

Význam zbytkové sexuality v rodu *Pilosella*

František Krahulec

Pilosella je charakterizována těmito vlastnostmi:

Polyploidní serie 2x-8x (*Hieracium* 2x-5x)

Velmi častá hybridizace (která ale není bezbřehá)

Velký počet rozmnožovacích systémů a jejich kombinace

Aposporická apomixe (*Hieracium* diplosporická a.)

Klonální růst

Srovnání dvou německých prací – jak se liší taxonomické koncepte.....

Počet „**basic species**“ je téměř stále stejný od konce 19. století: Nägeli & Peter (1885); Bräutigam & Greuter (2007) 20 „basic species“ s velmi malým počtem subspecií

Lippert & Meierott (2014) mají mnoho subspecií pro většinu „basic species“ (ale ne pro všechny), někdy více, než mají Bräutigam & Greuter pro Euro-Med Flora

Počet „**intermediate species**“ je také stejný pro celou střední Evropu:
Rozdíl je v počtu subspecií:
Bräutigam & Greuter nemají žádné **subspecie**
Lippert & Meierott mají **mnoho subspecií**

Reprodukční systémy v závislosti na ploidii gamet a jejich fůzi

		gamety		
		redukované	neredukované	
fůze gamet	ne	n + 0 haploidní parthenogeneze	2n + 0 somatická parthenogeneze	apomixie
	ano	n + n hybridy	2n + n hybridy n + 2n hybridy	autogamie allogamie

Autogamie - gamety pocházejí ze stejného genetického individua

Allogamie – gamety pocházejí z odlišného individua - hybridizace

Rozmnožovací systémy u rodu *Pilosella*

sexuální, cizosprašné: všechny diploidy, některé triploidy a tetraploidy, vzácně pentaploidy, hexaploidy a aneuploidy

apomixe aposporická: triploidy a všechny vyšší polyploidy a aneuploidy

sexuální, samosprašné: funguje za přítomnosti cizího pylu (mentor's effects)

haploidní partenogeneze: apomikté

Somatická partenogeneze – apomixe s. str. (agamospermie)

Zahrnuje dva procesy:

- vyhnutí se meiosi
- partenogenezi

V r. *Pilosella* je možná bez opylení – endosperm vzniká autonomně

Jednoduchým testem apomixe je seříznutí úboru před rozkvětem – pokud se vytvoří nažky, je to pokládáno za potvrzení. **Bohužel, tento důkaz neplatí zcela!! Je to test na partenogenezi**

Residuální (zbytková) sexualita fakultativních apomiktů

Suma ostatních reprodukčních způsobů než je apomixie (agamospermie)

Detekce: nejlepší způsob je kvantitativní analýza ploidie potomstva cílených hybridizací: semenáče či nažky (liší se)

My jsme velmi často používali hybridizace mezi hexaploidy a tetraploidy: z ploidie potomstva je možné jednoznačně stanovit způsob vzniku jednotlivých kategorií potomstva

Další možností je průtoková cytometrie nažek – porovnání ploidie embrya a endospermu

Hybridy mezi *P. aurantiaca* a *P. officinarum*

P. rubra - $2n + n$ (hexaploid) (*P. aurantiaca* > *P. officinarum*)

P. stoloniflora - $n + n$ hybrid (*P. aurantiaca* - *P. officinarum*)

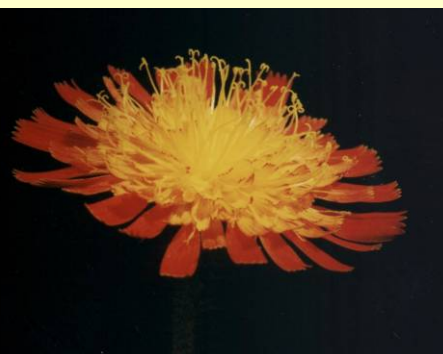
Pilosella rubra (syn. *Hieracium rubrum*, *H. chaunanthus*) hybridogenní druh, popsaný Peterem z Krkonoš



P. aurantiaca, 4x



P. rubra, 6x



P. stoloniflora, 4x



P. officinarum, 4x



Pilosella rubra

$2n=6x=54$



Pilosella officinarum

$2n=4x=36$

Kombinace redukovaných a neredukovaných gamet produkuje potomstvo pěti ploidních úrovní

oktoploid 3.39



hexaploid 88.14



trihaploid 3.95



heptaploid 0.56



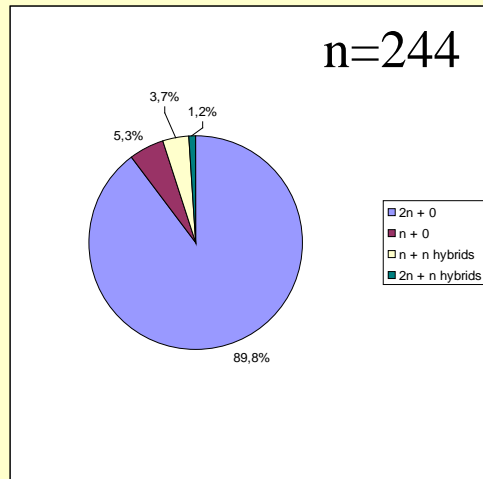
pentaploid 3.95



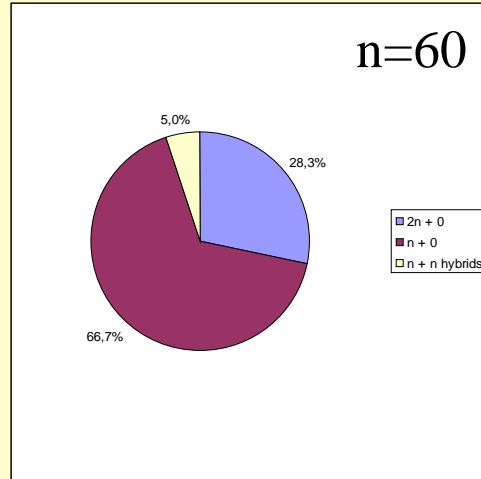
Závěr

1. Z jedné hybridizace fakultativního apomikta jako mateřské rostliny je možno získat potomstvo s různou ploidií i morfologií
2. Z chromozomových počtů semenáčků není možno usuzovat na počet chromozomů mateřské rostliny (což se používá pro velké množství druhů)

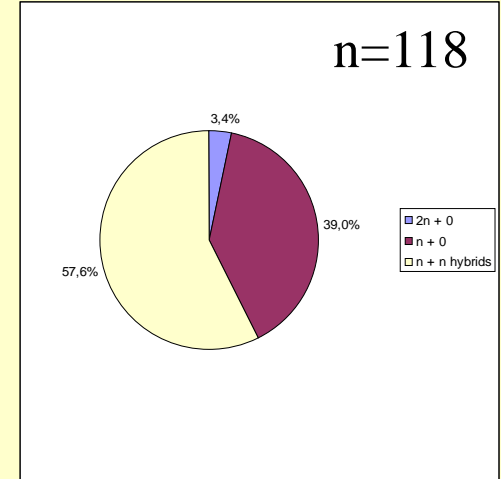
Jaká je variabilita mezi genotypy? Vše jsou hexaploidy nalezené v terénu!



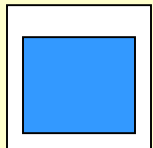
P. rubra
Krkonoše



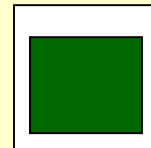
P. rubra
Šumava 756



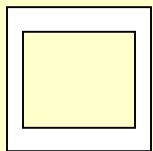
P. rubra
Šumava 549



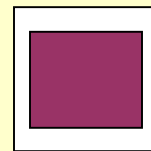
2n apomiktické
potomstvo 6x



2n + n hybridy – 8x



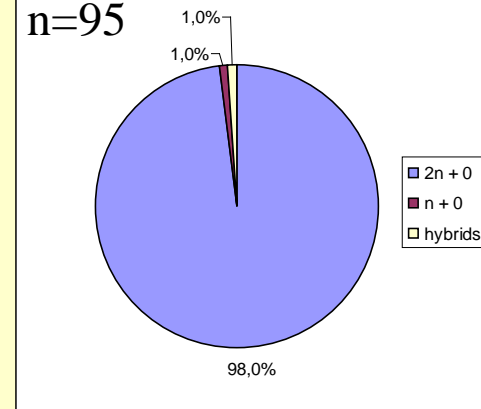
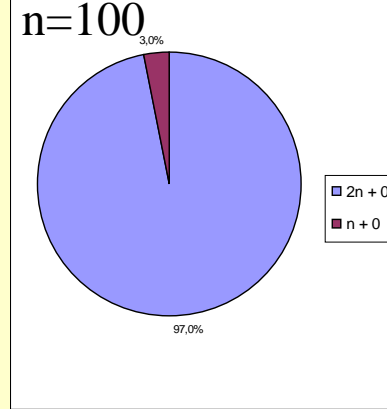
n + n hybridy – 5x



