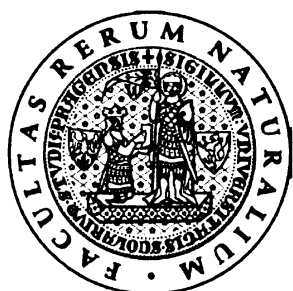


Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta
Katedra botaniky



Bakalářská práce

**Hybridizace a mikroevoluční vztahy
u střeoevropských zástupců
rodu *Diphasiastrum***

**(Hybridization and microevolutionary relationships
among Central European *Diphasiastrum* species)**

Kristýna Dvořáková

Praha 2009

Vedoucí práce: Mgr. Tomáš Urfus

21809
1112113

Obsah:

Abstrakt

1. Úvod

2. Stručná charakteristika rodu *Diphasiastrum*

2.1 Zařazení v systému cévnatých rostlin dříve a dnes

2.2 Stručná charakteristika rodu

2.3 Karyologie

2.4 Druhové zastoupení

2.5 Celkové geografické rozšíření

2.6 Ekologie

2.7 Rozmnožování

2.8 Ohrožení

3. Charakteristika jednotlivých středoevropských druhů rodu *Diphasiastrum*

3.1 Předpokládané původní (rodičovské) druhy

3.1.1 *Diphasiastrum complanatum*

3.1.2 *Diphasiastrum alpinum*

3.1.3 *Diphasiastrum tristachyum*

3.2 Předpokládané vedlejší druhy

3.2.1 *Diphasiastrum issleri*

3.2.2 *Diphasiastrum oellgaardii*

3.2.3 *Diphasiastrum zeilleri*

4. Problematika hybridizace a introgrese

4.1 Hybridogenní druhy vs. recentní hybridy a možnost introgresivní hybridizace

5. Metodické přístupy řešení problematiky

5.1 Průtoková cytometrie

5.2 Morfometrika

5.3 Geometrická morfometrika

5.4 Možné další postupy – molekulární metody

6. Dosavadní výsledky

7. Závěr

8. Otázky pro diplomovou práci

9. Seznam použité literatury

10. Přílohy

Abstrakt

Předložená bakalářská práce je literární rešerší shrnující údaje o středoevropských zástupcích rodu *Diphasiastrum* Holub. Jedná se o skupinu výtrusných rostlin, která je z biosystematického hlediska velmi málo prostudovaná a jejíž taxonomie je značně problematická. Ze střední Evropy je popsáno 6 druhů tohoto rodu. Tři z nich (*D. complanatum*, *D. alpinum*, *D. tristachyum*) jsou pokládány za druhy hlavní – rodičovské, jejichž hybridizací pravděpodobně vznikly tři druhy vedlejší - intermediární (*D. issleri* = *D. complanatum* × *D. alpinum*, *D. zeilleri* = *D. complanatum* × *D. tristachyum*, *D. oellgaardii* = *D. alpinum* × *D. tristachyum*). Stále však není potvrzeno, zda se jedná o druhy hybridogenní či zda jde o recentně vznikající hybridy. Taxony jsou jasně vymezeny velikostí genomu (hlavní druhy se výrazně liší obsahem jaderné DNA, zatímco předpokládané vedlejší druhy vykazují velikost genomu intermediární mezi udávanými rodičovskými druhy). Jednotlivé „rodičovské“ taxony jsou také poměrně snadno morfologicky odlišitelné (hlavně díky znakům na sterilních větvích sporofytů), zatímco tři vedlejší druhy vykazují značnou morfologickou plasticitu. Všichni zástupci rodu *Diphasiastrum* patří v České republice mezi silně a kriticky ohrožené rostliny.

V literární rešerší je popsána problematika taxonomie, morfologie, karyologie, rozšíření a ekologie, a také další vlastnosti celého rodu *Diphasiastrum*. Druhá část bakalářské práce je věnována charakteristice a problematice jednotlivých středoevropských zástupců rodu. Ti jsou rozděleni na předpokládané původní (rodičovské) druhy a potenciální druhy vedlejší, vzniklé pravděpodobně hybridizací druhů původních. Dále je zde pojednána problematika hybridizace a možnost zpětného křížení mezi vedlejšími a rodičovskými druhy. V práci jsou také popsány metody použitelné při řešení problému a uvedeny dosažené první výsledky měření obsahu jaderné DNA jednotlivých druhů pomocí průtokové cytometrie. Tyto ukazují na správný předpoklad hybridizace mezi rodičovskými druhy dávající vznik intermediárním (vedlejšími) taxonům. Na závěr jsou nastíněny možné cíle výzkumu pro navazující diplomovou práci.

Klíčová slova:

Diphasiastrum, základní a intermediární druhy, hybridizace, introgrese, cytometrie, morfometrika

Abstract

Proposed bachelor thesis is the literature search summarizing knowledge about Central European species of the genus *Diphasiastrum* Holub. It is a group of Lycopods which is from biosystematic point of view very little studied and which taxonomy is very problematic. From Central Europe is described 6 taxa of this genus. Three of them (*D. complanatum*, *D. alpinum*, *D. tristachyum*) are considered to be a basic - parental, which hybridization probably led to so called intermediate species (*D. issleri* = *D. complanatum* × *D. alpinum*, *D. zeilleri* = *D. complanatum* × *D. tristachyum*, *D. oellgaardii* = *D. alpinum* × *D. tristachyum*). It is not confirmed yet, if these members are hybridogenous or if they are recently established hybrids. Studied taxa are clearly defined by the size of the genome (main members are noticeably different from the others by amount of nuclear DNA, while the supposed intermediate members are showing intermediary genome size between putative parental taxa). The „parental“ species are also very easily differentiated by morphology (mostly thanks to characters on sterile branches of sporophytes), whereas the other three intermediate species are characterized by significant morphological plasticity. All members of the genus *Diphasiastrum* belong to intensely and critically endangered plant species in the Czech Republic.

Problems of taxonomy, morphology, karyology, distribution and ecology and also the other characteristics of the whole genus *Diphasiastrum* are described in proposed study. The second part of the bachelor thesis is aimed to characteristics and problems of particular species of the genus. Further the hybridization problem and the possibility of backcrossing (introgression) between the intermediate and parental species are discussed. Also methods suitable for resolving above mentioned problems are described then. There are shown the first results of pilot studies (genome size of particular species estimated by the flow cytometry). Results confirmed hybrid origin hypothesis of intermediate taxa. Final part postulates potential aims and questions for consequent diploma thesis.

Key words:

Diphasiastrum, basic vs. intermediate species, hybridization, introgression, cytometry, morphometrics



Poděkování

Děkuji svému školiteli, kterým je Tomáš Urfus, i svému konzultantovi Petru Vítovi, za vedení celé práce, trpělivost a ochotu se vším pomoci i za poskytnutí množství cenných rad a informací. Dále děkuji své rodině za podporu a celkovou pomoc. Poděkování patří též mým kamarádům a kolegům za poskytnutí užitečných informací týkajících se vypracování bakalářské práce.

1. Úvod

Rod *Diphasiastrum* Holub - plavuník (syn.: *Lycopodium* L. Sect. *Complanata* Victorin, *Diphasium* C. Presl, *Stachygynandrum* C. Presl) patří do čeledi *Lycopodiaceae*. Zahrnuje vytrvalé rostliny s plazivými lodyhami, resp. oddenky a vzpřímenými, často vidličnatě větvenými prýty, které většinou nesou výtrusnicové klasy. Oproti zástupcům rodu *Lycopodium* (plavuň) se vyznačují šupinovitými listy uspořádanými ve čtyřech řadách a jejich sterilní větve bývají zploštělé (Holub 1975, Kubát 1997, Kubát 2002, Jäger & Werner 2005). Mezi plavuníky bývá celosvětově řazeno přibližně 25 až 30 druhů. Hlavním místem jejich výskytu jsou temperátní a subarktické oblasti severní polokoule. Některé druhy je však možné najít i v tropech a to především v montánním až alpínském pásmu (Bennert et al. 2007, Hultén 1958, Kubitzki 1990, Meusel 1965, Procházka et al. 1998). Jelikož se jedná o rostliny konkurenčně velmi slabé, bývají hlavními místy jejich výskytu biotopy s nezapojeným porostem a stanoviště disturbovaná a sekundární. V rámci České republiky patří všichni zástupci rodu mezi rostliny silně a kriticky ohrožené (kategorie C1 a C2; Procházka 2001).

