišnými druhy.



7 Samičí rostlina šťovíku kyselého.

U tohoto a některých příbuzných druhů mají samčí rostliny dva pohlavní chromozomy Y. Jejich značná variabilita může souviset s tím, že se nepodílejí na určení pohlaví – je dáno poměrem chromozomů X a autozomů. Foto D. Michalčová

Současné otázky ze světa pohlavních chromozomů

A co je dnes hlavním tématem a potenciálním zdrojem budoucích kontroverzí v oblasti chromozomové determinace pohlaví? Jde mimo jiné o proces dávkové kompenzace genů, které se nacházejí na jednom chromozomu již ve zdegenerovaném stavu, nebo na něm i chybějí (tím je narušena původní transkripční úroveň, jež musí být kompenzována). I když se v nedávné době považoval tento problém za vyřešený např. existencí Barrova tělíska u člověka, kdy je jeden chromozom X u žen inaktivovaný, dnes se ukazuje, že některé geny kompenzaci unikají nebo ji vůbec nepotřebují.

Jaký osud čeká pohlavní chromozomy systému XX/XY (např. savci, většina rostlinných zástupců) nebo ZZ/ZW, kdy je samička tzv. heterogametická (viz slovník termínů na webové stránce Živy; např. u motýlů, ptáků a některých plazů)? Fungují selekční systémy na úrovni pohlavně vázaných genů podobně u XX/XY a ZZ/ZW systémů determinace pohlaví? Pravděpodobně ne. Přestože se tvrdí, že evoluce pohlavních chromozomů je cesta bez návratu, najdeme někdy výjimku, která by potvrdila pravidlo?

Jak moc zůstává chromozom Y z evolučního hlediska stabilní? Nedávné studie ukazují, že lidský chromozom Y se velmi podobá chromozomu gorilímu, zatímco se výrazně odlišuje od šimpanzího. Musíme kvůli tomu změnit pohled na fylogenetické vztahy s blízkými příbuznými primáty? Určitě ne. Jen se můžeme pravděpodobně těšit na další změny našich pohlavních chromozomů v evolučně blízké budoucnosti, které svým rozsahem a dosahem možná překvapí nejednoho evolučního biologa.

Práce vznikla za podpory Grantové agentury České republiky (projekt 16-08698S).

Slovník s vysvětlením vybraných termínů najdete na webové stránce Živy.