n + 0 polyhaploidy – 3x

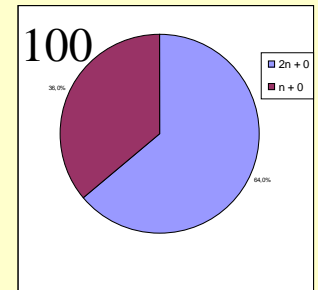
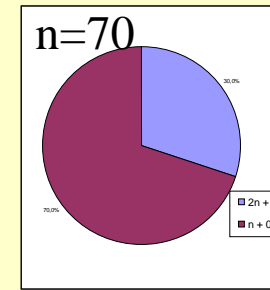
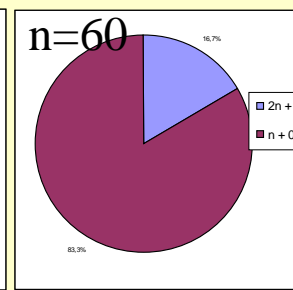
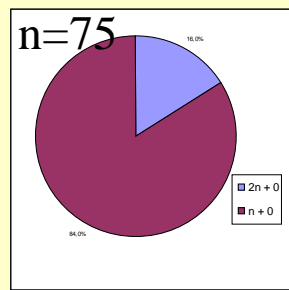
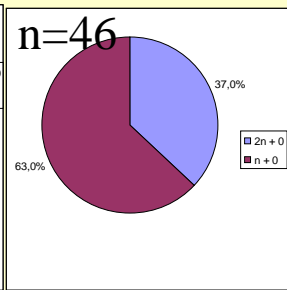
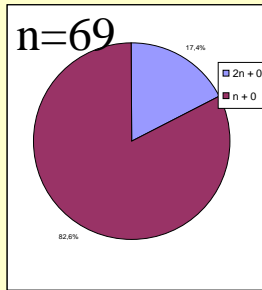
Mateřská r.
P. aurantiaca

emaskulace

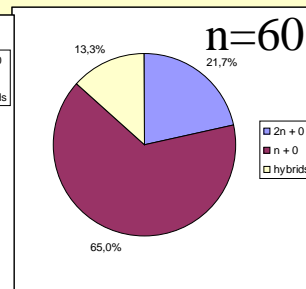
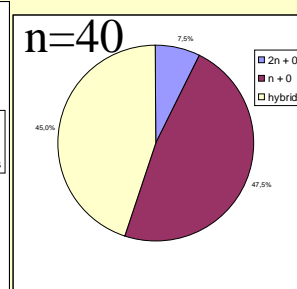
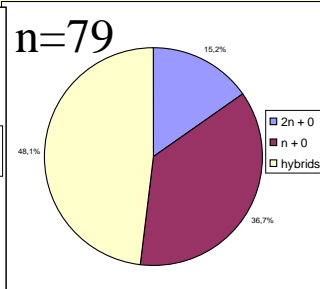
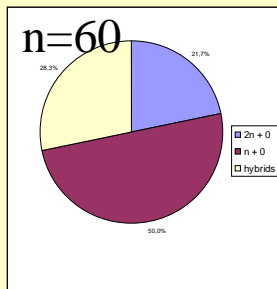
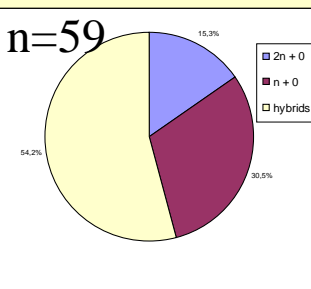


volné opylení

Struktura potomstva jednotlivých rostlin z $2n+n$ potomků křížení *P. aurantiaca* x *P. officinarum* (umělá *P. rubra*)

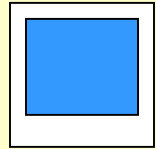


emaskulace

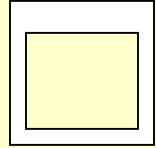


volné opylení

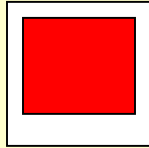
A mezi různými hexaploidními taxony?



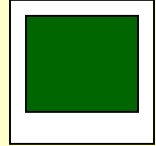
2n apomict. progeny



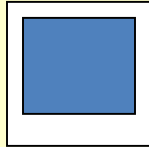
n + n hybrids



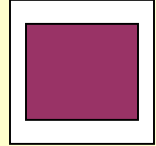
2n+2n hybrids



2n + n hybrids

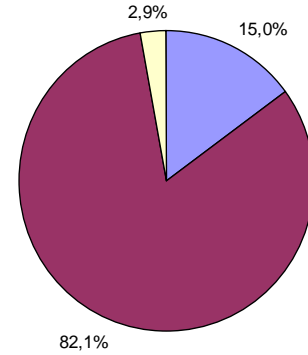


n + 2n hybrids



n + 0 polyhaploids

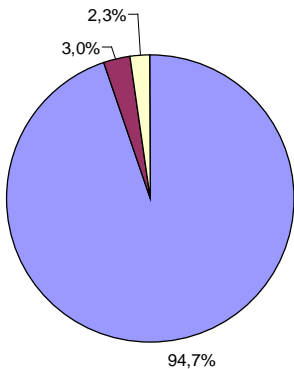
n=140



■ 2n + 0
■ n + 0
□ n + n hybrids

P. floribunda x *P. officinarum*
Šumava, 548

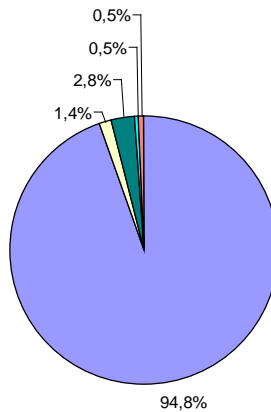
n=132



■ 2n + 0
■ n + 0
□ n + n hybrids

P. piloselliflora - Krkonoše

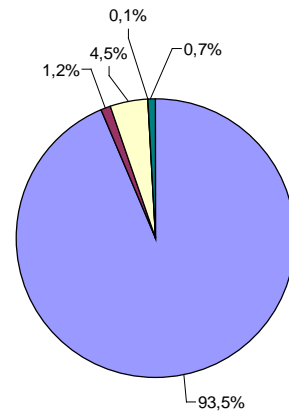
n=214



■ 2n + 0
□ n + n hybrids
■ 2n + n hybrids
■ n + 2n hybrids
■ 2n + 2n hybrids

P. officinarum – Brno 708

n=849



■ 2n + 0
■ n + 0
□ n + n hybrids
□ n + 2n hybrids
■ 2n + n hybrids

P. bauhini - Valov

3. Hybridogenní druhy a recentní hybridy se liší svou zbytkovou (residuální) sexualitou, některé z recentních hybridů mají nízký stupeň apomixe. Neexistuje důvod, proč by všechny hybridy měly být považovány za apomikty.



P. rubra

$2n=6x=54$



P. officinarum

$2n=4x=36$

Kombinace redukovaných a neredukovaných gamet produkuje potomstvo pěti ploidních úrovní

