

Efeméry – život na Záhořově loži

Huseníček rolní v přírodě

JIŘÍ SÁDLO

Huseníček rolní (*Arabidopsis thaliana*), známe dnes hlavně v souvislostech genetických studií. Tento druh ale roste i na volné noze vně zdí našich laboratoří a způsob jeho života je docela zajímavý.

Huseníček je původním druhem české květeny a je to bylina sice hojná, ale nenápadná – je to jen maličká listová růžice a z ní jde štíhlý stonek nesoucí květenstvíčko bílých kvítků; celé je to řídké a slabé, jako když komár kope do průvanu. Navíc huseníček stihnete jen na jaře – tak asi do půlky května. Roste všude na suchých stráních, na okrajích polí, na šterku podél cest. Je rozšířen po celém území bez nějakých výraznějších vazeb fyto geografických nebo ekologických, jen je vzácnější ve vápencových územích a do vyšších pohoří je pouze zavlečen podél komunikací.

Efeméry a jejich strategie

Huseníček patří spolu s dalšími několika desítkami našich druhů mezi *efeméry*. To je jedna z *životních forem rostlin* (podobně jako třeba sukulenty, epifyty, liány, stromy...), čili taková kolektivní a na taxonomii skoro nezávislá strategie života v určitém prostředí. Název efeméry tyto rostliny dostaly pro svou nepatrnost a krátkověkost. Je to jako z trochu uslintané pohádky. Tak to vám byl jeden huseníček a ten měl spoustu malých kamarádů, kteří se jmenovali podobně titěrně a žebrácky: osívka, chudina, mrvka, kozlíček, ovsíček a ovsířík, plevel neboli čmánek, pochybek, nahoprutka, dokonce ptačí nožka maličká a myši ocásek nejmenší... cítíte z toho tu k uzoufání veselou bídu hladové jarní přírody?

Být efemérou je totiž finta, jak za lacino přežít na stepním suchopáru (pak jsou také např. efeméry hajní, ale o těch se teď nebavíme). Ostatní růstové formy stepních stanovišť se poctivě mordují s mechanickými a fyziologickými adaptacemi proti suchu a horku (rozsáhlé kořeny, silná kutikula, chlupatý povrch, redukce listů, schopnost ztratit většinu vody, a přesto se udržet naživu...). Naproti tomu efeméry jsou mezofyty – tedy druhy běžných stanovišť, ani suchých, ani vlhkých. Vyrály na sucho úplně jinak – extrémním zkrácením svého vegetačního cyklu a přechávaním většiny roku v semenech. Prostě stihnou odrůst od semínka do semínka za těch pár měsíců, co je na stepi jakás takás vláha. Vyklíčí už na podzim nebo během zimy a sotva se udělá trochu jaro, už už rozkvétají a vzápětí přinesou plody, a do začátku května je vymalováno.

Ale takhle jednoduché to efeméry přec jen nemají – zkrácení vegetačního cyklu musí zaplatit speciálními adaptacemi a omezeními. Jsou to:

■ **Velikost a rychlost růstu, absence klonality.** Efeméry jsou subtilní bylinky s krátkými kořínky, ačkoli rostou rychle, protože víc narůst nestihnou. V době, kdy by se už mohly začít rozmnožovat vegetativně, jejich vegetační období končí, protože step silně vysychá. Nepočítáme-li klonální vodní rostliny okřehkovité (*Lemnaceae*), patří naše efeméry (např. osívky) k nejmenším našim kvetoucím rostlinám.

■ **Vysoká rychlost vývinu a extrémní neotenizace.** Schopnost rozmnožování už v mladých stadiích je to, co odlišuje byliny od dřevin („bylina je předčasně vyspělý strom“). U efemér to jde ještě dál: Není vzácností (třeba u rozrazilů), že rostlina ještě má děložní lístky, a přitom jí už začínají zrát plody. Osívce jarní dozrávají plody na bezlistých stéblech dávno po tom, co její listy zaschly – nebylo by divu, kdyby se ukázalo, že významným zdrojem asimilace jsou jí v oné době nedozrálé zelené, listovité zploštělé plody.

■ **Vysoká investice do generativního rozmnožování.** Středověchodní efemérní máky a jejich příbuzenstvo (*Papaver*, *Roemeria*, *Glaucium*) jsou desetinásobnou miniaturizací našeho vlčího máku, ale jen ve vegetativních částech, květy a plody se mu velikostí blíží. Nijaký kořínek a tenínka pěticentimetrová lodyžka s dvěma třemi zakrslými lístky nese nepochopitelně veliký květ s plátky dlouhými několik centimetrů. Semena efemér mají relativně velkou hmotnost v poměru k celé rostlině (ať už tím, že jsou těžká, nebo že je jich velký počet).

