

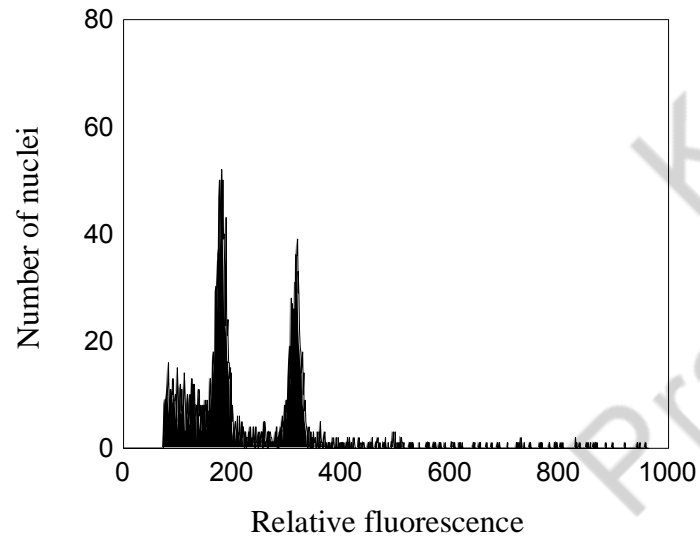
Jak přispěla průtoková cytometrie ke studiu chráněných a ohrožených druhů rostlin v posledních desetiletích?

Petr Vít a spol.

Botanický ústav AVČR Průhonice, oddělení evoluční biologie rostlin
ČZU Praha, Fakulta životního prostředí, katedra ekologie

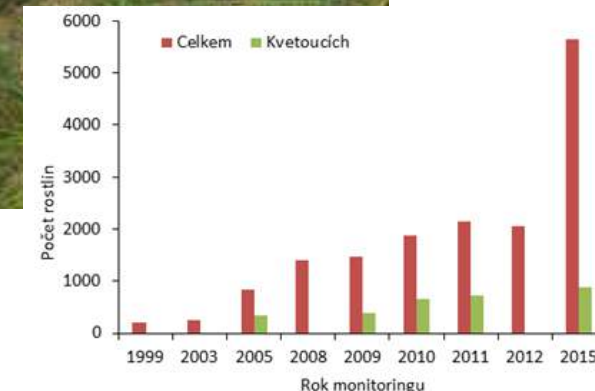
Jak jsem začal cytometricky studovat vzácné rostliny?

18.10.2003, 14:30 SELČ – výstup na vrch Lovoš v rámci výjezdního zasedání oddělení cévnatých rostlin katedry botaniky PŘF UK



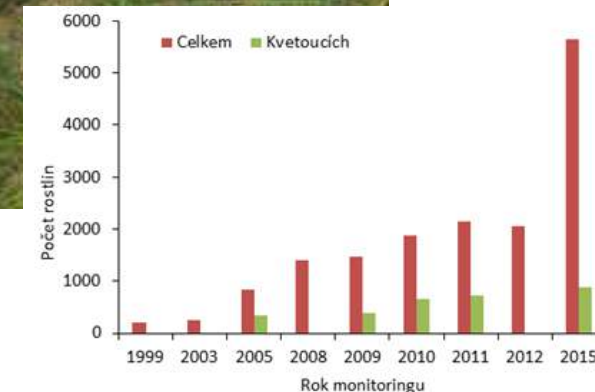
Proč studovat vzácné druhy rostlin cytometricky?

- současná druhová ochrana vychází víceméně z **tradičních postupů**
- ochranáři mají značně svázané ruce zákony (např. přehodnocování zařazení druhů do kategorií je značně složitá procedura)
- ochranáři mají zájem o výsledky výzkumu, ale **vlastní výzkum** neinicují (nedostatek času, lidí a financí)
- výzkum suplován vysokými školami a výzkumnými institucemi a vázán na národní a evropské grantové agentury



Proč studovat vzácné druhy rostlin cytometricky?