oktoploid 3.39



hexaploid 88.14



trihaploid 3.95



heptaploid 0.56



pentaploid 3.95





P. rubra

$2n=6x=54$



P. officinarum

$2n=4x=36$

...pouze heptaploidy nebyly nalezeny v přírodě

oktoploid 3.39



hexaploid 88.14



trihaploid 3.95



pentaploid 3.95

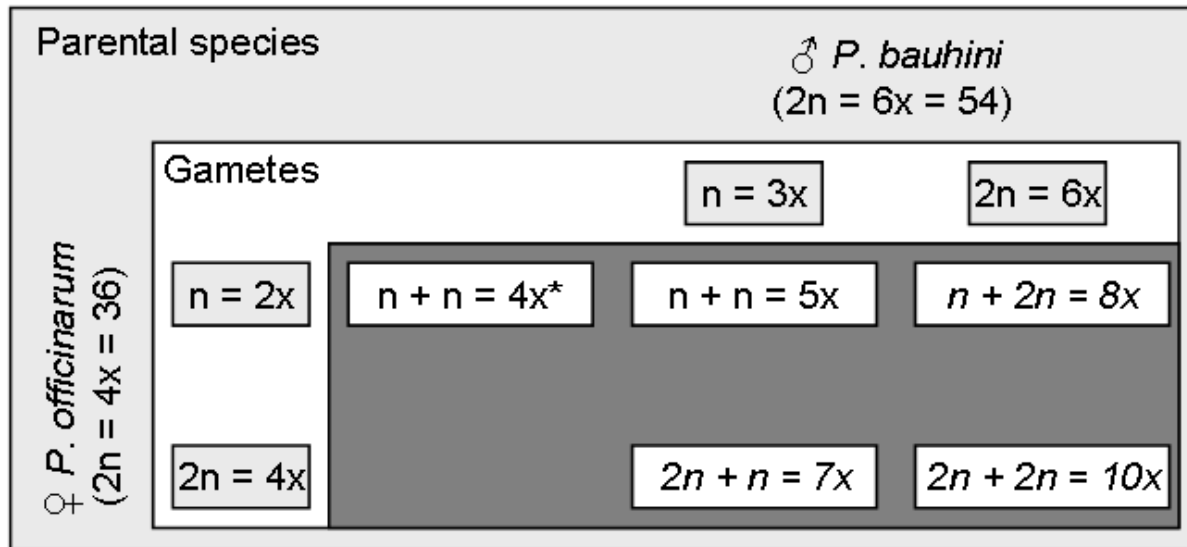
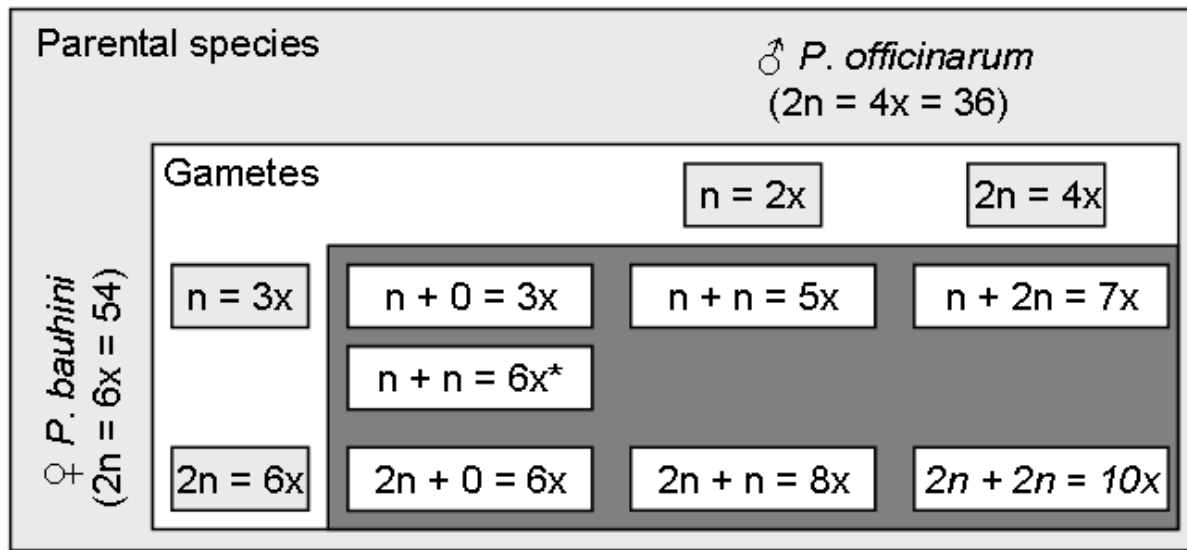


Závěr

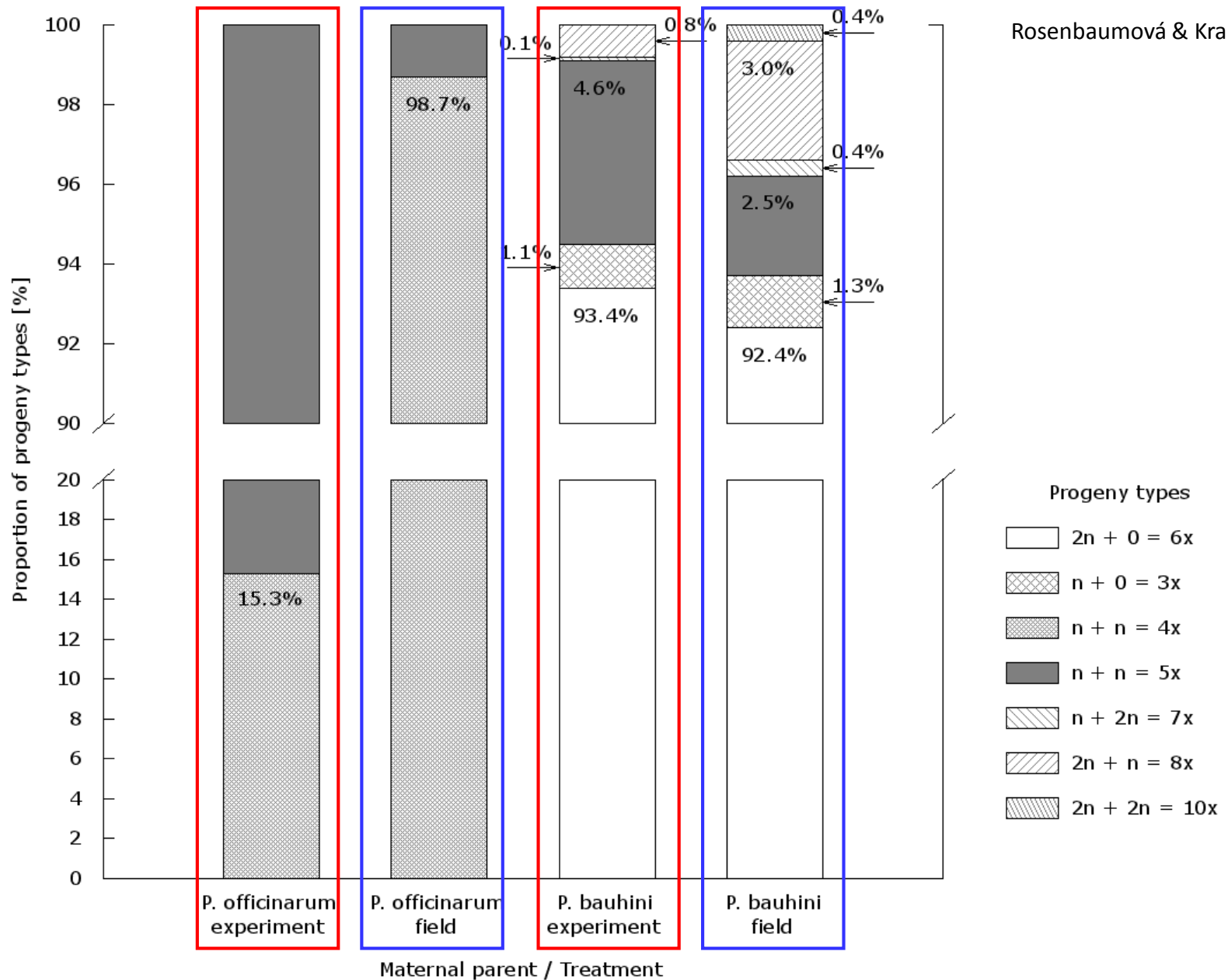
4. Téměř v každé studované populaci se podařilo najít vzácné individuální cytotypy; dá se předpokládat, že obdobné typy byly podkladem pro popsání řady taxonů, které byly v minulosti popsány a od té doby nenalezeny. Řada z těchto typů je prakticky neurčitelná bez znalosti kontextu.



Jak se liší potomstvo apomiktických a sexuálních rostlin?

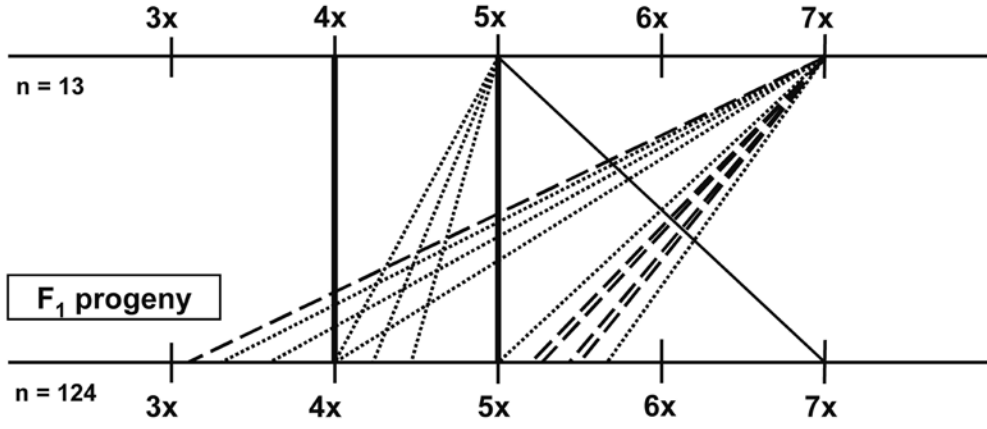
a**b**

* - Progeny from autogamy

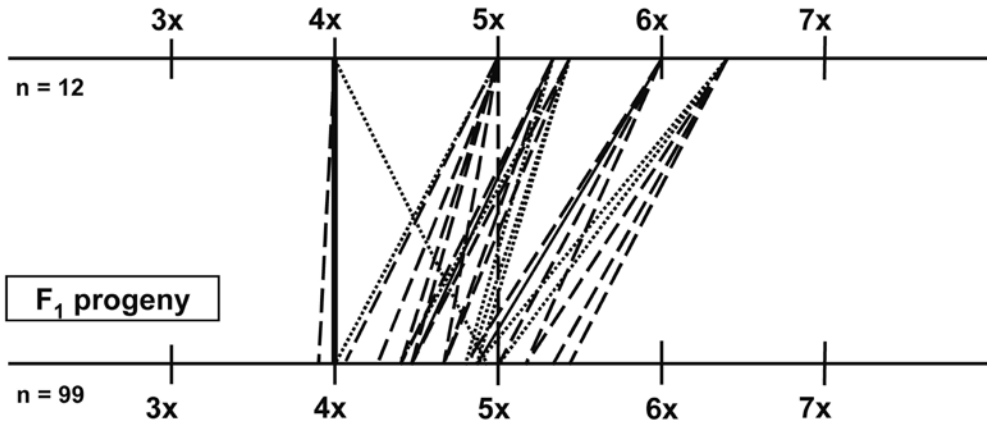


Apomiktické mateřské rostliny jsou motorem polyploidizace a zdrojem variability - v terénu i v experimentu měly apomiktické rostliny variabilnější potomstvo