Ve střední Evropě je udáván výskyt šesti druhů plavuníků. Tři tradičně rozlišované jsou dnes považovány za druhy základní. Patří mezi ně: *D. alpinum* (L.) Holub – plavuník alpínský, *D. complanatum* (L.) Holub – plavuník zploštělý a *D. tristachyum* (Pursh) Holub – plavuník cypřiškovitý (trojklasý). Z těchto základních druhů pravděpodobně prostřednictvím hybridizace vznikly druhy intermediární – vedlejší, které však byly odlišeny až v průběhu 20. století. Mezi ně jsou řazeny: *D. issleri* (Rouy) Holub – plavuník Isslerův – hybrid *D. alpinum* × *D. complanatum*, *D. zeilleri* (Rouy) Holub – plavuník Zeillerův pocházející z rodičovské kombinace *D. complanatum* × *D. tristachyum* a nejpozději rozlišený *D. oellgaardii* Stoor, Boudrie, Jerome, Horn et Bennert – plavuník Oellgaardův vzniklý hybridizací *D. alpinum* × *D. tristachyum*. Taxonomické hodnocení těchto intermediárních taxonů se však v různých regionech liší. Stále ale není potvrzeno, zda jsou vedlejší druhy skutečně hybridogenní či zda se jedná o recentně vznikající hybridy. Jeden z pokusů vyřešit problematiku původu těchto F1 hybridů byl proveden pomocí allozymových analýz (Stoor et al. 1996). Neustále je také potvrzována vysoká míra hybridizace mezi základními druhy (Kukkonen 1994), což svědčí proti teorii ustálených hybridů. Naopak, pro možnou introgresi svědčí nález druhů představujících morfologicky přechodný typ mezi druhy vedlejšími a druhy základními (např. *D. alpinum* susp. *kablikianum* Domin, syn. *D. kablikianum* (Domin) Dostál se znaky intermediárními mezi *D. alpinum* a *D. issleri* (Kubát 1997, Dostál 1984, 1989)). Také fakt, že vedlejší druhy, ač jsou často homoploidními hybridy, vykazují zřejmě plnou fertilitu (Kukkonen 1994), ukazuje na možnost zpětného křížení.

2. Stručná charakteristika rodu *Diphasiastrum*

Diphasiastrum Holub

Syn: *Lycopodium* L. Sect. *Complanata* Victorin; *Diphasium* C. Presl; *Stachygynandrum* C. Presl

2.1 Zařazení v systému cévnatých rostlin dříve a dnes

Rod *Diphasiastrum* – plavuník patří do čeledi *Lycopodiaceae* – plavuňovitě, řádu *Lycopodiales* – plavuňotvaré, třídy *Lacopodiopsida* – plavuně a oddělení *Lycopodiophyta* – rostliny plavuňotvaré (Judd W. S. et al. 2007).

Čeď *Lycopodiaceae* sensu lato zahrnuje 10 až 15 rodů se 450 až 500 různými druhy. Většina dnešních autorů ji však dělí na více samostatných čeledí. Rody *Huperzia*, *Phlegmarius* a *Phylloglossum*, dříve řazené mezi plavuňovitě, jsou dnes řazeny do samostatné čeledi *Huperziaceae* – vrancovitě. Čeď *Lycopodiaceae* sensu stricto tedy zahrnuje pouhých 5 až 7 rodů s přibližně stovkou druhů. U nás jsou známé rody *Lycopodiella* – plavuňka, *Lycopodium* – plavuň a *Diphasiastrum* – plavuník.

Čeď *Lycopodiaceae* je velmi starobylá. V prvohorách (tj. před 570 až 250 miliony lety) dosahovaly předchůdci dnešních drobných plavuní výšky až 25 m a spolu s kapradinami a přesličkami zcela dominovaly tehdejšímu rostlinstvu. Avšak evoluce této kosmopolitně (především v tropech) rozšířené čeledi není příliš dobře známá, hlavně díky sporému fosilnímu záznamu a problému najít význačné rozdíly mezi druhy a skupinami způsobenému značným morfologickým konzervatismem. Paleobotanické záznamy ukazují na pozdně paleozoický původ čeledi *Lycopodiaceae* (Thomas 1992). Podle jedné z hypotéz, vytvořené Skogem a Hillem, proběhla diverzifikace hlavních skupin v rámci čeledi v období pozdní jury a křídý, tedy nedávno, paralelně s diverzifikací krytosemenných rostlin (Skog & Hill 1992).

Jednou z klasifikací čeledi *Lycopodiaceae* byla Oellgaardova studie (Oellgaard 1987), která ji rozdělila do 3 rodů, *Huperzia*, *Lycopodium* a *Lycopodiella*, s mnoha podjednotkami. Na základě kladistických analýz založených na chloroplastových sekvencích *rbcL* (ribulosa-1,5-bisfosfát karboxyláza/oxygenáza) genů a *trnL* intronů (Wilkström 2001, Wilkström & Kenrick 1997, 2000, 2001) byly nově určeny vztahy uvnitř čeledi *Lycopodiaceae*. Tyto analýzy podpořily teorii o monofyletickém původu rodů *Lycopodium* a *Lycopodiella*. Zatímco rod *Huperzia* byl prokázán jako parafyletický k australskému monotypickému rodu *Phylloglossum*. Větev *Huperzia-Phylloglossum* se ukázala být sesterskou k větvi *Lycopodium-Lycopodiella* (viz. schéma č. 1 v přílohách – fylogenetický strom). Komplexní analýza čeledi *Lycopodiaceae* ukázala rozdělení na 4 sekce rodu *Lycopodiella* a 9 sekcí rodu *Lycopodium* (sekce *Lycopodium*, *Annotina*, *Obscura*, *Lycopodiastrum*, *Pseudophasium*, *Pseudolycopodium*, *Diphasium*, *Magellanica* a *Complanata*). Mnohé z těchto sekcí byly označeny za samostatné rody (Holub 1964, 1975, 1983, 1985, 1991).

Jedním z příkladů je právě rod *Diphasiastrum*, dříve zahrnovaný pod rod *Lycopodium* (viz. tab.č. 1 v přílohách – tři nejcitovanější klasifikace čeledi *Lycopodiaceae*). Plavuníky (*Diphasiastrum*) se od plavuní (*Lycopodium*) liší zejména morfologickými charakteristikami. Jejich šupinovité listy jsou na rozdíl od čárkovitě kopinatých listů plavuní uspořádány ve čtyřech řadách a většinou jsou tvarem nápadně odlišné. Sterilní větve plavuníků bývají zploštělé a poměrně tuhého charakteru, zatímco větve plavuní jsou většinou poléhavější a méně zploštělé (Holub 1975, Kubát 1997, Kubát 2002, Jäger & Werner 2005).

2.2 Stručná charakteristika rodu

Rod *Diphasiastrum* zahrnuje vytrvalé byliny (chamaefyty) s dlouze plazivými kořenujícími pod- či nadzemními lodyhami, resp. oddenky. Vzpřímené vidličnatě větvené prýty pokryté čtyřmi řadami šupinovitých listů nesou přisedlé nebo stopkaté výtrusnicové klasy. Lodyhy i sterilní větve bývají zřetelně dorziventrálně zploštělé. Listy jsou často tvarově odlišné – rozlišené na hřbetní, břišní a postranní. Výtrusy uzavřené v ledvinovitých výtrusnicích dozrávají v srpnu až září (Dostál 1989). Prokel plavuníků je podzemní, paprscitě souměrný, řepovitého tvaru a živící se saprofytický. Gametofyty popsané u rodu *Diphasiastrum* jsou typu II (Bruce 1979, Whittier 2003). To znamená, že mají mrkvovitý tvar s gametangiální čepičkou ve svrchní části, která je oddělená od zúžené bazální části zaškrceným krčkem s kruhovým meristémem. Avšak u většiny druhů nejsou gametofyty známy. Předpokládá se, že přežívají déle než nadzemní sporofyty a pomáhají rostlinám překonávat nepříznivé podmínky prostředí. Navíc se často vyskytují ve větším množství než sporofyty a pohlavně dospívají až po 12–15 letech (Procházka & Harčarik 1999).

Zástupci rodu *Diphasiastrum* stejně jako ostatní z čeledi *Lycopodiaceae* žijí v mykorhize, jejíž výskyt může indikovat čisté životní prostředí. Pro čeleď *Lycopodiaceae* je také charakteristická přítomnost alkaloidů a sekundárních metabolitů. Ty jsou v poslední době intenzivně fytochemicky studovány. Kromě dlouhé tradice jejich využití v čínské lidové medicíně (při léčbě pohmožděnin, otoků, schizofrenie i ochrnutí), byl prokázán kladný účinek lycopoidních alkaloidů při léčbě kardiovaskulárních a neurosvalových onemocnění. Tyto alkaloidy mají také pozitivní efekt při učení a na paměť; jsou proto s vysokou pravděpodobností využitelné i při léčbě Alzheimerovy choroby (Ma & Gang 2004).