- Výzkum vzácných druhů by měl být **efektivní** (rozumný poměr nákladů a výstupů)
- Zahrnutí palety **recentně používaných metod** (tradiční i moderní)
- Základní vhled do problematiky mnohdy s pomocí **jednoduchých metod** (morfometrika, průtoková cytometrie, ekologické experimenty) – i drobná, rychlá a levná studie mnohdy odhalí problematické jevy v populacích
- Detailní studie pomocí **moderních metod** (genetická analýza v kontextu příbuzných druhů na (středo)evropské škále)
- Finální rozhodnutí co ještě stojí za to chránit nechat na ochranářích



Jaké modelové otázky s ochranářským nádechem můžeme řešit pomocí průtokové cytometrie

1) identita taxonů

- 1) rozeznávání morfologicky blízkých či kryptických taxonů
- 2) zhodnocení druhové příslušnosti
- 3) vymezení linií vhodných pro ochranu

2) zhodnocení míry hybridizace vzácných taxonů s taxony příbuznými

- 1) hybridizace - lepší případy kdy není tolik nebezpečná
- 2) hybridizace - horší případy kdy vyloženě ohrožuje

3) zhodnocení reprodukčních mechanismů

Ke každému tematickému okruhu lze najít několik studií, kde cytometrie opravdu významně přispěla k vyřešení kladených otázek

1) rozeznávání morfologicky blízkých či kryptických taxonů

- lekníny v ČR – *Nymphaea alba*, *N. candida*, *N. × borealis*
- odlišný počet chromosomů – odlišná velikost genomu
- intermediární hybrid *N. × borealis* (1.8% jedinců) a hybridi s účastí neredukovaných gamet
- přítomnost kultivarů (9 lokalit kde dříve udávány původní druhy)

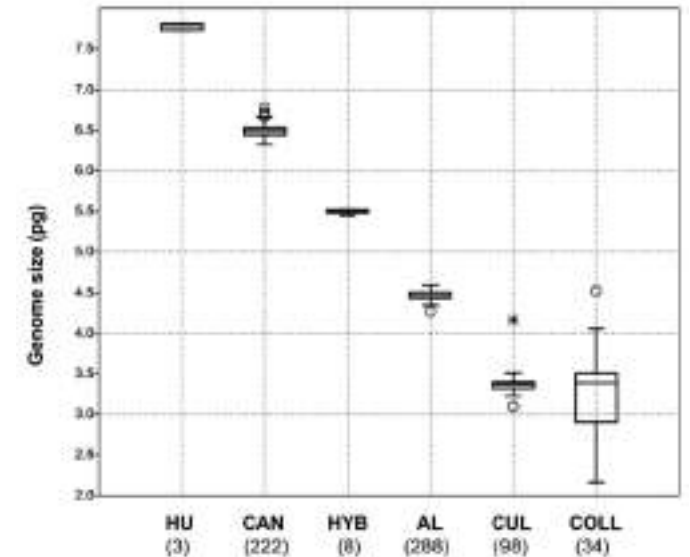


Fig. 3 – Box-and-whisker plots of the variation in 2C-values of six groups of *Nymphaea* samples, corresponding to *N. alba* (AL), *N. candida* (CAN), two types of interspecific hybrids that originated via two reduced gametes (HYB) and unreduced gametes of *N. candida* (HU), cultivars from natural habitats (CUL) and cultivars from a garden collection (COLL). Number of individuals analysed is given in parentheses.