Apomictic maternal plants



Sexual maternal plants



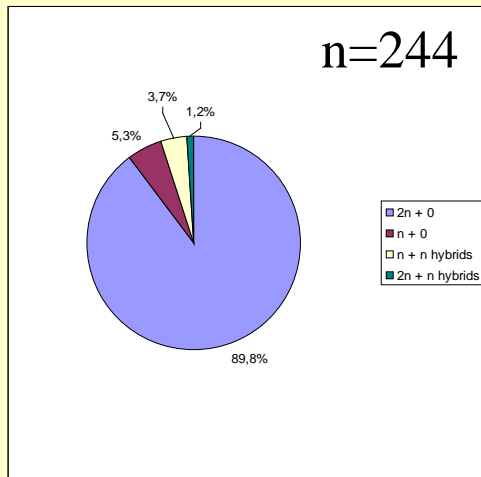
Frequency of progeny types



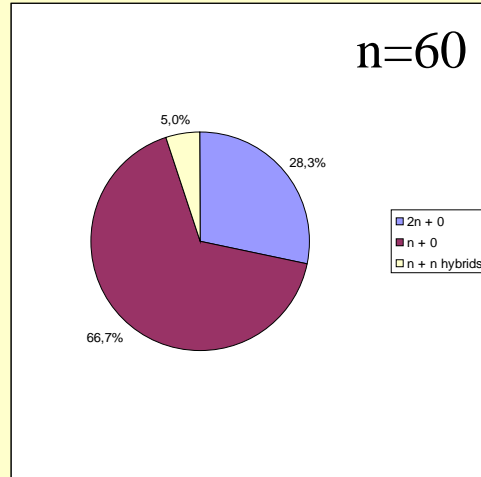
Závěr

5. Apomiktické mateřské rostliny jsou motorem polyploidizace a zdrojem variability - v terénu i v experimentu měly apomiktické rostliny variabilnější potomstvo než sexuální mateřské rostliny

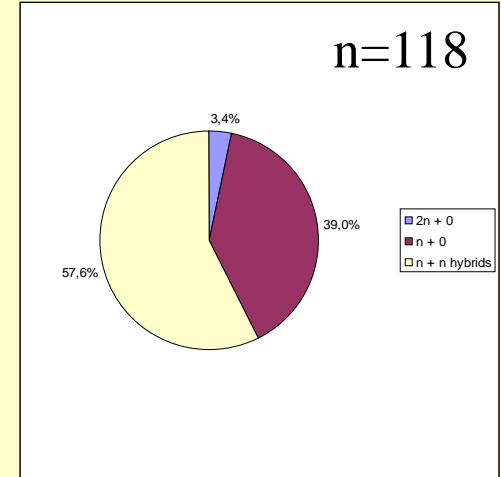
Struktura potomstva populace v Krkonoších a jednotlivých rostlin ze Šumavy



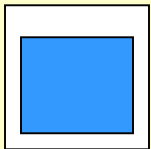
P. rubra
Krkonoše



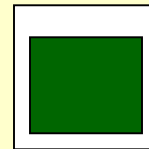
P. rubra
Šumava 756



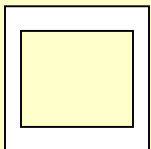
P. rubra
Šumava 549



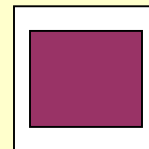
2n apomiktické
potomstvo 6x



2n + n hybridy – 8x



n + n hybridy – 5x



n + 0 polyhaploidy – 3x



Trihaploidní rostlina z potomstva *P. rubra*: nalezená v terénu (nalevo) a rostlina získaná z potomstva od stejné mateřské rostliny v zahradě

Jaký je genový tok v populacích apomiktů a sexuálů?

Studium dvěma způsoby:

- detailní analýza struktury populací a srovnání chloroplastových haplotypů
- analýza potomstva vznikajícího v přírodě

apomiktische
polyploide Art

Hybride mit variablem
Reproduktionssystem
aurantiaca>officinarium

sexuelle Hybride
aurantiaca-
officinarium

Farbvarianten-Mischung
sexueller Hybriden
aurantiaca<officinarium

sexuelle
polyploide Art

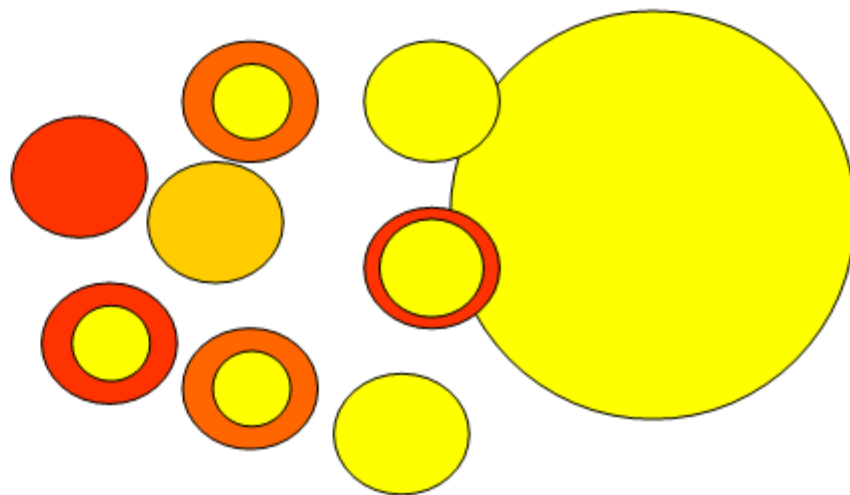
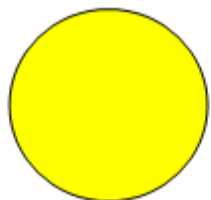
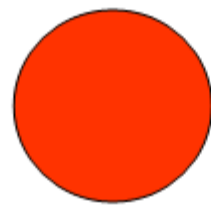
P. aurantiaca
 $2n=4x=36$
AAAA

P. rubra
 $2n=6x=54$
AAAAOO

P. stoloniflora
 $2n=4x=36$
AAOO

$2n=4x=36$

P. officinarum
 $2n=4x=36$
OOOO



Apomiktický
polyploid

Apomiktický
polyploid - hybrid

Směs apomiktických,
sexuálních a
sterilních typů

Sexuální
polyploid

P. floribunda

P. iserana

P. piloselliflora

P. officinarum

P. bauhinii

P. leptophyton

P. brachiata

P. officinarum

P. aurantiaca

P. rubra

P. stoloniflora

P. officinarum

P. polymastix

P. melinomeles

P. officinarum > *polymas.*

P. officinarum

Jaký je genový tok v populacích apomiktů a sexuálů?