■ **Nízká schopnost mezidruhové konkurence.** Proti vysokým vytrvalým suchovzdorným druhům s dlouhými kořeny nemají efeméry prostě šanci.

■ **Snížení konkurence uvnitř populace.** Když nahusto vysejete semena nějakého druhu, zpravidla přežije jen několik nejsilnějších semenáčků, a sice tím, že konkurencí zahubí ostatní rostlinky. Naproti tomu u efemér přežívá velká část populace, protože se jednotlivé rostlinky zmenší – místo samotného obra stádečko trpaslíků. Huseníček rolní pěstován o samotě naroste za optimálních podmínek až na třicet centimetrů, kdežto hustě rostoucí rostlinky na suchých místech mají jenom dvacet či třicet milimetrů. Je to neschopnost populace zapojit do hry konkurence selektující nejvitálnější jedince, nebo „solidární“ dělba o niku prostředí zachovávací v populaci genetickou variabilitu?

■ **Zvláštnosti v klíčivosti semen.** Rozeznat okolnosti příhodné ke klíčení umí vlastně každá rostlina, ale u efemér je to zvlášť výrazné – klíčit jsou ochotny jen od podzimu do jara a na volné obnažené půdě. V pouštích bývá semena efemér půda přecpána, ale drobné rozdíly v chodu klimatu nastartují ke klíčení každé jaro jenom část přítomných druhů.

■ **Odolnost vůči nízkým teplotám.** Efeméry patří k prvním jarním kytičkám a tehdy je na našich suchých stráních i na kontinentálních stepích výrazné střídání teplot: přes poledne mikroklíma vykouzlí dvacet stupňů nad nulou, a k ránu vše zmrazne. Například na jižních skalách na Kotýzu v Českém krasu květá rozrazil časný a osívka už koncem ledna, dávno před sněženkami. Vytrvalé stepní rostliny mají dělivá pletiva dobře schovaná v pupenech či mezi starými listy a poledními maximy teploty se většinou nenechají vyprovokovat k vegetaci, natož

RNDr. Jiří Sádlo (*1958) viz Vesmír 78, 143, 1999/3

aby kvetly. Zato efeméry kvetou jen což, ač jejich napohled křehká pletiva jsou plně vystavena všem extrémům počasí.

Výlet do vývojových center efemér

Efemérní druhy, ba i celé sekce nebo rody, mají svá vývojová centra ve stepích a polopouštích, kde je na jaře dostatečně vlhká půda a mírná teplota udržuje vlhkost vzduchu. Když koncem dubna přijedete do kontinentálních oblastí Středního východu, třeba do Jordánska nebo do centrálního Íránu, uvidíte kvetoucí pouště. Před měsícem tam ještě silně mrzlo, za měsíc byste v těchto hlinitých a kamenitých hluboce erodovaných pláních našli už jenom pravidelně roztroušená suchomilná pichlavá křovička (z r. *Astragalus*, *Ephedra*, *Artemisia*, *Cousinia*, *Acanthophyllum* aj.).

Ani teď z větší dálky mnoho jiného nerozeznáme. Ale zblízka uvidíme na volných plochách hlíny jednu rostlinku vedle druhé: efeméry. Na deseti metrech čtverečních najdete několik desítek druhů a v blízkém okolí několik desítek dalších – diverzita je překvapivě velká. Ve značné části Středního východu jsou běžné třeba světle fialové křížaté večerničky (*Malcolmia*), droboučký žlutý blín *Hyoscyamus aureus*, štíhlé „pomněnky“ z rodu *Paracaryum*, travičky mnohoštěty (*Aegilops*) s tvrdými osinatými klasy nebo tolíce (*Medicago*), nápadné teprve za plodu svými velikými šnekovitými lusky. Najdeme zde i mnoho efemér, které známe z Česka (např. osívku jarní, plevel okoličnatý, huseník ouškatý). A také velkou spoustu druhů, které u nás rostou jako běžné plevele v obilí nebo na rumišťích a svou růstovou sezónu končí většinou až během prázdnin; zde však rostou pravidelně jako efeméry. Jsou to třeba drchnička rolní, bažanka roční či ječmen myší (*Anagalis arvensis*, *Mercurialis annua*, *Hordeum murinum*). Takové naše plevele jsou tedy původem přirozené efemérní druhy stepí a polopouští a k nám se rozšířily až s neolitickou kolonizací nebo i později.