2.3 Karyologie

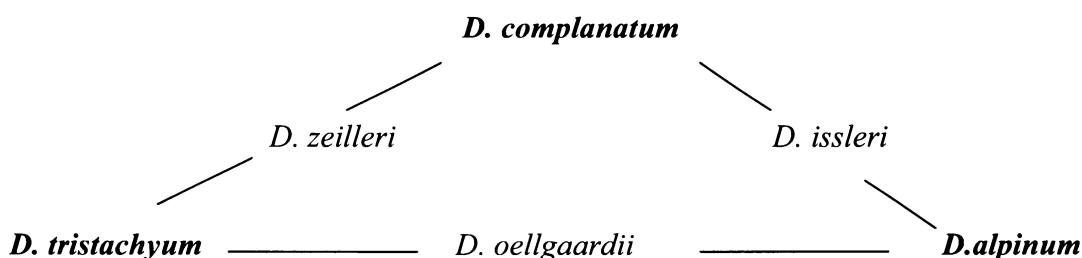
Po biosystematické stránce není skupina rodu *Diphasiastrum* zatím zcela probádána. Dodnes není známa absolutní velikost genomu žádného z druhů. V rámci rodu byly zaznamenány dva cytotypy – diploidní a tetraploidní ($x = 11$, $2n = 2x = 22 - 23$, $2n = 4x = 44 - 48$). U všech tří střeoevropských druhů byla prokázána stejná ploidie. Jedná se o tetraploidy (Marhold et al. 2007, Dostál 1984) s chromosomovým číslem $2n = 46$ (44, 48), zatímco v oblasti Skandinávie a Velké

Británie byly nalezeny především cytotypy diploidní (Löve & Löve 1948, Wagner 1992). O ploidii vedlejších středoevropských druhů je jen málo záznamů, a to kvůli jejich teprve nedávnému popsání a celkově složitějšímu určení.

2.4 Druhov \acute{e} zastoupen \acute{e}

Rod *Diphasiastrum* zahrnuje v závislosti na druhov \acute{e} m pojet \acute{e} asi 30 druhů vyskytujících se t \acute{e} m \acute{e} ř po cel \acute{e} m sv \acute{e} t \acute{e} .

Ze st \acute{r} edn $\acute{ı}$ Evropy je popsáno šest druhů. T \acute{r} ı druhy jsou pokládány za základn $\acute{ı}$ (rodičovsk \acute{e}) a t \acute{r} ı za druhy vedlejší, vzniklé pravd \acute{e} podobn \acute{e} hybridizac $\acute{ı}$ druhů základn $\acute{ı}$ ch.



Obr. \acute{c} . 1: Sch \acute{e} ma vz \acute{a} jenn \acute{y} ch mikroevolu \acute{c} n $\acute{ı}$ ch vztahů u st \acute{r} edoevropsk \acute{y} ch z \acute{a} stupců rodu *Diphasiastrum* Holub. Z \acute{a} k \acute{r} adn $\acute{ı}$ druhy (tu \acute{c} n \acute{e}) d \acute{a} vaj $\acute{ı}$ vzniknout vedlejší m druhům, u kter \acute{y} ch se p \acute{r} edpoklád \acute{a} vznik hybridizac $\acute{ı}$ (Stoor et al. 1996).

Mezi druhy z \acute{a} k \acute{r} adn $\acute{ı}$ jsou tradicn \acute{e} řazen \acute{y} *Diphasiastrum alpinum* – plavun $\acute{ı}$ k alp \acute{n} sk \acute{y} , *Diphasiastrum complanatum* – plavun $\acute{ı}$ k zplošt \acute{e} l \acute{y} a *Diphasiastrum tristachyum* – plavun $\acute{ı}$ k cypřiškovit \acute{y} . Jako jejich hybridogenn $\acute{ı}$ kombinace jsou označovány: *Diphasiastrum issleri* – plavun $\acute{ı}$ k Isslerův ($D. alpinum \times D. complanatum$), *Diphasiastrum zeilleri* – plavun $\acute{ı}$ k Zeillerův ($D. complanatum \times D. tristachyum$) a posledn $\acute{ı}$ popsan \acute{y} *Diphasiastrum oellgaardii* – plavun $\acute{ı}$ k Oellgaardův ($D. alpinum \times D. tristachyum$). Tyto intermediárn $\acute{ı}$ taxony byly odlišeny teprve v průběhu 20. stolet $\acute{ı}$ a nejsou dodnes zcela upřesněny. Jejich taxonomick \acute{e} hodnocen $\acute{ı}$ se vřak v různ \acute{y} ch regionech liř $\acute{ı}$ (např $\acute{ı}$ k \acute{r} ad \acute{y} Jermy (1993) rozpozn \acute{a} val t \acute{r} ı hlavn $\acute{ı}$ taxony - *D. complanatum*, *D. tristachyum* a *D. alpinum*, zatímco *D. zeilleri* s *D. issleri* označil za poddruhy *D. complanatum*). St \acute{a} le vřak není potvrzeno, zda vedlejší druhy jsou druhy hybridogenn $\acute{ı}$, \acute{c} ı zda jde o recentn \acute{e} vznikaj $\acute{ı}$ c $\acute{ı}$ hybridy. Odlišen $\acute{ı}$ jednotliv \acute{y} ch druhů je založeno p \acute{r} edevřim na morfologick \acute{y} ch charakteristik \acute{a} ch (celkov \acute{e} m habitu rostlin, povaze lodyhy resp. oddenku, tvaru a postaven $\acute{ı}$ listů v jednotliv \acute{y} ch řad \acute{a} ch apod.). Tyto dovoluj $\acute{ı}$ celkem spolehliv \acute{e} ur \acute{c} it druhy z \acute{a} k \acute{r} adn $\acute{ı}$, zatímco druhy vedlejší nesou sp $\acute{ı$ ře znaky intermediárn $\acute{ı}$ ho charakteru, t \acute{e} j. p \acute{r} echodn \acute{e} mezi ob \acute{e} ma rodi \acute{c} ı (viz. obr. \acute{c} . 2 a \acute{c} . 2a v p \acute{r} ıloh \acute{a} ch – srovn $\acute{a$ n $\acute{ı}$ lodyh st \acute{r} edoevropsk \acute{y} ch druhů rodu *Diphasiastrum*).

2.5 Celkové geografické rozšíření

Centrem diverzity takřka celosvětově rozšířeného rodu *Diphasiastrum* jsou temperátní a subarktické oblasti severní polokoule, zejména vyšší nadmořské výšky. Některé druhy je však možné najít také v montánním a alpínském pásmu tropických oblastí (Bennert et al. 2007, Hultén 1958, Kubitzki 1990, Meusel 1965, Procházka et al. 1998).

Ačkoliv zástupci tří tzv. základních druhů plavuníků v rámci střední Evropy mají cirkumboreální rozšíření, individuálně vykazují rozdílné znaky. V případě *Diphasiastrum alpinum* se jedná o arкто - alpínské rozšíření, pro *Diphasiastrum complanatum* je typické rozšíření boreálně - kontinentální a *Diphasiastrum tristachyum* se nachází spíše v sub - atlantické (středoevropské) oblasti (Jalas & Suominen 1972, Dostál 1984, Oellgaard & Tind 1993, Kukkonen 2000; viz. obr. č. 3 v přílohách – celosvětové rozšíření *D. alpinum* a *D. complanatum*).

Česká republika spolu s Německem, Rakouskem a Francií je jednou z mála zemí s prokázaným výskytem všech šesti středoevropských druhů plavuníků (Adler et al. 1994, Bennert 1999, Kubát 1997, Jäger & Werner 2005, Haeupler & Muer 2007, Procházka 1999; viz. tab. č. 2 v přílohách – seznam lokalit výskytu plavuníků na území ČR).