Studium dvěma způsoby:

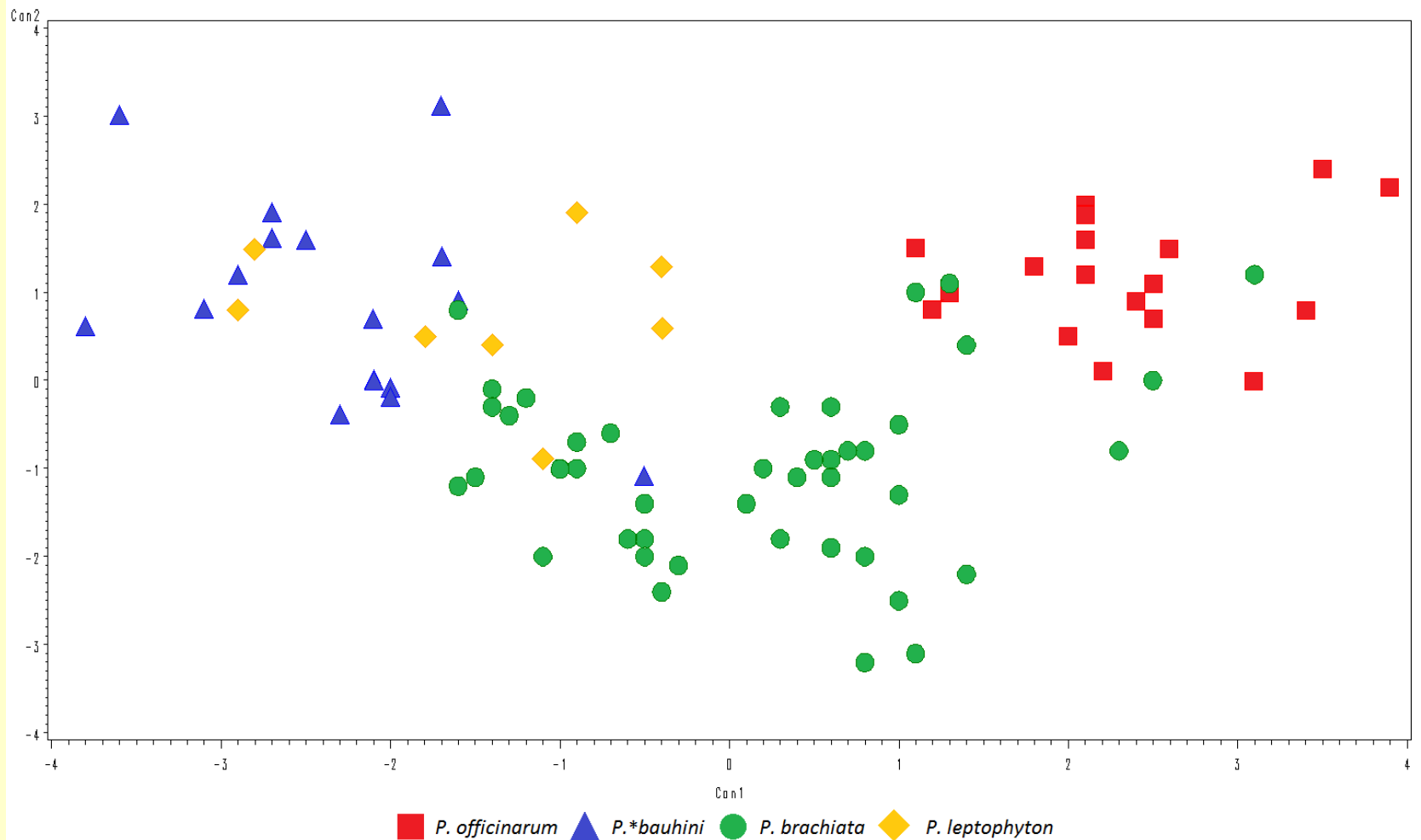
- detailní analýza struktury populací a srovnání chloroplastových haplotypů
- **analýza potomstva vznikajícího v přírodě**

Morfometrická studie mateřských rostlin a potomstva

- populace Vysočany
- hybridní roj *P. officinarum* (4x - sex)
a *P. *bauhini* (4x, 5x, 6x, 7x - apo)
- semena ze 79 rostlin
→ 224 jedinců
- 21 znaků - PCA, CDA



Diskriminační analýza rostlin z hybridního roje ve Vysočanech – mateřské rostliny



Diskriminační analýza - potomstvo mateřských rostlin z téhož hybridního roje pomocí funkce získané z mateřských rostlin

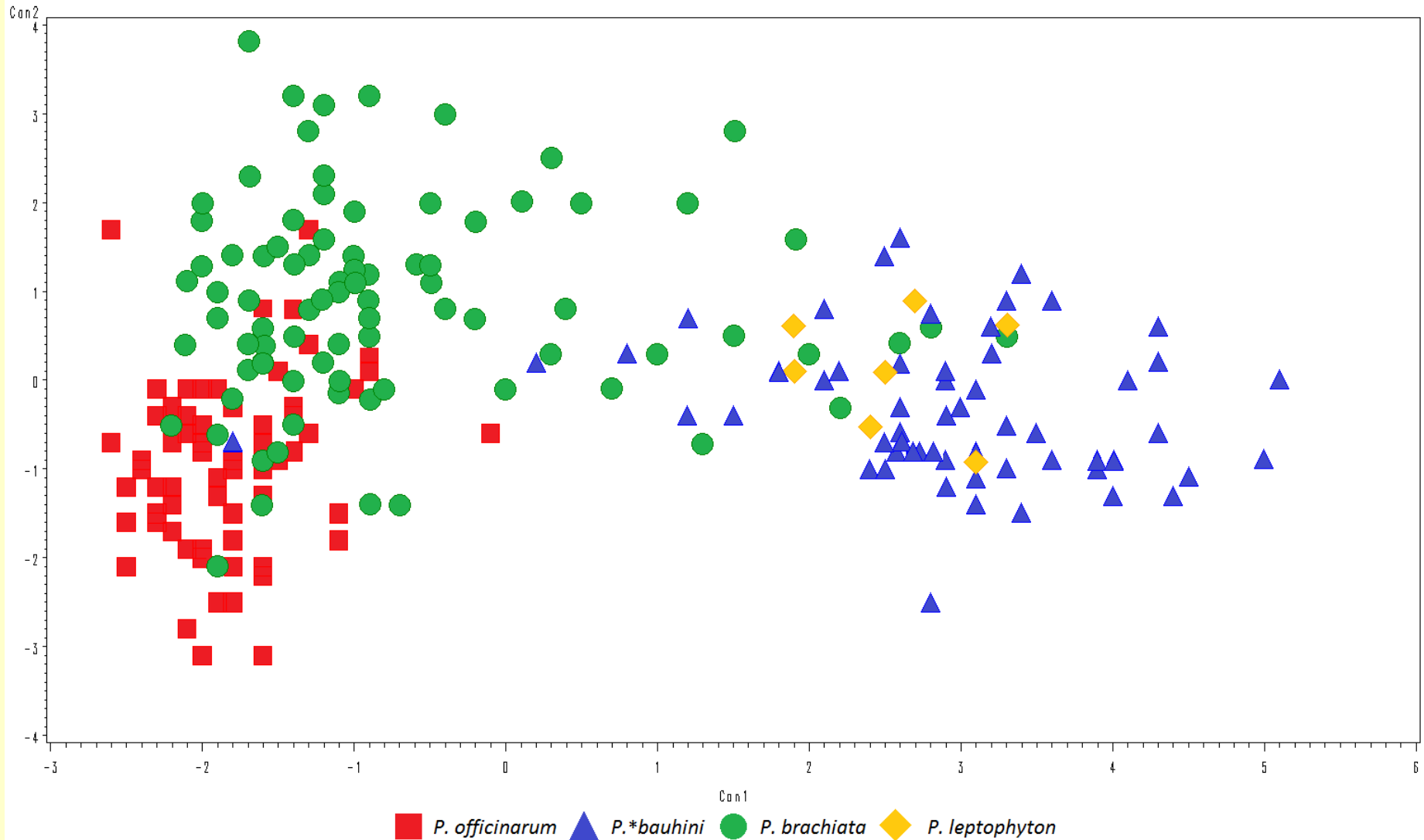


Table 3 Number of filial generation specimens with respect to the determination of mother plants (according to CDA, 21 characters used). Total – total number of analyzed individuals

Progeny of	Determined as				
	<i>P. officinarum</i>	<i>P. brachiata</i>	<i>P. leptophyton</i>	<i>P. *bauhini</i>	Total
<i>P. officinarum</i>	45 (62.5%)	22 (30.6%)	5 (6.9%)	0	72
<i>P. brachiata</i>	42 (48.3%)	36 (41.4%)	2 (2.3%)	7 (8%)	87
<i>P. leptophyton</i>	0	1 (14.3%)	0	6 (85.7%)	7
<i>P. *bauhini</i>	0	2 (3.5%)	10 (17.5%)	45 (78.9%)	57

Jaký je osud jednotlivých produktů křížení?

$n+n$ hybridy se obvykle dále účastní hybridizace

Polyhaploidy – role není známa; určitě v populacích rostou, ale jejich detekce je téměř nemožná: neexistuje exaktní test k jejich určení.

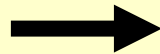
Jejich proporce v potomstvu je hodně variabilní, 0.4-84%

V terénu jsme našli rostliny, které byly pravděpodobně polyhaploidy, pouze 2x.

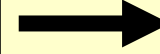
Při pěstování v zahradě byla nalezena zcela nová cesta tvorby nových genotypů u apomiktů: autonomní cyklus **polyploid – polyhaploid – polyploid**; jeho role je neznámá, mohou se tak tvořit rostliny se zcela unikátní morfologií.