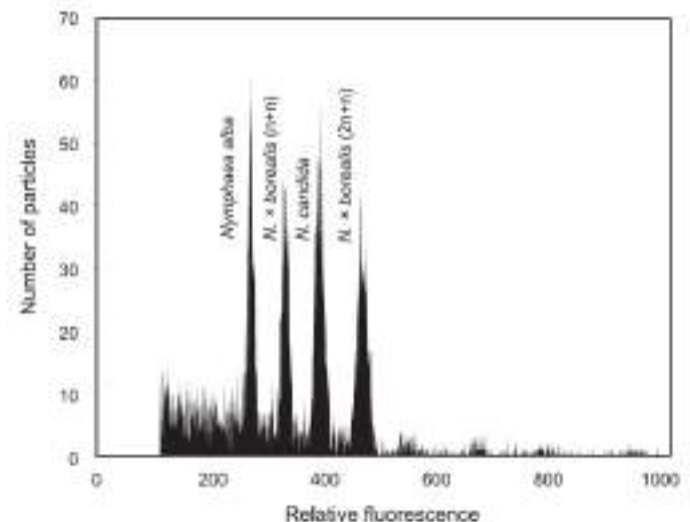
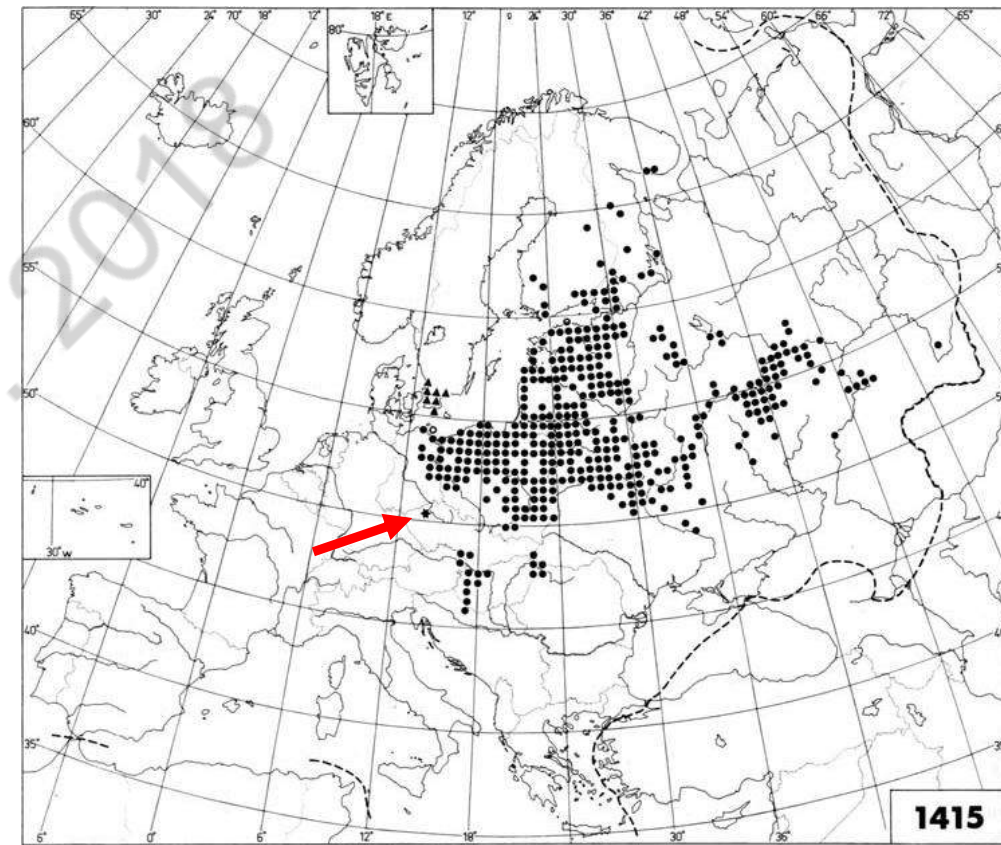
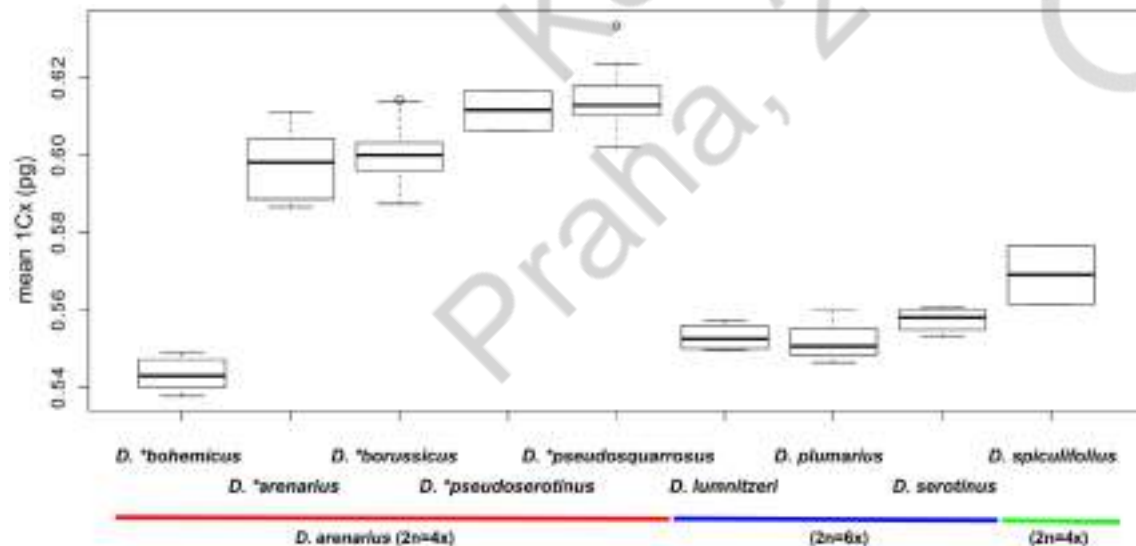