Kromě efemér tam roste ještě příbuzná životní forma – vytrvalé *efemeroidy*, které mají rovněž silně zkrácený vegetační cyklus, ale jsou vytrvalé a krom semen přezimují i v hlízách, oddencích a cibulích. Jsou to četné rody našich zahrádek jako tulipány, kosatce, modřence a česneky (*Tulipa*, *Iris*, *Muscari*, *Allium*), z našich druhů např. lipnice cibulkatá (*Poa bulbosa*) a patří tam např. i vysoké „mrkve“ rodu *Ferula* a *Prangos*.

Jehlový led a efeméry

Efeméry mohou vyrůst skoro všude na sušší volné půdě, kde jim nekonkurují jiné druhy. Často jsou to však výskyty pouze přechodné, trvající do doby, než takové místo zaroste. Jeden typ stanoviště je ale dlouhodobý, pro efeméry zcela specifický a zároveň dost kuriózní.

Jdeme lednovým odpolednem po skalnaté stráni se „stepní“ vegetací. A jak se tak bavíme o tom, že to step vlastně spíše není než je, ale že elegantní slovo pro tyto středoevropské suchopáry nemáme, přijdeme na horní okraj skal. Tady končí hluboká půda a začíná obnažená skalní lavice. Na samém rozhraní měří vrstva půdy sotva několik centimetrů. Právě zde na jaře nacházíme nejlépe vyvinutá společenstva efemér. V létě tu mnoho zvláštního nezjistíme, jen to, že je tu ještě vyprahlejší suchopár než na okolní stepi. Zato v předjaří a v slunných a mrazivých dnech zimy si všimneme, že povrch půdy je jakoby načechraný. Miniaturním oráčem je tzv. *jehlový led*.

Naše efeméry suchých přirozených stanovišť: *Aira (caryophyllea, elegans, praecox)*, *Alyssum alyssoides*, *Androsace (elongata, septentrionalis)*, *Arabis auriculata*, *Arabidopsis thaliana*, *Arenaria (leptocladus, patula, serpyllifolia)*, *Cerastium (brachypetalum, glutinosum, litigiosum, pumilum, semidecandrum, tenoreanum)*, *Ceratocephala testiculata*, *Dichodon viscidum*, *Draba (muralis, nemorosa)*, *Erodium cicutarium*, *Erophila (verna, praecox, spathulata)*, *Filago (arvensis, gallica, lutescens, minima, vulgaris)*, *Holosteum umbellatum*, *Medicago minima*, *Minuartia (fastigiata, viscosa)*, *Myosotis (discolor, ramosissima, stricta)*, *Myosurus minimus*, *Ornithopus perpusillus*, *Saxifraga tridactylites*, *Sedum (hispanicum)*, *Scleranthus (annuus, polycarpus, verticillatus)*, *Spergula (morisonii, pentandra)*, *Teesdalia nudicaulis*, *Thlaspi perfoliatum*, *Trigonella monspeliaca*, *Valeriana (olitoria, carinata)*, *Ventenata dubia*, *Veronica (arvensis, dillenii, praecox, triphylos, verna)*, *Vicia (lathyroides)*, *Vulpia (bromoides, myuros)*.

Rodová jména česky: ovsíček, tařice, pochybek, huseník, huseníček, písečnice, rožec, rožinec, rohohlavec, chudina, pumpava, osívka, bělolist, plevel, tolíce, kuřička, pomněnka, ptačí nožka, lomikámen, rozchodník, chmerek, koleneček, nahoprutka, penízek, piskavice, kozlíček, ovsířík, rozrazil, vikev, mrvka. Do výčtu nejsou zahrnuti rumištní druhy zasahující také na přirozená stanoviště.

I když okolo leží sníh, skála je orientovaná k jihu a přes poledne se zahřeje natolik, že v jejím nejbližším okolí začne v úzkém pásmu tát sníh a země rozmrzá. Jenže všeho do času. Lednové odpoledne je krátké a vodou napitá zem zase rychle zamrzá. Led vznikající v půdě vytváří dlouhé úzké sloupce nebo jehly, vysoké až několik centimetrů. A protože má větší objem než původní voda, tak trhá půdní částice od sebe a nadzvedává je. S nimi se trhají i kořínky rostlin a převracejí se polštářky mechů. Příští poledne se proces opakuje. Tomuto opakovanému mrznutí a rozmrazení půdy se říká regelační cyklus. Normální stanoviště absolvují za zimu tolik regelačních cyklů, kolikrát se vystřídají trvalejší mrazy a oblevy – nejvýš tedy tak pět šest cyklů. Naproti tomu tato specializovaná stanoviště jich mají co zimu několik desítek, stejně jako v oněch kontinentálních pouštích.