Polyhaploidy mohou zdvojit své chromozomy

Heterozygotní
polyploid



Polyhaploid



Homozygotní
polyploid

Frekvence tohoto jevu v terénu není známa, v experimentálních podmínkách byla 10^{-4}

Tímto způsobem mohou vznikat zcela nové genotypy

Ty mohou mít u hybridogenních druhů zcela nové kombinace morfologických znaků.
Prakticky jsou neurčitelné.

Pilosella aurantiaca

Tetraploid plant



dihaploid



new tetraploid genotype





**HERBARIUM OF INSTITUTE OF BOTANY
 ACADEMY OF SCIENCES, CZECH REPUBLIC / PRA
 No.**
Hieracium rubrum Petz.
 Generated by haploid parthenogenesis in hexaploid
 maternal plant *H. rubrum* pollinated with *H. pilosella*.
 Locality: Experimental garden of the Institute of
 Botany, Průhonice, Czech Republic.
 Habitat: originated in open field.
 Collector: B. Brouhařová Date: 27. 6. 2003.
 Number: 191 (= 978) + P1 816.
 Notes: $2n = 3x$ according to flow cytometry (a
 tetraploid).



**HERBARIUM OF INSTITUTE OF BOTANY
 ACADEMY OF SCIENCES, CZECH REPUBLIC / PRA
 No.**
Hieracium rubrum Petz.
 Generated by haploid parthenogenesis (from a
 hexaploid maternal plant *H. rubrum* ♀ 81) followed
 by chromosome doubling of the unisexualized
 tetraploid plant 191 I.
 Locality: Experimental garden of the Institute of
 Botany, Průhonice, Czech Republic.
 Habitat:
 Collector: A. Kratochvílová and F. Kratochvíl
 Date: 8. 7. 2002.
 Number: 191 I (a) (= 10)
 Notes: $2n = 4x$ according to flow cytometry.

$2n + n$ hybridy (hexa-, hepta- and oktoploidy) mají variabilní složení potomstva, produkují vysokou proporcí polyhaploidů

Na lokalitách se udržují pravděpodobně pouze klonálním růstem.

Polyploidy s vyšším počtem chromozomů než oktoploidním byly vícekrát nalezeny v experimentech, ale rostoucí v přírodě ne, pouze jako nažky, ze kterých byly vypěstovány vysoce polyploidní rostliny.

Role apomiktů: shrnutí

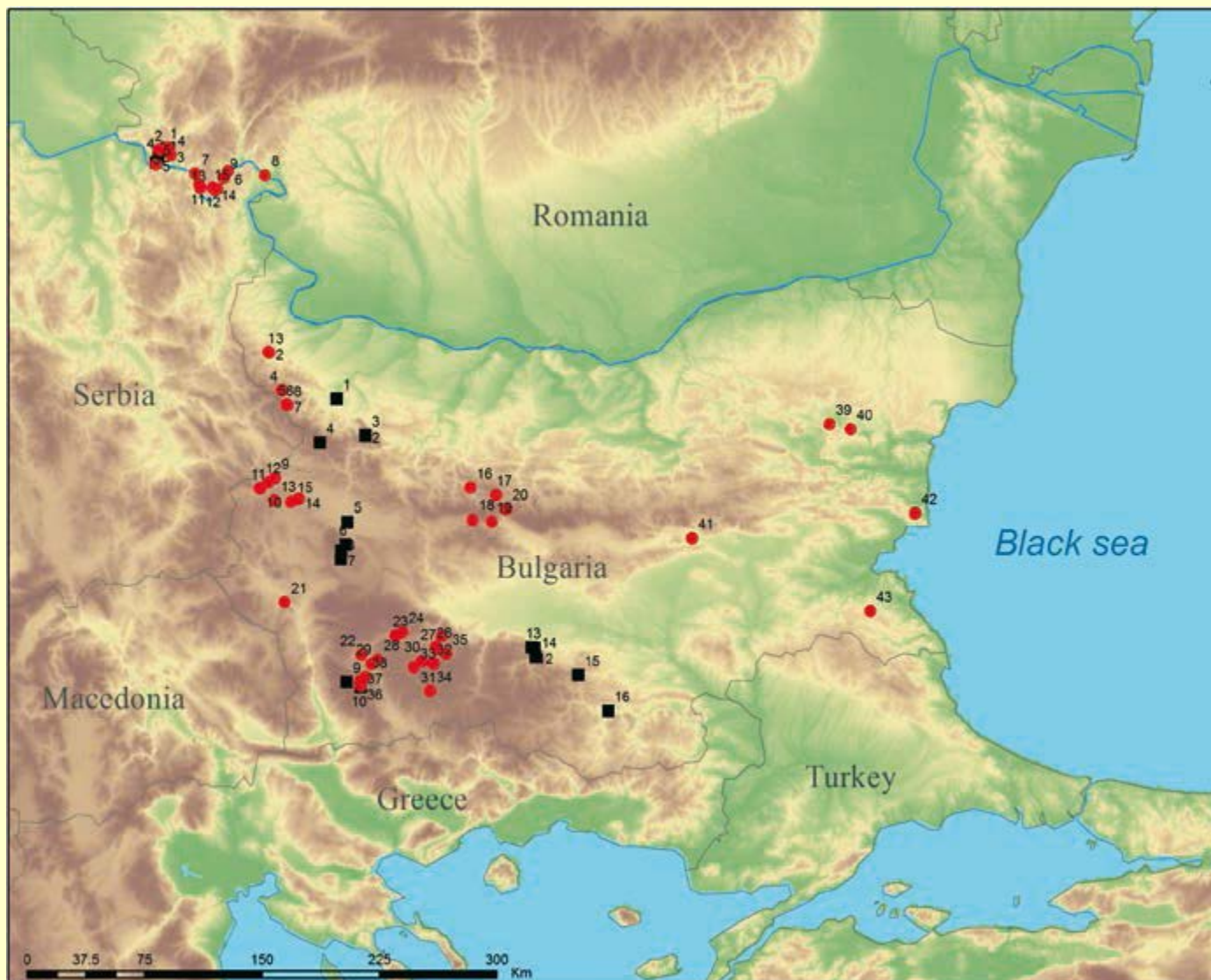
- účastní se hybridizace jako dárci pylu i jako mateřské rostliny

- jsou motorem polyploidizace, produkují mnohem častěji než sexuální rostliny neredukované gamety

- introgresí slouží jako zdroj genetického materiálu pro sexuální typy

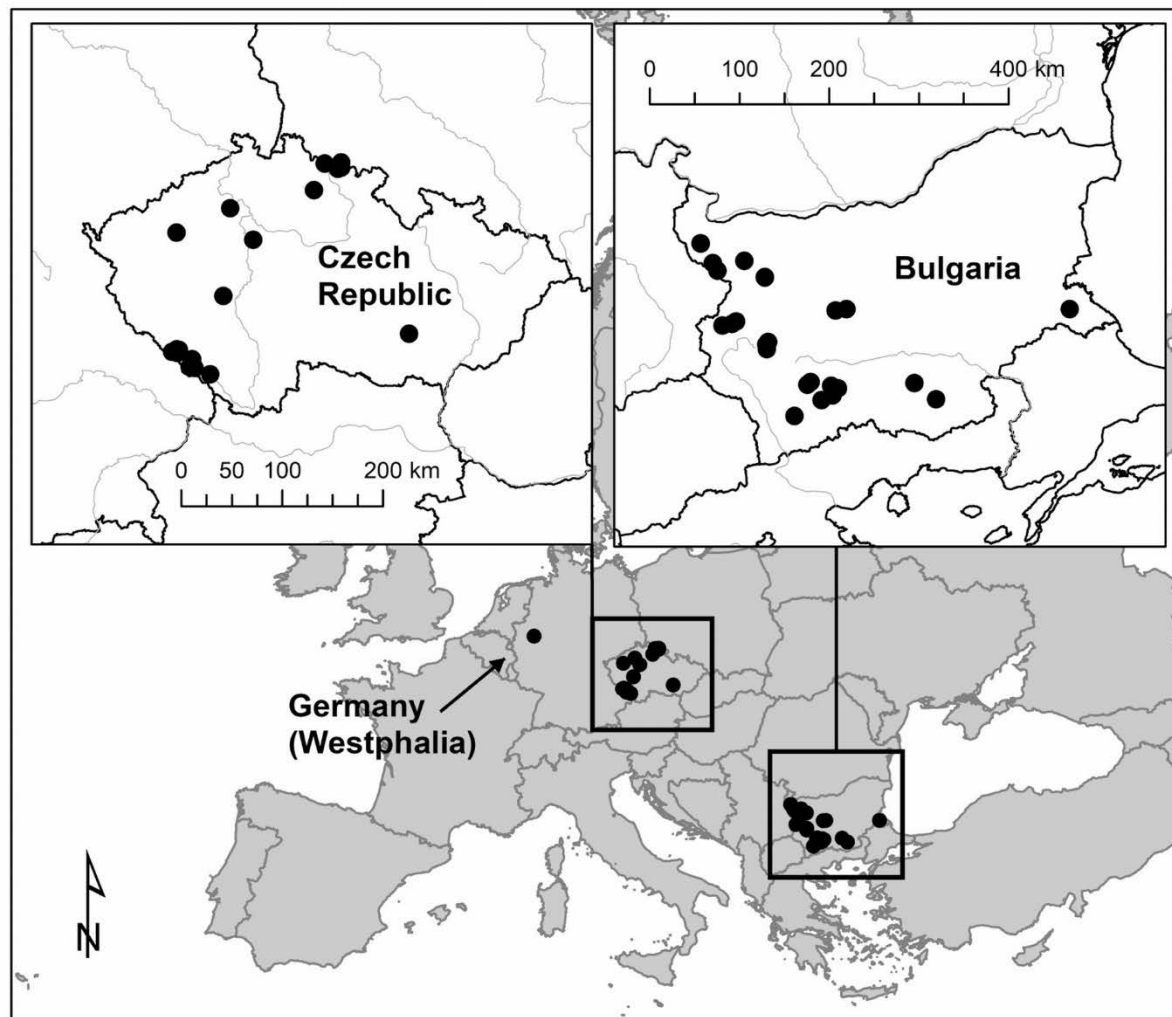
- mohou být i zdrojem formování zcela nových genotypů cestou polyhaploidů a zdvojením jejich genomu