Fig. 4 – Histogram of the results of the flow cytometric fluorescence showing simultaneous analysis of DNA-stained nuclei isolated from *Nymphaea alba*, *N. candida* and two types of interspecific hybrids (originating via two reduced gametes and 2n gametes of *N. alba* + n gametes of *N. candida*, respectively).

2) zhodnocení druhové příslušnosti

- *D. arenarius* subsp. *bohemicus* – stenoendemit písčín u Klenče
- izolovaná populace od ostatních poddruhů
- má sice stejný počet chromosomů jako ostatní subspecie *D. arenarius*, ale **NEMÁ** stejnou velikost genomu!!!
- velikost genomu naopak blízká jiným zástupcům sekce *Plumaria*



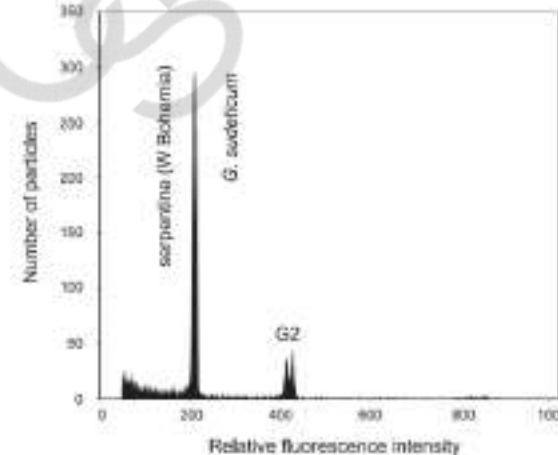
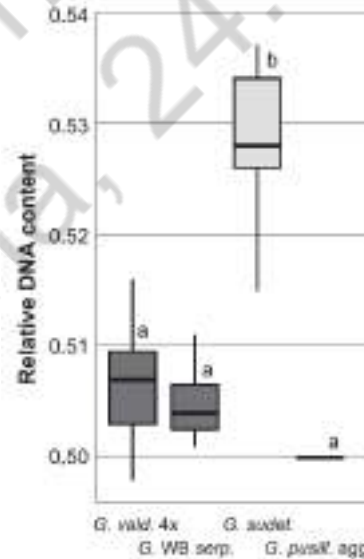
2) zhodnocení druhové příslušnosti

Co výsledky znamenají pro ochranu hvozdíku písečného českého?