Jediné druhy, které takovému mučení mohou odolat, jsou efeméry, protože v té době teprve klíčí a led

NAŠE SPOLEČENSTVA PŘIROZENÝCH STANOVÍŠŤ S PŘEVAHOU EFEMÉR (NA ÚROVNI TRÍD A SVAZŮ):

TRÍDA:

Koelerio-Corynephoretea (která v novějším širokém pojetí zahrnuje i dosud běžně uznávanou tř. *Sedo-Scleranthetea*)

SVAZY:

Alyssoidis-Sedion albi. Společenstva efemér s vysokou účastí mechů, lišejníků a tučnolistých sukulentů (hlavně rozchodníky – rod *Sedum*), kolonizující mělké půdy, často kypřené jehlovým ledem, na stepích teplejších oblastí na bohatých podkladech vápencových, diabasových a spilitových.

Arabidopsis thalianae. Společenstva s podobnou skladbou druhů, ale s jinou garniturou efemér, kolonizující podobná stanoviště a lokality, jenže na kyselejších břidličných nebo vyvěelinových podkladech.

Thero-Airion. Společenstva s účastí rumištních druhů lehčích půd a s výskytem na otevřených plochách vzniklých disturbancemi (např. stržením drnu nebo těžbou písku v pískovnách) na kyselých, humusem chudých písčitých podkladech.

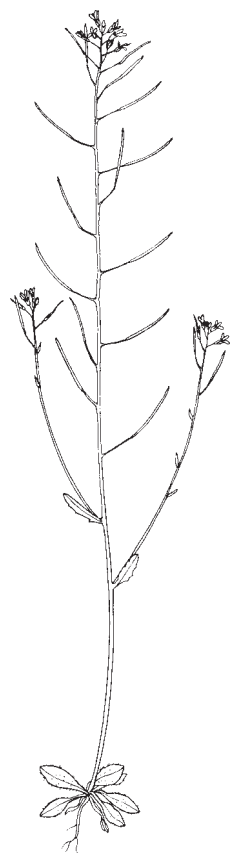
Corynephorion canescentis. Řídké porosty efemér s dominantou trsnaté trávy paličkovce šedavého na vátných písčích, hlavně v subatlanticky ovlivněných oblastech.

Plantagini-Festucion ovinae. Vzhledem i rozšířením podobná společenstva, ale druhově bohatší, většinou s převahou trav z rodu kostřava (*Festuca ovina*, *F. brevipila* aj.)

je nadzdvihuje i s půdou, kdežto mladým jedincům vytrvalých rostlin se kořeny zpřetrhají. Tak se to aspoň píše v učebnicích. Blíže pozorování však ukáže, že je to složitější. Na místech s intenzivní tvorbou jehlového ledu totiž nepřežívá zpravidla nic, a to nejen pro ty kořeny, ale i pro silné vysychání povrchu takto načechnané země. (Víme samozřejmě, že okopáváním si chráníme zem na zahrádce před vysycháním, ale to platí pro silnou vrstvu půdy. Načechnaná mělká půda vysychá, jako když sušíme houby nebo křížaly: když je nakrájím natenko a při sušení je občas prohrábnu, budou mít větší aktivní povrch a uschnou rychleji.)

Zjišťujeme, že optimální stanoviště efemér jsou sice na lokalitách s jehlovým ledem (v měřítku desítek m²), ale ne přesně na těch místech (v měřítku desetin m²). Plošky s efemérami jsou vždy zároveň rekolonizovány také mechy, lišejníky i vyššími rostlinami. Ke vzniku jehlového ledu je potřeba, aby se příslušné místo silně provlhlilo vodou z oblevy. Tyto plošky se rok od roku mění a tak vzniká na lokalitě pohyblivá mozaika ploch čerstvě „zoraných“ a plošek v různém stadiu zarůstání. V prvních letech se na nich uplatňují efeméry a postupně jsou vytlačovány vytrvalými druhy až po výsledný stepní trávník. Spolupůsobí i letní sucha, která osídlování zpomalují likvidací vytrvalých druhů, vliv větru odstraňujícího suchou starinu, která vadí efemérám, a občasné narušení stepních trávníků člověkem či zvířem.

Sečteno a podtrženo: Efeméry nejsou druhy odolávající stresu (dlouhodobé zátěži), ale jsou to první kolonizátoři po disturbanci (jednorázovém drastickém narušení, viz Vesmír 77, 558, 1998). Na plně funkčním Záhořově loži žít prostě nelze, čerstvě vychladlé se však mění v obyčejnou pohodlnou postel. Pak jen záleží na tom, kdo ho opanuje dřív nebo s větší razancí, a jak často bude zprovozněno. □



HUSENÍČEK ROLNÍ

Arabidopsis thaliana, čeled bрукvovitých *Brassicaceae*, je běžná bylina, která i u nás roste na suchých stráních a při okrajích cest, polí ap. Pro genetiky je jednou z nejvýznamnějších modelových rostlin. Je to velmi malá rostlina, má krátký životní cyklus (6 týdnů) a produkuje velké množství drobných semen. Pro molekulární genetiku je významné, že má jeden z nejmenších eukaryontních genomů (120 milionů párů bází DNA), uspořádaný do pouhých 5 párů chromozomů. Huseníček poprvé použil k experimentálním účelům prof. F. Laibach v Německu již na počátku tohoto století. Teprve ve 40. letech se však stal předmětem mutačních studií. Od té doby se nashromáždilo velké množství mutací a informací o umístění odpovídajících genů na chromozomech.