Srovnání populací střední Evropy a Bulharska



45 populací v Bulharsku a 14 v rumunském Banátu

Srovnání populací střední Evropy a Bulharska



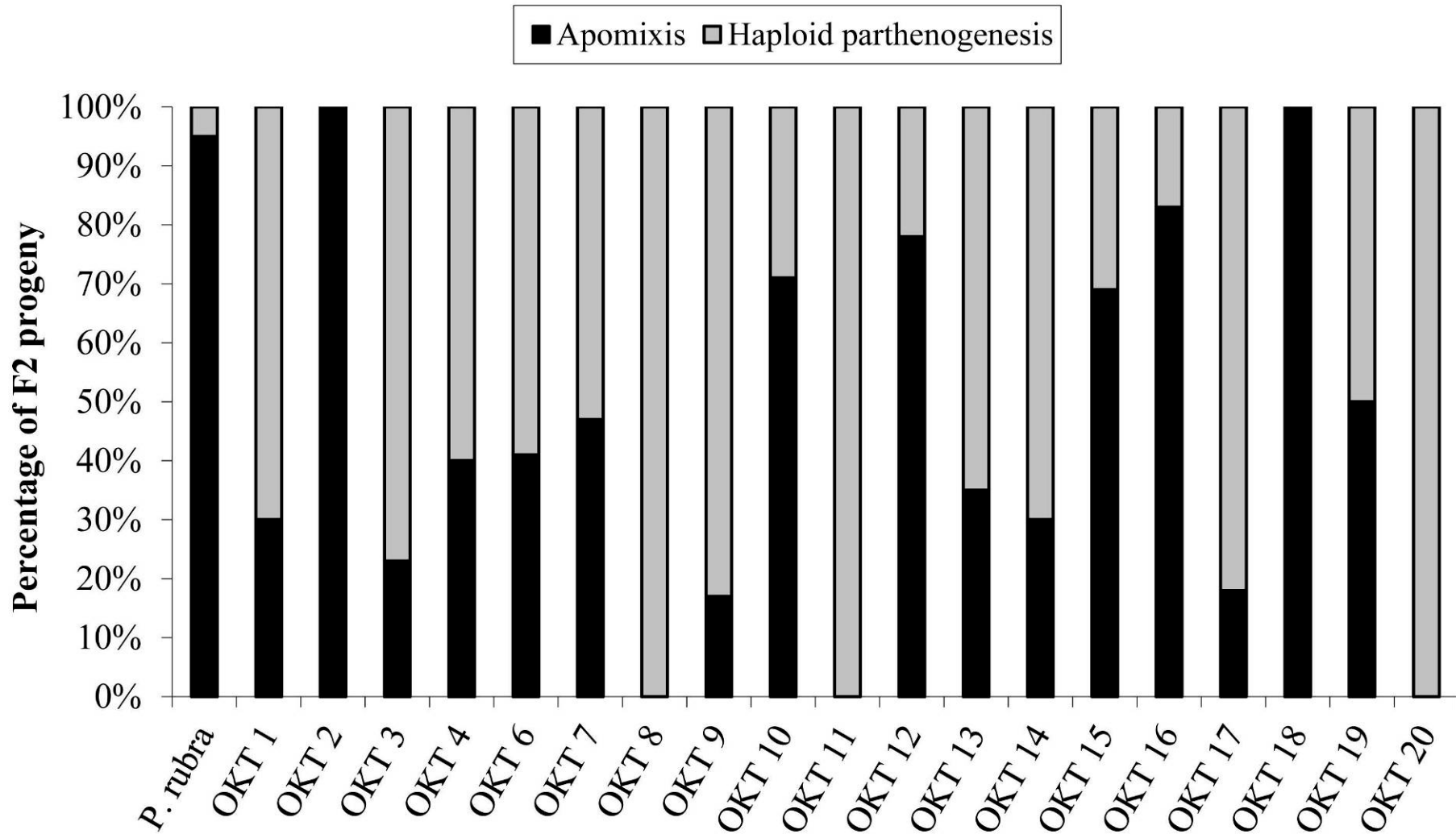
Srovnání populací střední Evropy a Bulharska

1. V Bulharsku je v populacích daleko častější zastoupení diploidů; ty se ale s vyššími ploidiemi kříží vzácně.
2. V Bulharsku jsme nenalezli žádné stabilizované hybridogenní typy, které by se dále účastnily hybridizace. Vždy šlo jen o recentní hybridy.
3. Také jsme téměř nenalezli žádné $2n + n$ hybridy.
4. Ve střední Evropě je velké množství stabilizovaných hybridogenních apomiktických typů, které se dále kříží a v populacích se pravidelně nacházejí minoritní cytotypy vzniklé díky zbytkové sexualitě apomiktů.
5. Z uvedených důvodů jsou populace ve střední Evropě mnohem více komplikované než na Balkáně.

Otevřené problémy

Jak často vznikají typy s vysokým stupněm apomixe?
Jak se apomixe dědí?

Variation within octoploid progeny of hexaploid *P. rubra* (unreduced gamete) and tetraploid *P. officinarum* (reduced gamete)



Note: all these plants have the complete genome of hexaploid apomictic *P. rubra* and differ only in the gametes they got from sexual *P. officinarum*.

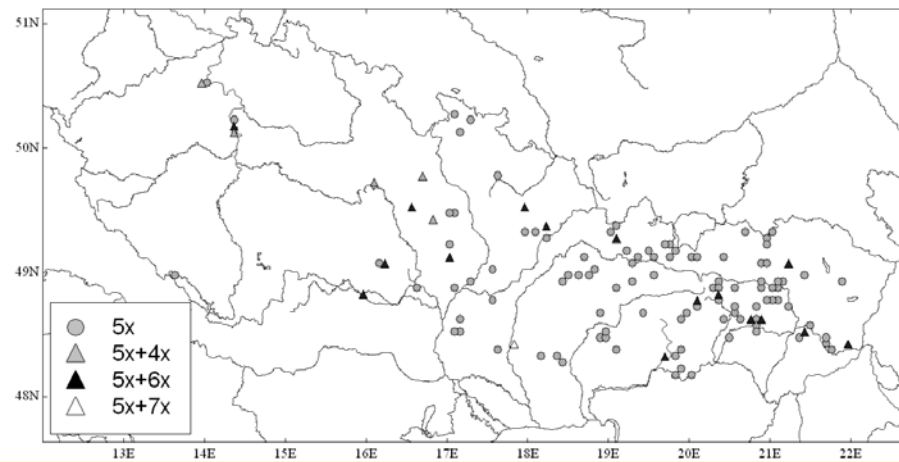
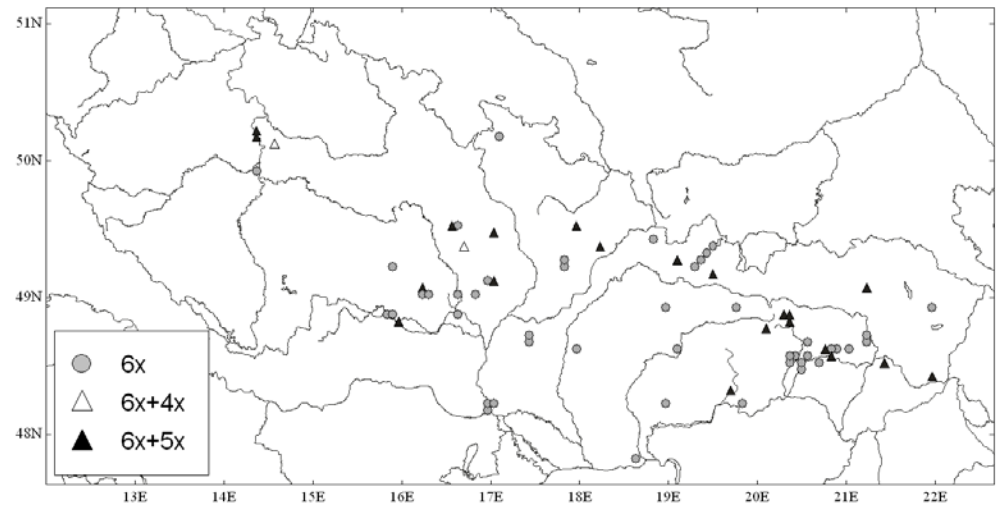
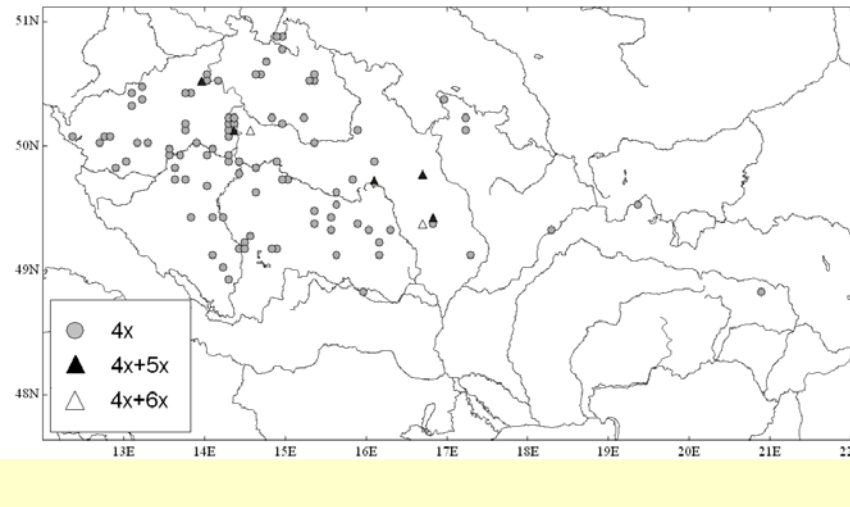
Skutečnosti důležité pro rozumné taxonomické řešení