2.6 Ekologie

Pro zástupce rodu *Diphasiastrum* je příznačný výskyt na specifických stanovištích. Jedná se zejména o disturbovaná stanoviště anebo biotopy s nezapojeným porostem a sníženou konkurencí. Plavuníky jsou díky své velmi nízké konkurenční schopnosti typickými druhy iniciálních fází sukcese (Procházka & Harčarik 1999). Přesto se jednotlivé základní druhy vyskytují spíše v odlišných typech biotopů v různých nadmořských výškách (*D. alpinum* preferuje horská bezlesá stanoviště v nadmořských výškách 800 – 1500 m; *D. tristachyum* se vyskytuje především na vřesovištích a v kyselých borech 400 – 900 m.n.m. a *D. complanatum* upřednostňuje smrčiny a kyselé bory ve výškách 270 – 1300 m.n.m.; Dostál 1984, 1989; viz. graf č. 1 v přílohách – výškové rozpětí výskytu jednotlivých druhů plavuníků na území ČR). Druhy vedlejší jsou známy z lokalit intermediárních charakterů. Jednotlivé základní taxony jsou díky různým ekologickým preferencím diagnostickými druhy ve fytoocenologii (*D. alpinum* je charakteristickým druhem svazu *Nardion*, resp. *Loiseleurio procumbentis-Vaccinion* a *Junction trifidi*, *D. complanatum* představuje svaz *Dicrano-Pinion* a *D. tristachyum* je diagnostickým druhem pro svaz *Genistion*; Kubát 1997, Chytrý et al. 1996). Existují ale také místa, kde se tyto druhy stýkají (např. ve společenstvech třídy *Piceetalia excelsae*). Většinou to ale jsou stanoviště vzniklá sekundárně, silně ovlivněná lidskou činností. Příkladem jsou horské pastviny, vřesoviště a jiná pravidelně disturbovaná místa (např. okraje lesních cest, pláně pravidelně procházející požárem, opuštěné lomy aj.; Muller et al. 2003). Vzhledem k ústupu těchto biotopů kvůli rozšiřujícímu se hospodaření, jsou dnes nejvýznamnějšími druhotnými stanovišti sjezdovky, které jsou disturbovány pravidelně (Muller et al. 2003, Procházka

et al.1998, Stoor et al. 1996). Specifickým stanovištěm na území České republiky byly také lesní průseky v rámci hraničních zátarasů železné opony na Šumavě, kde se plavuníky vyskytovaly ve velkém množství, avšak po ústupu managementu pohraniční stráže zcela vymizely (Procházka et al. 1998).

Všechny plavuníky jsou druhy obligátně acidofilní, rostoucí na půdách silně kyselých, živinami velmi chudých. Nárůst počtu jejich lokalit v rámci České republiky na konci 20. století tedy možná souvisí s velkoplošným dlouhodobým působením imisí s důsledkem stoupající kyselosti půd. Tím je možné vysvětlit i skutečnost, že např. *D. alpinum* bylo u nás až donedávna známo jen z nadmořských výšek nad 800 m, zatímco dnes známe jeho výskyt už v 620 m.n.m. a objevil se i na dříve neznámých místech v Orlických horách i Jihlavských a Tepelských vrších (Procházka & Harčarik 1999).

2.7 Rozmnožování

Všechny druhy rodu *Diphasiastrum* se stejně jako ostatní z čeledi *Lycopodiaceae* rozmnožují jak generativně – sporami (výtrusy), tak vegetativně – klonálně, pomocí kořenujících lodyh, resp. oddenků. Plavuníky mají velké množství snadno se šířitelných spor, které dozrávají od července do září. Stále však není zcela jasné, jak intenzivní je jejich pohlavní rozmnožování a do jaké míry se šíří vegetativně, aneb zda jsou rostliny na dané lokalitě právě jediným klonem mateřské rostliny. Různá pozorování ukázala, že i přes velké množství spor je jejich regenerace vzácná a jen málo efektivní. Celý životní cyklus rostlin trvá až několik desítek let (Oinonen 1968). Bylo také dokázáno, že druhy rodu *Diphasiastrum* nejlépe regenerují po disturbancích lesních porostů (Kukkonen 1994).

2.8 Ohrožení

V rámci České republiky patří všechny druhy rodu *Diphasiastrum* mezi silně a kriticky ohrožené rostliny chráněné zákonem. Dle vyhlášky 395/1992Sb k zákonu č. 114/1992Sb jsou zapsány jako zvláště chráněné druhy takto:

C1 - *Diphasiastrum tristachyum* – plavuník trojklasý

C2 - *Diphasiastrum alpinum* – plavuník alpský

- *Diphasiastrum issleri* – plavuník Isslerův

C3 - *Diphasiastrum zeilleri* – plavuník Zeillerův

- *Diphasiastrum complanatum* – plavuník zploštělý

Diphasiastrum oellgaardii není v této vyhlášce zahrnut, protože v době její přípravy byl pokládán za součást druhu *D. issleri* (Procházka 1997).

Černý a červený seznam cévnatých rostlin České republiky (stav v r.2000), F.Procházka 2001, je uvádí takto:

C1 (kriticky ohrožené druhy):

- *Diphasiastrum tristachyum* (Pursh) Holub – plavuník cypřiškovitý
- *Diphasiastrum oellgaardii* Horn et. al. – plavuník Oellgaardův

C2 (silně ohrožené druhy):

- *Diphasiastrum issleri* (Rouy) Holub – plavuník Isslerův
- *Diphasiastrum zeilleri* (Rouy) Holub – plavuník Zeillerův

C3 (ohrožené druhy):

- *Diphasiastrum alpinum* (L.) Holub – plavuník alpský
- *Diphasiastrum complanatum* (L.) Holub – plavuník zploštělý

3. Charakteristika jednotlivých střeoevropských druhů rodu

Diphasiastrum

3.1 Předpokládané původní (rodičovské) druhy

3.1.1 *Diphasiastrum complanatum* (L.) Holub – plavuník zploštělý

a) Synonyma:

Lycopodium complanatum L. em. Pursch non H. P. Fuchs;
Diphasium complanatum (L.) Rothm subsp. *anceps* (Wallr.)
Dostál; *D. anceps* (Wallr.) A. et D. Löve; *D. wallrothii* H. P.
Fuchs; *Lycopodium flabelliforme* (Fern.) Blanchard;
Stachygynandrum complanatum (L.) C. Presl; *Lycopodium*
complanatum subsp. *genuinum* Čelak.; *Lycopodium anceps*
Wallr.; *Lycopodium complanatum* var. *anceps* (Wallr.) A. et Gr..

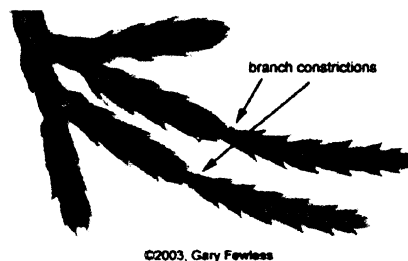


Obr. č. 4: Typický habitus druhu *D. complanatum*.

b) Morfologická charakteristika

Tento vždyzelený chamaefyt je asi největším ze všech 6 střeoevropských druhů plavuníků. Jeho lodyhy jsou dlouze plazivé nadzemní nebo jako oddenek uložený mělce pod povrchem. Silně zploštělé až 1 m dlouhé lodyhy jsou na více místech kořenující. *Diphasiastrum complanatum* a v severní Americe se vyskytující *Diphasiastrum digitatum* jsou na rozdíl od ostatních druhů rodu charakteristické zřetelně rozšířenými, zploštělými větvemi. Vzpřímené fertillní prýty *D. complanatum* jsou 10 – 40 cm dlouhé a mají zřetelné zaškrcení v místě přírůstku nových větví na větve rok staré (viz. obr. č. 4a).

Nepravidelně rozestálé a řídce vějířovitě větvené prýty jsou na lici sytě zelené a na rubu mají žlutozelenou barvu. Koncové větve nadzemních výhonů jsou sterilní a silně zploštělé. Tyto poléhavé anizofylní větve mají 2,5 – 4 mm v průměru. Lodyžní listy jsou vstřícně a křížmostojně uspořádány ve 4 řadách. Mají tmavozelenou barvu a jsou asi 4 mm dlouhé, kopinatého zašpičatělého tvaru. Břišní listy jsou malé, měří asi 0,5 – 1,5 mm a tvoří asi $\frac{1}{6}$ – $\frac{1}{4}$ větve.



Obr. č. 4a: Zřetelné zaškrcení v místě přírůstku nových větví u *D. complanatum*

Většinou jsou přitisklé, vzácně odstávající. Hřbetní listy jsou čárkovitě kopinaté, zřetelně užší než shora viditelná část postranních dlouze sbíhavých listů. Postranní listy jsou zřetelně širší než listy hřbetní. Jsou odstálé, na spodní straně nezahnuté a ploché, nanejvýš okrajem dolů ohnuté. Jejich sbíhavá část je široká s ostrou abaxiální hranou. Adaxiální plocha nesbíhavé části je tenká, sotva širší než tloušťka sbíhavé části listu následujícího. Výtrusnicové klasy jsou většinou po 2 - 6 či vzácně jednotlivě. Rostou na stopkách dlouhých 2 – 10 cm, velmi řídce olistěných čárkovitými listeny. Strobily nejsou na rozdíl od strobilů velmi podobného *D. digitatum* na špičce sterilní. Sporofyly mají široce až okrouhle vejčitý tvar s náhlým zúžením v krátkou špičku a jsou jen o málo delší než výtrusnice. Z počátku mají zelenavou barvu; zralé jsou hnědé. Výtrusy dozrávají v červenci až srpnu (Dostál 1989).