Huseníček jako modelová rostlina

O čem vypovídá genom *Arabidopsis thaliana*

MILOŠ ONDŘEJ
SLAVOMÍR RAKOUSKÝ
TOMÁŠ KOCÁBEK

Od roku 1990 se v mnoha zemích intenzivně pracuje na výzkumu genomu huseníčku. Projekt se oficiálně jmenuje Multinational Coordinated Arabidopsis thaliana Genome Research Project. Zahrnuje jednak sekvencování celého genomu, jednak studium funkce všech genů a jejich hlavních interakcí. Jeho cílem je porozumět na molekulární úrovni principům uspořádání a funkce rostlinného genomu, růstu, vývoji, fyziologii a biochemii této modelové rostliny a po zobecnění i ostatních vyšších rostlin.

Sekvencování genomu *A. thaliana* by mělo být dokončeno r. 2004. Roku 1996 bylo založeno konsorcium AGI (Arabidopsis Genome Initiative), sdružující laboratoře z Evropy, USA a Japonska, které jsou

TRANSGEN PRO ODOLNOST NÍZKÝM TEPLOTÁM

V loňském roce byla v Kanadě uvolněna k polním pokusům transgenní vinná réva se zvýšenou odolností proti mrazu. Do jejího genomu je včleněn gen *A. thaliana* pro enzym superoxidodismutázy. Superoxidodismutázy katalyzují přeměnu superoxidových radikálů (O₂⁻) aktivovaného kyslíku na peroxid vodíku a kyslík. Tyto radikály vznikají v rostlinných buňkách ve zvýšené míře při stresových podmínkách, jako je mráz, sucho či zaplavení. Rostliny mají superoxidodismutázy, ale přidání dalších genů vede někdy ke zvýšení odolnosti k chladu. Zvýšení tolerance k chladu bylo dosaženo také u vojtěšky po transgenozí tímto genem a předpokládá se, že se transgen uplatní v mnoha dalších druzích kulturních rostlin.

společnými silami schopny sekvencovat desítky milionů párů bází ročně. K tomu, aby byl metodou náhodných úseků zachycen celý genom, bude potřeba asi sedminásobná redundance v sekvencování. Zatím bylo sekvencováno přibližně 60 milionů párů bází DNA, tedy přibližně polovina genomu.

Druhým důležitým aspektem je studium funkce všech genů. Běžně se vychází z mutací získaných che-

Doc. RNDr. Miloš Ondřej, DrSc., (*1940) vystudoval Přírodovědeckou fakultu UK. V Ústavu molekulární biologie rostlin AV ČR a na Biologické fakultě Jihočeské univerzity se zabývá transgenozí rostlin.

RNDr. Slavomír Rakouský, CSc., (*1948) vystudoval Přírodovědeckou fakultu UK. V Ústavu molekulární biologie rostlin AV ČR a na Biologické fakultě Jihočeské univerzity se zabývá rostlinnými explantáty a transgenozí.

Ing. Tomáš Kocábek (*1970) vystudoval obor genové inženýrství a šlechtění rostlin na Zemědělské fakultě Jihočeské univerzity. V Ústavu molekulární biologie rostlin AV ČR se zabývá inzerční mutagenézí *Arabidopsis thaliana*.

GEN PRO INICIACI TVORBY KVĚTŮ

Jeden z genů iniciace kvetení huseníčku, označovaný leafy (LFY), byl klonován a přenesen do genomu osiky. Tam podmiňoval kvetení semenáčků již prvním rokem, přestože osika za normálních okolností kvete až za 8–20 let. Tento gen je přítomen u všech dvouděložných rostlin. Vnesení dalšího genu do rostlinného genomu bude pravděpodobně snižovat minimální dobu vegetativního stadia, potřebnou k dosažení stadia generativního. Mechanismus genetické regulace kvetení byl u huseníčku popsán již dost podrobně. Jde o síť vzájemného působení genů a je velký úspěch, že se podařilo najít rozhodující gen.