- 1) *Dianthus arenarius* subsp. *bohemicus* nejspíše **nepatří** do druhu *D. arenarius*, ale je s největší pravděpodobností jiným zástupcem sekce *Plumaria*
- 2) *Dianthus arenarius* subsp. *bohemicus* ale nebylo možné s jiným druhem sekce *Plumaria* ztotožnit
- 3) o **původnosti Klenečské populace** nelze zatím s jistotou NIC říct, ale charakter populací *D. arenarius* je výrazně odlišný od lokality Kleneč
- 4) reliktní populace bělokvětého hvozdíku nicméně **zaslouží ochranu**, bez ohledu na nevyřešenou taxonomickou otázku

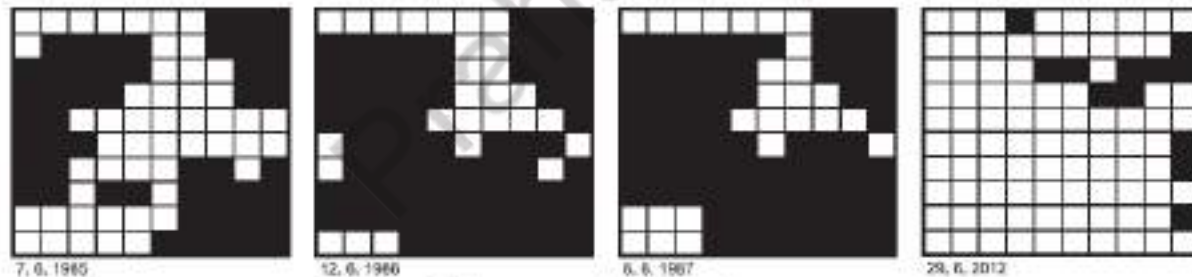
3) vymezení linií vhodných pro ochranu

- *Galium sudeticum* - původně endemit Krkonoš a hadců Slavkovského lesa
- rozdíl ve velikosti genomu i v morfologii
- populace ve Slavkovském lese ztotožněny s *G. valdepilosum*
- zásadní vliv na druhovou ochranu (dvě vs. jedna arela, rozdíly v početnosti populací, ekologie stanovišť)