Vzácně se vyskytují také rostliny s výtrusnicovými klasy přisedlými a okrajem listů více podvinutým. Tím upomínají na *Diphasiastrum issleri*, ale liší se od něj také malými břišními listy a úzkou adaxiální plochou nesbíhavé části listů.

c) Rozšíření druhu

Jedná se o druh se subatlantským – subkontinentálním cirkumpolárním rozšířením. Hlavní lokality jeho výskytu jsou v severní a střední Evropě. *Diphasiastrum complanatum* je zřejmě nejrozšířenějším a nejčastěji se vyskytujícím ze středoevropských plavuníků.

d) Ekologie a výskyt

Primárními stanovišti plavuníku zploštělého jsou světlé jehličnaté i borové lesy a vřesoviště podhorského, vzácně pahorkatinného stupně v nadmořských výškách mezi 270 a 1300 m.n.m.. Tento druh se vyskytuje na kyselých půdách (pískovce, žuly apod.) a na surovém humusu (Dostál 1989). *D. complanatum* je diagnostickým druhem svazu *Dicrano - Pinion* a často se vyskytuje také ve společenstvech řádu *Piceetalia excelsae* (Kubát 1997, Chytrý et al. 1996, Dostál 1989).

e) Variabilita

V roce 1967 Kukkonen označil mezidruhový taxon *D. tristachyum* × *D. zeilleri* a popsal ho jako var. *montellii*. V roce 1970 byl reklasifikován na poddruh – subsp. *montellii* (Kukkonen

1967, 1970). Avšak jeho taxonomická pozice není dosud jasná. Pod *D. complanatum* sensu stricto nemůže být zahrnut kvůli tvaru svých břišních lístků. Dnešní autoři uvádějí „*montellii*“ jako subarktickou rodovou linii *D. zeilleri*. Sám Kukkonen (1967) předpokládal jeho hybridogenní původ z druhů *D. complanatum* a *D. tristachyum*, což je podpořeno některými jeho význačnými charakteristikami. Kalio a kol. (1969) ho připojil k rodové linii s *D. complanatum* var. *polystachyum*. Vztah „*montellii*“ k *Lycopodium complanatum* var. *canadense* (M.Vict.), var. *pseudo-alpinum* sensu M. Vict. a *Lycopodium tristachyum* var. *boreale* vyžaduje další studii. Popis těchto tří taxonů vykazuje velmi blízký vztah k „*montellii*“ a může reprezentovat pouze odlišné morfotypy (Holub 1975).

3.1.2 *Diphasiastrum alpinum* (L.) Holub – plavuník alpínský

a) Synonyma

Lycopodium alpinum L.; *Lycopodium alpinum* subsp. *cupressifolium* (Opiz) Dostál; *Diphasium alpinum* (L.) Rothm. subsp. *cupressifolium* (Opiz) Dostál; *Lycopodium cupressifolium* Opiz; *Stachygynandrum alpinum* (L.) C. Presl; *Lycopodium alpinum* subsp. *eualpinum* Domin.

b) Morfologická charakteristika

Plavuník alpínský je vždyzelený chamaefyt s plazivými, zpravidla nadzemními lodyhami až přes 50 cm dlouhými a roztroušeně kořenujícími. Jeho čtyřhranné sterilní větve jsou jen velmi nepatrně zploštělé, už od báze vícenásobně vidličnatě svazčité větvené s výraznou anizofylií. Jsou vzpřímené či vystoupavé, do 60 cm dlouhé a 5–15 cm vysoké. Celkovým habitem se jedná se o kompaktní a robustní, „trojrozměrnou“ rostlinu. Modrozelené matné listy jsou přibližně stejnotvaré, 2–3 mm dlouhé a zašpičatělé. Na lodyze jsou odstálé či jen volně přilehlé, křížmostojně uspořádané. Hřbetní listy mají kopinatý tvar a jsou širší než listy postranní. Břišní listy mají kratičkový, avšak výrazný, téměř kolmo odstálý řapík a vzpřímenou vejčitě kopinatou čepel. Bazální část břišních listů je řapíkatě zúžená a téměř kolmá k větví. Apikální část je rozšířená do plochy a šikmo vzhůru ohnutá, tudíž téměř rovnoběžná s osou větve. Srpovitě zahnuté postranní listy mají zřetelný téměř kolmo odstálý řapík a vzpřímenou vejčitě kopinatou čepel. Sbíhavá část těchto listů je obvykle užší než výrazné střední žebro. Výtrusnicové klasy jsou přisedlé či velmi krátce stopkaté, 10–15 mm dlouhé, uspořádané jednotlivě na koncích většiny větví. Vejčitě kopinaté sprofyly bývají více než 2x delší než výtrusnice a mají dlouhou odstálou tupou špičku. Výtrusy dozrávají v červenci až září (Dostál 1989).



Obr. č. 5: Typický vzhled druhu *D. alpinum*

c) Rozšíření druhu

Tento druh plavuníku s arкто – alpínským cirkumpolárním výskytem se nachází jak v severní Evropě (na Islandu, ve Velké Británii, Skotsku, severní části Finska a evropské části bývalého Sovětského Svazu); ve střední Evropě i v horských oblastech jižní Evropy (Sudety, Karpaty, Alpy, Pyreneje, Apeniny), tak je také znám ze severozápadní Asie a Dálného Východu. Izolované areály byly zaznamenány i na Kavkaze a ve Střední Asii. V Severní Americe se vyskytuje vzácně.

d) Ekologie a výskyt

Diphasiastrum alpinum se primárně nachází v horských bezlesích oblastech hlavně alpínského až subalpínského, vzácně horského pásma v nadmořských výškách 800 – 1500 m.n.m.. Plavuník alpínský se vyskytuje na kyselých, humózních, živinami chudých, písčitých nebo kamenitých půdách. Typickým místem jeho výskytu jsou alpínské hole a křoviny, zvláště v kosodřevinách a na subalpínských smilkových loukách (Dostál 1989), kde je diagnostickým druhem svazu *Nardion* resp. *Loiseleurio procumbentis* - *Vaccinion* a *Junction trifidi*. Vzácněji se vyskytuje ve společenstvech řádu *Piceetalia excelsae* (Kubát 1997, Chytrý et al. 1996, Dostál 1989).

e) Variabilita

Rostliny ze stinných stanovišť je možné zaměnit s *Diphasiastrum issleri*. Jejich sterilní větve jsou ploché, prodloužené a řídké. Řidší jsou i listy na větvích. Liší se také tvarem břišních listů, které jsou u *D. alpinum* zřetelně řapíkatě zúžené, i když méně výrazně než u rostlin z výslunných stanovišť.

Lycopodium alpinum subsp. *kablikianum*, popsán koncem 90. let 20. století z Krkonoš, má sporofyly podobného tvaru jako plavuník alpínský. Ve vegetativních částech se shoduje s *D. issleri*, ke kterému jej také většina autorů přiřazuje. Jeho sterilní prýty jsou silně zploštělé a břišní listy jsou velmi malé, široké asi jako 1/6 prýtu (Dostál 1989). Vzhledem k jeho morfologické charakteristice je dosti pravděpodobné, že se jedná o možného introgresivního křížence právě *D. alpinum* a *D. issleri*.

Mnozí autoři zjistili různé přechody mezi *D. alpinum* a *D. complanatum*, případně přiřadili *D. alpinum* ve vnitrodruhové hodnotě k *D. complanatum*. Avšak v mnoha případech se jednalo o *D. issleri* (Holub 1975).

3.1.3 *Diphasiastrum tristachyum* (Pursh) Holub – plavuník cypřiškovitý

a) Synonyma

Lycopodium tristachyum Pursh non Nutt;
L. chamaecyparissus A. Braun in Mutel; *L. complanatum* var.
chamaecyparissus (A. Braun) Döll; *L. complanatum* sensu
Wallr., H. P. Fuchs in Janchen; *L. sabinaefolium* Willd.;
L. complanatum L. subsp. *chamaecyparissus* (A. Braun)
Čelak.; *L. c.* subsp. *tristachyum* (Pursh) Dostál; *L.*
complanatum var. *tristachyum* (Pursh) Domin; *Diphasium*
tristachyum (Pursh) Rothm; *Diphasium complanatum* subsp.
chamaecyparissus (A. Braun) Dostál.

V některých českých dílech je *D. tristachyum*
uváděn jako plavuník trojklasý (Dostál 1989; Procházka
1965, 1966, 1980, 1998).