Vrcholový meristém (vzrostlý vrchol) *A. thaliana* má tři diferenciální programy, které umožňují různé utváření základních opakujících se článků rostlinného těla – segmentů nodů s listy a internodií lodyhy:

- Prvním typem diferenciálního programu je tvorba přizemní listové růžice. Každý segment má velmi krátké internodium, list růžice a úžlabní pupen, který obsahuje meristém, z něhož se může vyvinout další lodyha. Listová růžice tvoří bazální část lodyhy květenství.

- Druhý typ tvoří bazální internodia květenství. Segment má dlouhá internodia, list růžice a úžlabní meristém. Z úžlabního meristému se může vyvinout lodyha s dalším stupněm úžlabních pupenů. Květenství *Arabidopsis thaliana* je složené racemické květenství, charakteristické pro celou čeleď *Brassicaceae*.

- Třetí typ segmentů jsou segmenty vlastního květenství v horní části lodyhy. Každý segment má internodium střední délky zakončené květem, a list s úžlabním pupenem mu chybí.

Existence genu Leafy byla poznána na základě homeotické květní mutace, v níž všechny větve primárního a sekundárního květenství tvoří vedlejší květenství. Pokud vzniknou terminální květy, pak se skládají jen z kališních lístků a plodolistů. Gen byl klonován a zjistilo se, že kóduje transkripční faktor, který působí pozitivní regulaci – mění meristém květenství na květní meristém. Přenesení původního nemutovaného genu transgenozí do genomů jiných rostlin podmiňuje ranější vznik květů.

mickou a radiační cestou, ale v poslední době je nejvýznamnější transpozonová mutagenese a mutagenese prostřednictvím plazmidu T-DNA Ti-bakterie *Agrobacterium tumefaciens*. Tento přírodní systém vnášení genů z bakterií do rostlin je základem techniky vytváření většiny transgenních rostlin a lze jej využít také k vytvoření mutací nového typu. T-DNA



Pestík *A. thaliana*, jehož vývoj byl pozměněn inzerční mutagenézí. Namísto dvou srostlých plodolistů se může skládat ze tří plodolistů srostlých nebo dvou zcela oddělených. Prokázalo se, že mutace byla způsobena insercí cizorodé DNA do rostlinného genomu, lze molekulárními postupy dospět až k identifikaci, zmapování a naklonování genu, odpovědného za vývoj pestíku.

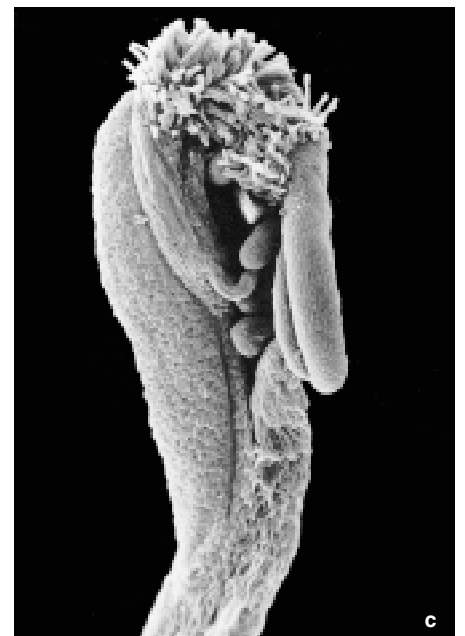
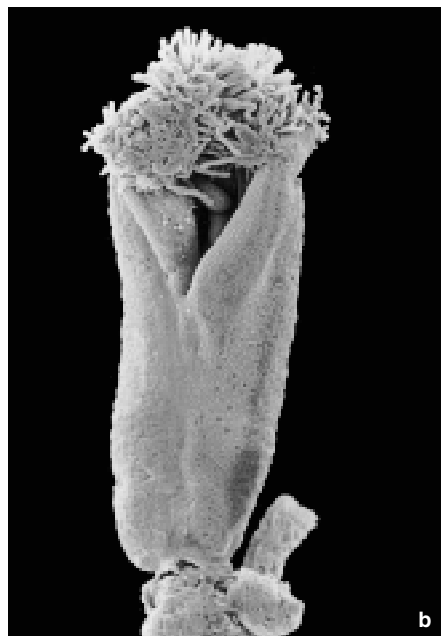
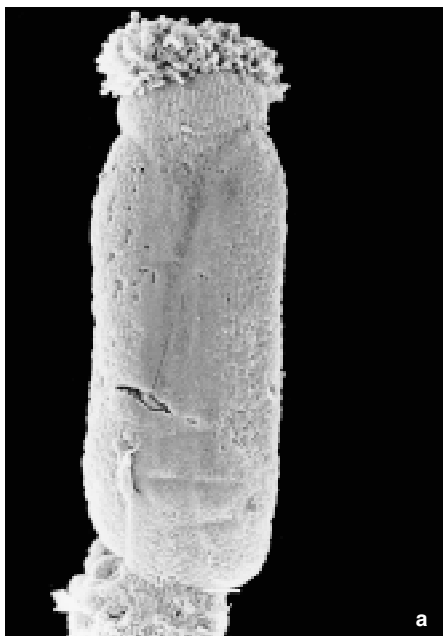
Zvětšeno 29x, snímky © T. Kocábek