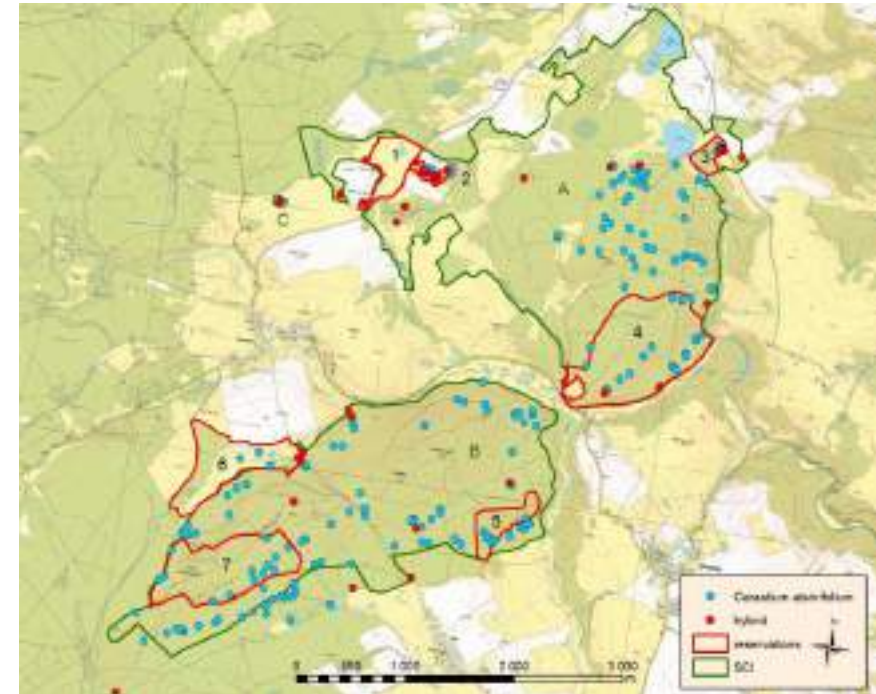


4) zhodnocení míry hybridizace vzácných taxonů - lepší případy

- hadcový endemit *Cerastium alsinifolium*
- vlajkový endemit ČR
- lesní a nelesní stanoviště
- předpoklad hybridizace s *C. arvense* (již od osmdesátých let!)
- monitoring endemického rožce správou CHKO Slavkovský les od r. 1984 - 7 plošek

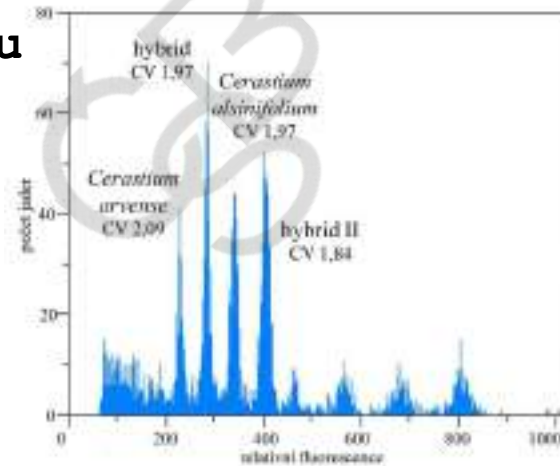
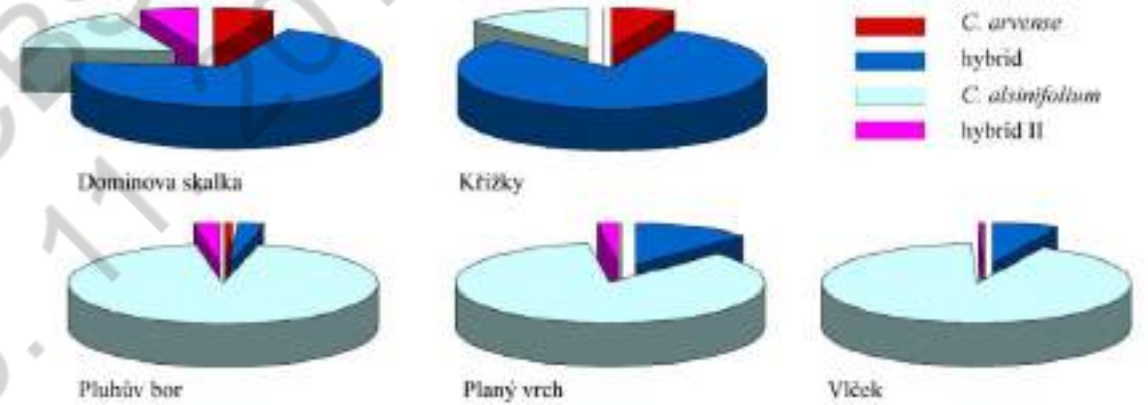


Obr. 4: Zákres prezence/absenze rožce ve čtvercích 10×10 cm na monitorovací ploše č. 4 v letech 1985–1987 a 2012.



4) zhodnocení míry hybridizace vzácných taxonů - lepší případy

- různé velikosti genomu
- dva typy hybridů (redukované/neredukované gamety)
- ale absence zpětného křížení
- hybridi jasný geografický pattern - hojní na bezlesí, vzácní v lesích (dostupnost pylu *C. arvense*)
- endemit na bezlesí - severně orientované pukliny ve skalách, humidní místa
- *C. alsinifolium* - ekologické optimum ve světlých hadcových lesích



Analogická situace u hybridizací *Nymphaea alba* × *N. candida*, *Dianthus bohemicus* × *D. carthusianorum*, hybridi *Diphasiastrum*, *Pulsatilla patens* × *P. pratensis*