Obr. č. 6: Typický habitat
druhu *D. tristachyum*

b) Morfologická charakteristika

Tento vždyzelený chamaefyt je asi nejjemnější ze všech středoevropských zástupců rodu *Diphasiastrum*. Má plazivé, až 1m dlouhé, nezelené lodyhy, resp. oddenky uložené hluboko pod zemí (3 – 10 cm). Právě povaha jeho oddenku je jedním z hlavních determinačních znaků této rostliny. Nadzemní vzpřímené větve jsou 10 – 20 cm vysoké, slabě zploštělé. Na průřezu mají trojúhelníkovitý tvar, 1,5 – 2 mm v průměru a jsou úzce křídlaté. Jejich barva je šedozeleňá, na spodu jsou ojíňené. Tyto sterilní větve jsou hustě svazčité větvené, ne vějířovitě rozložené, ale spíš keříčkovitě nahloučené. Listy plavuníku cypřiškovitého jsou téměř stejného tvaru a velikosti. Postranní listy jsou přitisklé k větvi a často pod ni mírně ohnuté, takže jejich vrchol nebývá shora viditelný. Vnější okraj listů je oblý, většinou zřetelně skloněný pod větev. Hřbetní listy mají kopinatý tvar a jsou o trochu širší než listy postranní. Břišní listy jsou velikostně téměř shodné s hřbetními. Jsou přisedlé, sbíhavé a 2 – 3x užší než lodyha. Svým vrcholem nedosahují k bázi následujícího listu. Strobily (výtrusnicové klasy) bývají ve svazečcích po 2 - 7 na řídce olistěných 1,4 – 3 cm dlouhých stopkách. Jen na prostředních prýtech jsou na dlouhé, 1 – 3x vidličnatě větvené stopce. Sporofyly jsou na bázi široce vejčité náhle se zužující v dlouhou kopinatou špičku. Výtrusy dozrávají během července až září (Dostál 1989).

c) Rozšíření druhu

Diphasiastrum tristachyum má subatlantské - submediteránní cirkumpolární rozšíření. Nalézá se jak v severní, tak i ve střední Evropě; od jižní Skandinávie a Finska po střední Francii a severní Itálii. Nalezeny byly také jeho izolované lokality v rumunských Karpatech. Běžně se vykytuje i ve východní části Severní Ameriky.

d) Ekologie a výskyt

Primárními stanovišti tohoto druhu plavuníku jsou vřesoviště a kyselé bory ve 400 – 900 m.n.m. Jedná se tedy o kyselé, živinami chudé půdy, většinou vlhčího rázu (Dostál 1989). *D. tristachyum* je diagnostickým druhem svazu *Genisteon* a občas jej lze nalézt také ve společenstvech řádu *Piceetalia excelsae* (Kubát 1997, Chytrý et al. 1996, Dostál 1989).

Z mnoha oblastí (Skandinávie, belgických Arden, Lüneburger Heiden v Sasku) je popsán hojný výskyt *D. tristachyum* na pustinách prošlých ohněm. Umožňují to jeho podzemní oddenky, díky kterým tato rostlina přežívá oheň. Dokonce dochází k větším nárůstům několik let po požáru (Muller et al. 2003).

e) Variabilita

Dříve byl tento druh, i přes dokonalou znalost morfologie, často spojován s *Diphasiastrum complanatum* a českými autory považován za jeho varietu (Domin 1938) či poddruh (Dostál 1984). Většina dnešních autorů jej uznává jako samostatný druh (Rothmaler 1930, Wilce 1965, Rauschert 1967, Kubát 1997).

Lycopodium tristachyum var. *boreale* popsané ze severní Kanady (Victorin 1932) je pokládán za příbuzný taxon se severní odrůdou *D. zeilleri*, ale liší se od něj podzemním oddenkem – tím se přibližuje k *D. tristachyum*. Protože *D. tristachyum* bylo již ze Severní Ameriky popsáno, Á. et D. Löve (Löve & Löve 1961) považovali evropské rostliny za specificky odlišné a použili tak pojmenování *Diphasium chamaecyparissus*. Jejich úsudek byl ale chybný. Tento taxon se odlišuje od *D. tristachyum* množstvím charakteristik, které jsou stejně významné jako ty, odlišující *D. tristachyum* od *D. complanatum*.

3.2 Předpokládané vedlejší druhy

3.2.1 *Diphasiastrum issleri* (Rouy) Holub – plavuník Isslerův

a) Synonyma

Lycopodium alpinum L. race *issleri* Rouy; *Diphasium complanatum* (L.) Rothm. subsp. *issleri* (Rouy) Dostál; *Diphasium issleri* (Rouy) Holub; *Lycopodium issleri* (Rouy) Domin; *Lycopodium complanatum* L. subsp. *genuinum* var. *fallax* Čelak.; *Lycopodium complanatum* subsp. *issleri* (Rouy) Domin; *Lycopodium alpinum* L. subsp. *kablikianum* (Domin) Dostál; *Lycopodium complanatum* subsp. *kablikianum*; *Diphasium issleri* subsp. *kablikianum* (Domin) T. Wraber; *Diphasiastrum kablikianum* (Domin) Dostál; *Diphasium hastulatum* Siplivinskij.

b) Taxonomie – pravděpodobný původ

Diphasiastrum issleri je pravděpodobně hybridním druhem mezi *Diphasiastrum alpinum* a *Diphasiastrum complanatum* (Issler 1909, Domin 1938, Lawalrée 1957, Rauschert 1967, Futák 1963, 1967, Damboldt 1962, Pacyna 1972, Kubát 1997). Dříve však byl považován také za možného křížence *Diphasiastrum alpinum* - *Diphasiastrum tristachyum*.

Issler (1909, 1910) pojmenoval tuto rostlinu jako *D. complanatum* subsp. *anceps*. Ve své první práci (1909) ji odlišil od *D. alpinum* díky zelené barvě, zploštělým a širokým větévkám a malým břišním listům. Domin (1938) považoval Isslerovu původní rostlinu za „complanatoidní“ typ a pojmenoval ji var. *vittiforme*. Toto označení ale zahrnuje i jinou complanatoidní rostlinu druhu *D. issleri* popsanou z ČSR. Dominem popsané *Lycopodium issleri* také zahrnuje rostliny vykazující morfologickou příbuznost s *D. tristachyum* – toto je předpokládáno jako var. *subquadrangulum*. Protože názor týkající se statusu *D. issleri* Domin prezentoval pouze v české části svých spisů, byl někdy považován za přívržence „tristachyoidního“ původu *D. issleri*. Zdánlivou stoupenkyní posledně jmenovaného konceptu byla Wilce (1965), která díky pozorováním založeným na hodnocení šíře větévek a poměru celkové délky postranních listů k délce jejich volné části, zjistila, že hodnoty pro neznámou rodičovskou rostlinu se blíží spíše rostlinám *D. tristachyum* než *D. complanatum*. Svůj názor podpořila i faktem, že areál rozšíření *D. issleri* se překrývá s areálem *D. alpinum* a *D. tristachyum*, a že *D. tristachyum* se také účastní na původu hybridní kombinace. Avšak Wilce si neuvědomila možnost kombinace *D. alpinum* – *D. complanatum*, protože podle jejího názoru se tyto dva druhy vyskytují sympatricky, a proto, že mezi nimi existuje izolační mechanismus zabráňující vzájemné hybridogenezi. Zastáncem hypotézy Wilcové o původu *D. issleri* byl zřejmě také Siplivinskij (1973), který popsal rostliny příslušející rodičovské kombinaci *D. alpinum* – *D. complanatum* jako *Diphasium hastulatum*. Pozdější studium materiálu *D. issleri* z ČSR ukázalo, že rostliny *D. issleri* odpovídají kombinaci *D. alpinum* – *D. complanatum*.