1. Hybridizace je častá, ale jen někde a někdy

2. Reprodukční systém je známý pro omezený soubor taxonů; jsem si jistý, že mnoho z nich nejsou apomikty, ale sexuální, sterilní či semisterilní hybridy

3. Kombinace sexuálních a apomiktických biotypů do jednoho druhu (sexuální typy mají odlišné pattern variability, ale často byly hodnoceny jako apomikty)

Distribution of *P. officinarum* cytotypes in Slovakia and Czech Republic



Analysis of penta- and hexaploid populations in S Slovakia showed (unpublished results):

- 5x – many genotypes even within one population
- 6x – lower variation, genotypes differ among populations

Skutečnosti důležité pro rozumné taxonomické řešení

1. Hybridizace je častá, ale jen někde a někdy

2. Reprodukční systém je známý pro omezený soubor taxonů; jsem si jistý, že mnoho z nich nejsou apomikty, ale sexuální, sterilní či semisterilní hybridy

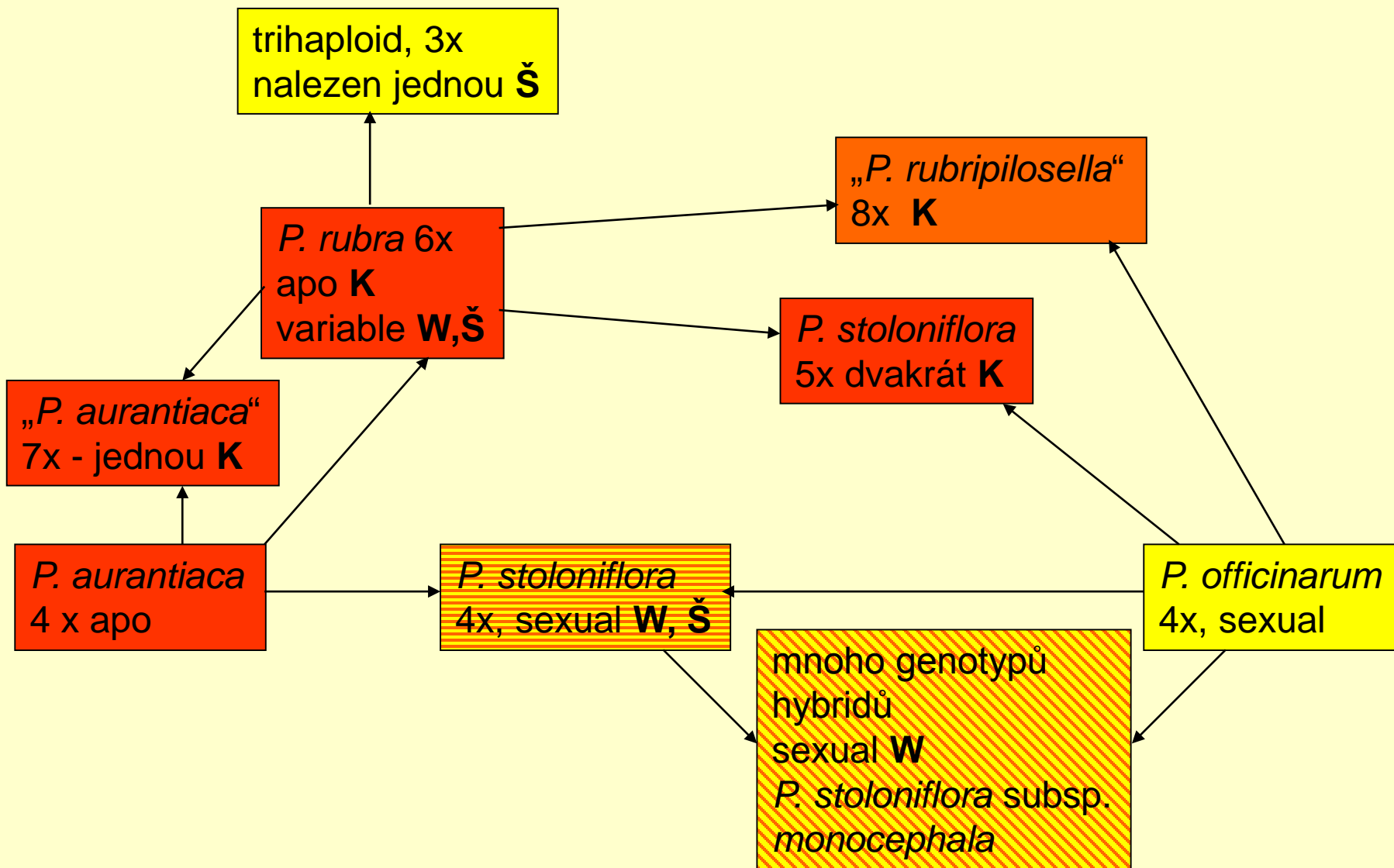
3. Kombinace sexuálních a apomiktických biotypů do jednoho druhu (sexuální typy mají odlišné pattern variability, ale často byly hodnoceny jako apomikty)

4. Sexuální druhy zachycují geny introgresí od ostatních druhů; jejich variabilita pak závisí na těch ostatních druzích

5. Produkce různých kategorií hybridů jednou hybridizací, individuální typy

6. Pattern hybridizace je odlišné v různých územích

Výsledky křížení mezi *P. aurantiaca* and *P. officinarum* nalezené ve třech územích: Hagen (Westfálsko) – **W**; Krkonoše – **K**; Šumava - **Š**



Hybridizace je velmi odlišná v různých územích – srovnání Šumavy a Krkonoš

P. floribunda – *P. glomerata*

Šumava: hybridizace probíhá obousměrně, mnoho hybridních genotypů, hranice mezi oběma druhy rozmazané

Krkonoše: nalezena jen jedna hybridní populace

P. aurantiaca – *P. floribunda*

Šumava: mnoho genotypů hybridů, dvě lokality

Krkonoše: žádné hybridy

P. floribunda - *P. officinarum*:

Šumava: pouze lokální recentní hybridy

Krkonoše: stabilizovaný hybridogenní druh (*P. iserana*), mnoho cytotypů a genotypů *P. piloselliflora*; některé apomiktické, popsané z minulosti jako subspecie

Počet taxonů uváděných z Krkonoš

P. officinarum – sexual, tetraploid

Zahn - 4 subspecie, Schneider – 18 subsp.

P. aurantiaca – apomictic, tetra- and pentaploid, 1 genotyp per ploidy

Zahn – 4 subspecie, Schneider 3 subsp.

P. floribunda – tetraploid, apomictic, 2 velmi blízké genotypy

Zahn - 3 subsp., Schneider 4 subsp.

Taxonomické koncepty v rodu *Pilosella*