5) zhodnocení míry hybridizace vzácných taxonů - horší případy

- hybridizace *Prunus fruticosa* s *P. avium* (diploid) či s *P. cerasus* (tetraploidi)
- primární hybridizace s *P. avium* - triploidní hybridy sterilní
- introgrese na tetraploidní úrovni (s *P. cerasus*) - horší, hybridy fertílí
- příklad hybridizace způsobené člověkem

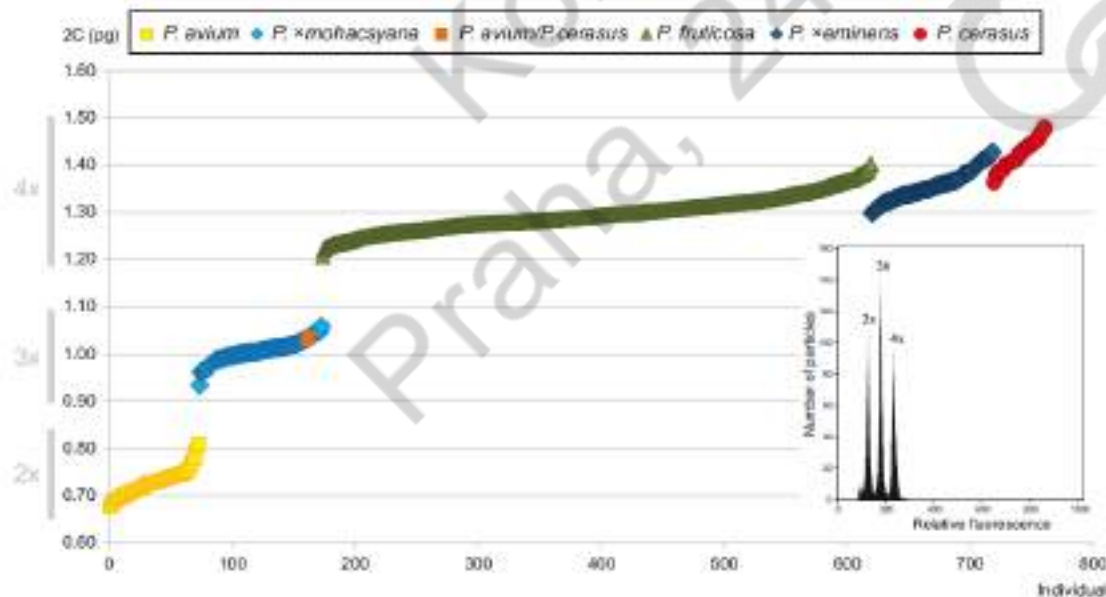


foto: Martin Čertner

6) zhodnocení reprodukčních mechanismů

- Hybridogenní jeřáby ČR
- allopolyploidní mikrospecie - apomikti
- určení ploidie a reprodukčních způsobů - průtokovou cytometrií
- vliv na druhovou ochranu - absurdnost ochrany jedinců na příkladu *S. bohemica* a dálnice D8

- rušení endemického statusu
- *S. hardeggensis* - diploid, primární F1 hybrid
- *S. querneana* - tetraploid, konspecifický s *S. mougeotii*



Závěrem...

- snažme se naším bádáním přinést do ochrany přírody něco z toho co umíme
- každá sebemenší práce může přispět a zvýšit efektivitu ochrany rostlin
- snažme se o propojení našich výzkumných aktivit s aktivitami ochranářů
- využijeme současné vědecké znalosti a pomůžeme ochranářům najít správnou cestu ☺

Děkuji za pozornost!

A díky všem co se na cytometrickém studiu vzácných rostlin podílejí či podíleli!

Především: Honza Suda, Jana Vítová, Pavel Trávníček, Lenka Macková, Tomáš Urfus, Klára Kabátová, Martin Lepší, Filip Kolář a další...