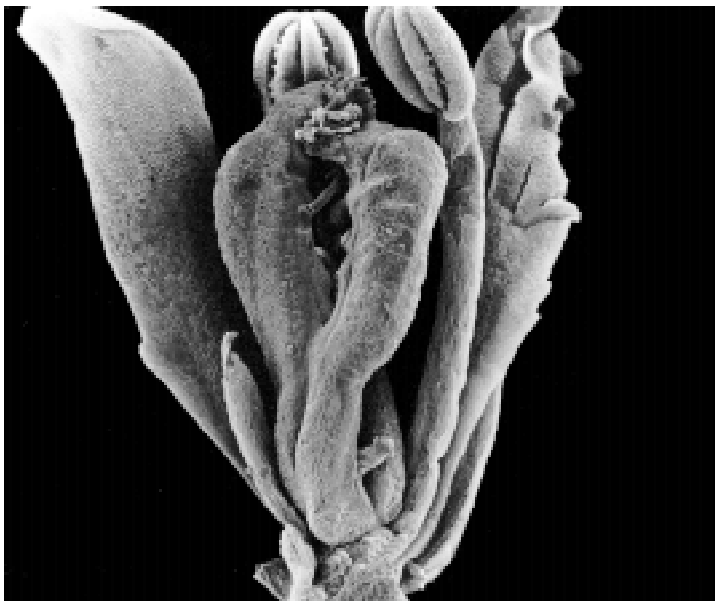
vyvolává svým začleněním do genů rostlinného genomu mutace a zároveň slouží jako značkovací úseky ke klonování mutovaných genů. K tomu, aby bylo s 95% pravděpodobností postiženo všech 20 000 předpokládaných genů huseníčku, je třeba vybudit asi 100 000 nezávislých insercí. Brzo bude i tento úkol splněn co se týče počtu insercí, ale ne co se týče počtu mapovaných a sekvencovaných genů. Všechny získané linie s insercemi T-DNA, i ty, u nichž mutace běžnými metodami zatím zjištěny nebyly, se uchovávají jako cenný zdroj informací pro další fázi studia.

Ke klonování genů lze využít i mutace získané chemickou a radiační mutagenézí, postup je však zdlohavější. Předpokládá velmi podrobné chromozomální mapy. Využívají se při tom knihovny umělých chromozomů kvasinek (YAC) nebo bakterií (BAC).

Pestík *A. thaliana* je složen ze dvou srostlých plodolistů. Inzerční mutagenézí se podařilo indukovat např. květy s plodolisty srostlými jen částečně, nebo zcela oddělenými. Častým projevem mutací bývají i chimérické orgány (na obrázku orgán plodolist-prašník), nazývané mozaiky. Molekulárněbiologickými metodami lze identifikovat mutovaný gen i jeho standardní formu, studovat jeho produkt a vývojovou regulaci exprese tohoto genu. Snímky byly pořízeny na skenovacím elektronovém mikroskopu JEOL JSM 6300.

Zvětšeno 48x, snímky © T. Kocábek





Květy huseníčku *A. thaliana* pozměněné inzerční mutagenézí. Mutace postihla vývoj prašníků a plodolistů. Zvětšeno 46x (horní obr.) a 62x (dolní obr.), snímky © T. Kocábek

Již byly dokončeny fyzikální mapy (založené na délce DNA jednotlivých chromozomů a jejich fragmentů po štěpení restrikčními endonukleázami) všech pěti chromozomů. Potvrzuje se, že hustota genů je asi 1 gen na 5 kilobází DNA. Zjištěno a analyzováno bylo přes 400 genů. Asi 90 % je zcela nových a výskyt řady z nich se u rostlin nepředpokládal. U organismu s tak malým genomem je značně překvapivý výskyt mnoha genů ve formě multigenových rodin. Obvykle však geny nejsou uspořádány ve funkčně příbuzných skupinách, často se skládají z neobvykle malých exonů (překládaných úseků) a malých intronů (nepřekládaných úseků), které jsou eliminovány na úrovni RNA). Vazbová mapa (mapa pořadí genů a molekulárních znaků) huseníčku v současné době zahrnuje více než 500 lokalizovaných genů a téměř 1000 sond DNA. Kromě toho je k dispozici asi 30 000 krátkých sekvencí bází komplementárních k nalezeným mRNA (EST). Takto je podchycena mRNA asi 10 000 genů, z nichž některé lze určit pomocí několika EST. To jsou většinou geny, jejichž transkripce nastane jen výjimečně – ve specializovaných buňkách nebo pouze za zvláštních podmínek. Značná část z nich jsou pravděpodobně regulační geny a předpokládá se, že je bude možno detegovat inzerční mutagenézí.