Obr. č. 7: Typický vzhled druhu *D. issleri*

c) Morfologická charakteristika

Tento vždyzelený chamaefyt má plazivé až 1 m dlouhé, tuhé, nadzemní či zřídka mělce podzemí uložené lodyhy, resp. oddenky. Tyto jsou na koncích zřetelně zploštělé a zpravidla přilehlé k povrchu půdy. Bohatě větvené nadzemní vzpřímené prýty jsou jen málo vystoupavé, 10 – 20 cm vysoké, ve volných svazečcích. Sterilní větve jsou 2 - 3 mm široké, mají šedo-zelenou barvu a jsou jen slabě zploštělé s téměř trojúhelníkovitým průřezem. Jejich břišní strana je plochá, zatímco strana hřbetní je zřetelně konvexní. Postranní listy jsou odstálé, srpovitě zakřivené se sbíhovou částí 2 – 3x delší než částí volnou. Jejich kýl je ostrý a zakřivený na břišní stranu. Po celé délce jsou postranní

listy okrajem skloněné pod větev. Úzce kopinaté hřbetní listy jsou užší či stejně široké jako listy postranní. Vejčité břišní listy jsou poměrně velké - téměř stejné velikosti jako hřbetní a široké jsou asi jako 1/3 lodyhy. Mají úzce čárkovitý tvar, v apikální části jsou rozšířené. K větvi jsou přitisklé nebo poněkud odstávají, ale nikdy nejsou při bázi řapíkatě zúžené. Vyrůstají ze středního žebra, které sbíhá až k dalšímu listu. Na mladších větvích dosahují báze následujících listů. Výtrusnicové klasy rostou jednotlivě či vzácně po 2 na vrcholu rok starých, hustě olistěných větví. Jsou 2 – 3 cm dlouhé, přisedlé nebo na krátkých (maximálně 2 cm dlouhých) stopkách. Podlouhle zašpičatělé, eliptické sporofyly jsou na bázi klasu řidčeji umístěné a většinou jsou 1,5 (– 3) x delší než výtrusnice. Výtrusy dozrávají v srpnu až září (Dostál 1989).

d) Rozšíření druhu

Plavuník isslerův se subatlantsko-evropským rozšířením se v rámci střední Evropy vyskytuje zejména v její jižní části a v Alpách. Dále byl nalezen ve střední Sibiři a severovýchodní části Severní Ameriky. U nás se vyskytuje vzácně ve vyšších až horských polohách příhraničních hor. Na Slovensku nebyl nalezen vůbec.

e) Ekologie a výskyt

Stejně jako ostatní druhy plavuníků i tento preferuje kyselé, živinami chudé půdy. Vyskytuje se ve světlých jehličnatých, zvláště borových lesích, na vřesovištích a pastvinách či zarůstajících loukách (Dostál 1989). Jedná se o stanoviště intermediárního charakteru mezi lokalitami typickými pro rodičovské druhy. Nejčastěji se vyskytuje ve společenstvech svazu *Genistion* a řádu *Piceetalia excelsae* (Kubát 1997, Chytrý et al. 1996, Dostál 1989). Výškové rozpětí jeho rozšíření není dostatečně známo, avšak je předpokládáno mezi 690 – 1200 m.n.m. Podle údajů od Damboldta (1962) *D. issleri* zasahuje až do 2 300 m.n.m. V rámci České republiky je znám hlavně z podhůří až do hor. Patří zde však mezi vzácně rozšířené druhy.

f) Variabilita

Rostliny stinných stanovišť mohou připomínat slabě zakřivenými postranními listy a prodlouženými sbíhavými částmi listů *D. complanatum*, popř. *D. zeilleri*. Liší se od nich užšími křídly tvořenými sbíhovou částí listu (u *D. complanatum* jsou širší než málo výrazné střední žebro), vystouplým středním žebrem na břišní straně větví a širokou adaxiální plochou postranních listů. U rostlin ze slunných stanovišť jsou tyto charakteristiky méně výrazné; pravděpodobně se jedná pouze o ekomorfózy.

3.2.2 *Diphasiastrum oellgaardii* Stoor, Boudrie, Jerome, Horn et Bennert – plavuník Oellgaardův

a) Synonyma

Diphasium pseudo-issleri Holub.

b) Taxonomie – pravděpodobný původ

Na základě molekulárně-biochemických metod (allozymové elektroforézy pomocí isozymu glukoso-6-fosfát izomerázy a esterázy jako elektroforetických markerů) byl prokázán hybridní původ tohoto druhu. Jedná se o hybridogenní druh mezi *Diphasiastrum alpinum* a *Diphasiastrum tristachyum*.

Jeho popis se zveřejněním platného jména byl publikován až v roce 1996 skupinou francouzských a německých botaniků (Stoor et al. 1996), i když již počátkem 60. let 20. století jej od ostatních druhů plavuníků odlišil český botanik J. Holub (Holub 1960), později F. Procházka (1965, 1966), opět Holub (1975) a posléze Kubát (1997).

Holub objevil v Procházkově herbářové sbírce plavuníků ze Šumavy rostliny blízké příbuzné s *D. issleri*, kombinující charakteristiky *D. alpinum* a *D. tristachyum*. Tyto rostliny byly výrazně modrozelené. Větévky měly rovné, pouze mírně zploštělé. Břišní listy se jemně zužovaly k bázi, byly trochu odkloněné od stonku ke své nižší části, ale přikláněly se k němu špičkou a byly těžko odlišitelné od postranních listů, jejichž špička dosahovala následujících břišních listů. Hlavní stonek sice chyběl, ale pravděpodobně byl podzemní jako u *D. tristachyum*. Holub jej provizorně označil jako „*Diphasium pseudo-issleri*“ (Procházka 1997).

Holub objevil v Procházkově herbářové sbírce plavuníků ze Šumavy rostliny blízké příbuzné s *D. issleri*, kombinující charakteristiky *D. alpinum* a *D. tristachyum*. Tyto rostliny byly výrazně modrozelené. Větévky měly rovné, pouze mírně zploštělé. Břišní listy se jemně zužovaly k bázi, byly trochu odkloněné od stonku ke své nižší části, ale přikláněly se k němu špičkou a byly těžko odlišitelné od postranních listů, jejichž špička dosahovala následujících břišních listů. Hlavní stonek sice chyběl, ale pravděpodobně byl podzemní jako u *D. tristachyum*. Holub jej provizorně označil jako „*Diphasium pseudo-issleri*“ (Procházka 1997).

c) Morfologická charakteristika

Jedná se o vždyzelený, výrazně heliofilní chamaefyt s dlouze plazivými oddenky uloženými nad zemí či mělce pod povrchem. Jeho téměř vzpřímené, 4 – 18 cm dlouhé sterilní větve jsou poměrně hustě nahloučené, čímž připomíná *D. tristachyum*. Větve jsou zploštělé, ale někdy téměř čtyřhranné, asi 2 mm široké. Na rubu jsou modře ožíněné. Listy mají téměř stejnou velikost. Postranní jsou srpovitěho tvaru se špičkou zahnutou zpět k ose, odpovídají tedy tvarem i délkou *D. alpinum*. Hřbetní, k větvi přitisklé listy mají úzce kopinatý tvar a jsou přibližně stejně dlouhé jako listy boční. Břišní listy jsou vejčité kopinaté, dosahují asi 1/3 šířky větve a o málo přesahují bázi následujících postranních listů, které se poněkud střechovitě překrývají. Fertilní větve jsou čtyřhranné, nezploštělé a nesou stejnotvaré listy. Přisedlé nebo krátce stopkaté výtrusnicové klasy jsou většinou jednotlivé či vzácně po 2 – 3 (Stoor et al. 1996, Procházka 1997, 1998).

d) Rozšíření druhu



Obr. č. 8: Typický vzhled druhu *D. oellgaardii*

Rozšíření tohoto nejpozději popsaného druhu plavuníku není zatím dostatečně známo. Jeho klasické naleziště leží v Centrálním masivu ve Francii. Další naleziště jsou známa už jen z Krkonoš (Špindlerův mlýn) a z rakouské strany Šumavy, která tvoří východní hranici dosud známého celosvětového rozšíření tohoto druhu plavuníku (Procházka et al. 1998).

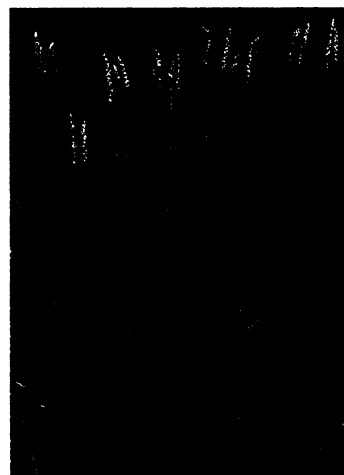
e) Ekologie a výskyt

Plavuník oellgaardův roste v nadmořských výškách od 760 do 1300 m.n.m. Vyskytuje se na vřesovištích, v řídkých lesích (často s příměsí borovice) i na obnažených místech bez vegetace na chudých kyselých půdách; a také na surovém humusu v ne zcela zapojených společenstvech s dominantními drobnými keříky typu *Calluna vulgaris* (vřes obecný), *Vaccinium myrtillus* (brusnice borůvka) či *Vaccinium vitis-idaea* (vlochyň bahenní; Procházka 1997, 1998).

3.2.3 *Diphasiastrum zeilleri* (Rouy) Holub – plavuník Zeillerův

a) Synonyma

Lycopodium complanatum L. race *zeilleri* Rouy; *Diphasium zeilleri* (Rouy) Damboldt; *Lycopodium complanatum* subsp. *eucomplanatum* Domin; *Lycopodium complanatum* L. var. *intermedium* Lindquist; *Lycopodium complanatum* L. var. *polystachyum* (H. Lindb.) Hittonen; *Diphasium complanatum* (L.) Rothm. var. *polystachyum* (H. Lindb.) Kukkonen; *Diphasium complanatum* (L.) Rothm. subsp. *montellii* Kukkonen.