Na protější straně: a) Květy *Arabidopsis thaliana* mají čtyři kališní lístky, čtyři korunní lístky, šest tyčinek a pestík složený ze dvou plodolistů. Příklad mutace *Arabidopsis thaliana* indukované inzerční mutagenézí. b) Květ s pestíkem utvářeným třemi plodolisty, které tvoří pestík. Plodolisty často nesrůstají nebo jsou různým způsobem deformované, a přesto se z nich vyvíjejí plodné šesule. c) Květ s nadbytečným počtem tyčinek (sedm místo šesti). Inzercí T-DNA byl v tomto případě zasažen a inaktivován gen *SUPERMAN*, který kóduje regulační protein, bránící tvorbě nadbytečných krevních orgánů. Zvětšeno 25x, snímky © T. Kocábek

Součástí klonování genu je důkaz totožnosti klonovaného genu tím, že se zpětně vnese do genomu huseníčku, v němž byl původní gen zbaven aktivity. Takto vnesený transgen obnoví ztracenou funkci.

Důležitou součástí studia genomu huseníčku je srovnávací mapování. Porovnává se struktura celého genomu i jednotlivých genů s genomy a geny příbuzných i vzdálených rostlinných druhů. Je tu velká podobnost například s druhy rodu *Brassica*. Ukazuje se, že pořadí genů zůstává v krátkých blocích zachováno i u obilovin.

Předpokládá se, že po dokončení hlavní etapy studia genomu huseníčku budou geny této modelové rostliny (buď v původní formě, nebo různým způsobem upravené) používány ke zlepšení genomu kulturních rostlin. Kromě toho tato modelová rostlina poslouží jako vzorová a její geny budou využívány jako sondy k vyhledávání homologních genů v jiných rostlinných druzích. Z teoretického hlediska bude možno studovat vztahy v signalizačních drahách regulace genetické informace na novém základě, vyplývajícím z jednoznačné znalosti pořadí bází DNA v genech a pořadí aminokyselin v proteinech.

Studium genomu *A. thaliana* přineslo zatím větší teoretické poznatky zásadního významu. Praktické uplatnění transgenů *A. thaliana*, i když je stále v počátcích, již rovněž přineslo první nadějně výsledky. Stále častěji kupříkladu slouží jako základní zdroj genů pro zlepšování genomu (a potažmo tedy i vlastností) kulturních rostlin. Vybrané příklady jsou uvedeny v rámečcích vložených do textu. □

PRODUKCE HIRUDINU

Geny *A. thaliana* se již více způsoby uplatnily při transgenozí řepky olejné. Do genomu řepky olejné byl například včleněn chimérický gen, jehož kódující sekvence byla složena z kódujících sekvencí genů pro dva různé proteiny. První část byla z genu pro speciální protein semen *A. thaliana* a řepky – oleosin – a druhá část byla z kódující sekvence genu pro hirudin pijavky koňské (*Haemopsis sanguisuga*). Pijavky při sání krve vylučují do rány ve slinách protein hirudin a ten zabraňuje srážení krve. Tento protein by se uplatnil při komplikovaných operacích k prevenci embolií, pokud by ho byl dostatek. Protein může být syntetizován v semenech transgenní řepky olejné, kde fúzní protein oleosin-hirudin tvoří až 1% transportních proteinů. Hodnota jednoho sklizně na poli, osetém takovouto transgenní řepkou, pak několikanásobně převyšuje hodnotu pole. Oleosiny (i fúzní protein) jsou vysoce lipofilní proteiny, které se hromadí na povrchových membránách olejových tělísek v buňkách děloh semen řepky. Lze je snadno oddělit od zbytku buněčných extraktů centrifugací.

Existuje ještě řada dalších typů farmakologicky významných vzácných proteinů, o kterých se předpokládá, že je bude možno produkovat transgenními rostlinami. Není pochyb o tom, že upravené geny *A. thaliana* se uplatní při transgenozí rostlin mnoha způsoby buď přímo, nebo jako sondy pro nalezení homologních genů jiných organismů, jež pak budou po dalších úpravách využívány k transgenozí.

Plevel *A. thaliana*, který se stal modelovou rostlinou, tak slouží jako základní zdroj genů pro zlepšování genomu kulturních rostlin transgenozí.