Obr. č. 9: Typický habitat druhu *D. zeilleri*

b) Taxonomie – pravděpodobný původ

Plavuník zeillerův vznikl s největší pravděpodobností vzájemnou hybridizací *Diphasiastrum complanatum* s *Diphasiastrum tristachyum*.

c) Morfologická charakteristika

Tento vždyzelený chamaefyt má plazivý, nezelený oddenek uložený 1 – 10 cm pod zemí. Nadzemní vzpřímené větve jsou volně svazčité větvené (hustěji než u *D. complanatum*). Tyto sterilní prýty jsou zploštělé, mají 1,8 – 2,5 mm v průměru a na rubu jsou žlutavě zelené až šedozelené barvy. Listy na břišní straně jsou odlišné od listů hřbetních. Krátce sbíhavé, ostře kýlnaté postranní listy volně přiléhají k větví nebo špičkou od ní mírně odstávají. Obvykle jsou srpovitě zahnuté a nepatrně skloněné pod větev. Špičkami se dotýkají báze dalších listů. Hřbetní listy jsou čárkovitě kopinatého tvaru a přibližně stejné velikosti jako listy postranní. Břišní listy jsou delší než postranní; zabírají asi ¼ šířky větve. K větví volně přiléhají a jsou krátce sbíhavé.

U nejmladších částí větví dosahují vrcholem k bázi následujících listů. Přisedlé výtrusnicové klasy jsou 1,8 – 3,0 cm dlouhé. Rostou po 2 – 4 na 1 – 2x vidličnatě větvených, řídce olistěných stopkách pouze na středních prýtech. Sporofyly se náhle zužují v dlouhou špičku. Výtrusy dozrávají od srpna do září (Dostál 1989).

d) Rozšíření druhu

Geografické rozšíření tohoto druhu plavuníku se subatlantickým - evropským výskytem není zatím dostatečně známo. Byl nalezen ve střední Evropě, Skandinávii a v Severní Americe.

e) Ekologie a výskyt

Diphasiastrum zeilleri roste na kyselých půdách světlých borových lesů a pastvin (Dostál 1989), nejčastěji ve společenstvech řádu *Piceetalia excelsae*, zvláště svazu *Dicrano-Pinion* (Kubát 1997, Chytrý et al. 1996, Dostál 1989). Jedná se hlavně o lokality s přibližně intermediárním charakterem míst výskytu rodičovských druhů.

f) Variabilita

V subarktických oblastech byla zjištěna jistá rozdílnost mezi odrůdami plavuníků. Rostou zde rostliny mající 1 nebo 2 šištice na zkrácené stopce a nahuštěné krátké větévky postranních stonků. Ty byly popsány jako odrůda „*montellii*“. Porsild (1935) přiřadil rostliny popsané z Grónska původně jako *D. tristachyum* také ke druhu *D. zeilleri*.

Přehled srovnání hlavních charakteristik všech šesti středoevropských druhů plavuníků tvoří tabulka č. 3 zahrnutá v přílohách.

4. Problematika hybridizace a introgrese

Hybridizace je považována za jeden ze stěžejních mechanismů evoluce a je proto hojně studovanou oblastí v biosystematice rostlin (Briggs & Walters 2001, Rieseberg 1997, Wissemann 2007). Hybridizace, jakožto vzájemné křížení dvou různých druhů nebo odrůd organismů může dát vznik druhům novým, či mohou díky ní splývat druhy dočasně izolované. Potomci smíšeného páru - kříženci (hybridi) bývají často neplodní nebo mají plodnost nižší než potomci rodičů stejného druhu. Dříve byla hybridizace považována za přírodní raritu (více viz. Emms & Arnold 1997). Dnes je však považována spíše za velmi častý fenomén; významný v evoluci světové biodiverzity (Wissemann 2003). Předpoklad nižší fitness hybridů nebyl rovněž zcela podpořen. Naopak, jak ukazuje mnoho studií, jedním z nejvážnějších argumentů proti této teorii je adaptační potenciál hybridů na nové ekologické niky nacházející se mimo lokality rozšíření rodičovských druhů (např. Buerkle et al. 2003, Arnold et al. 1999, Burke & Arnold 2001, Johnston & Arnold 2003, Barton

2001). Průběh hybridizace závisí na mnoha faktorech, mezi něž patří např. rozmnožovací systém (pohlavní vs. nepohlavní vs. kombinace), životní strategie (jednoletky vs. trvalky), areál a struktura habitatu, lokalizace rostlin uvnitř areálu, šíření pylu a spor apod. (Wissemann 2007). Hybridizace může probíhat dvěma cestami - homoploidní speciace se týká hybridizace mezi dvěma taxony beze změny ploidie, zatímco allopolyploidní speciace je charakterizována změnou ploidie hybridních potomků od ploidního stupně rodičů. Hybridi často mívají liché ploidní číslo, což způsobující jejich nízkou plodnost či úplnou sterilitu. Může u nich dojít ke spontánnímu zdvojení sádky chromosomů (allopolyploidizaci) stabilizující jejich genom, či se mohou, při částečné plodnosti, zpětně křížit s jedním z rodičovských druhů (introgrese; Hegarty & Hiscock 2005). Polyploidie je v rostlinné říši velmi běžná – u krytosemenných rostlin je 30 – 80% druhů polyploidních, u kapradin je za polyploidy odhadováno více než 90% druhů (Soltis & Soltis 2000). Avšak nejnovější výzkumy naznačují, že pravým diploidem mezi krytosemennými rostlinami je pouze *Amborella trichopoda* Baill. (Soltis et al. 2009).

Specifickým příkladem je už výše zmíněná tzv. introgresivní hybridizace, kdy se díky sérii zpětných křížení postupně ztrácejí jednotlivé (genotypové i fenotypové) mezidruhovému rozdíly. Přestože se jedná o klíčový evoluční mechanismus, byla introgrese dosud jen málo studována u krytosemenných rostlin, tím méně pak u rostlin výtrusných. Rod *Diphasiastrum*, jak naznačují dosavadní výzkumy, je v tomto ohledu ideální modelovou skupinou.

V holocénu podpořil zásadním způsobem hybridizaci mnoha rostlin člověk, když celkové oteplení planety umožnilo jeho přechod od sběratelství a lovectví k pastevectví a zemědělství. Člověk proto udržoval bezlesí a narušoval tak ustálená klimaxová společenstva. To podpořilo snazší šíření konkurenčně slabších rostlin i jejich vzájemný kontakt a tím i jejich hybridizaci. Příkladem mohou být horské pastviny vzniklé vykácením původních lesů, díky čemuž se dostaly do kontaktu druhy alpského pásma s druhy nížinnými (např. Krahulcová & Krahulec 1999, Krahulec et al. 2004).

4.1 Hybridogenní druhy vs. recentní hybridy a možnost introgresivní hybridizace

Ze šesti druhů rodu *Diphasiastrum* vyskytujících se na území střední Evropy jsou tři druhy tradičně uznávány za druhy základní (*D. alpinum*, *D. complanatum*, *D. tristachyum*) a zbylé tři (*D. issleri*, *D. zeilleri*, *D. oellgaardii*) jsou označovány za druhy vedlejší, intermediární, vzniklé prostřednictvím hybridizace druhů základních. Toto bylo částečně prokázáno až v průběhu 20. století pomocí metody allozymové elektroforézy (Stoor et al. 1996). O hybridizaci v rámci rodu *Diphasiastrum* svědčí také cytologické výzkumy, které zaznamenaly dva cytotypy – diploidní a tetraploidní ($x = 11$, $2n = 2x = 22 - 23$, $2n = 4x = 44 - 48$). U všech třech základních druhů byly prokázány oba cytotypy. Diploidní byly nalezeny hlavně v oblasti Skandinávie a Velké Británie (Löve & Löve 1948, Wagner 1992). Avšak ve střední Evropě se velmi pravděpodobně vyskytují pouze cytotypy tetraploidní (Marhold et al. 2007, Dostál 1984). Ploidní úroveň vedlejších druhů je

známa mnohem méně. Na našem území byly nalezeny tetraploidní cytotypy, ale z jiných oblastí (USA, Skandinávie, Velká Británie) jsou uváděny také na úrovni diploidní (jedná se o *D. zeilleri*, *D. issleri*; Wagner 1992). Existence obou cytotypů u vedlejších druhů naznačuje jejich pravděpodobný vznik právě hybridizací druhů základních. Možným vysvětlením nálezu zjištěných ploidních úrovní by mohla být také autopolyloidizace vedlejších druhů. Protože však studia polyloidizace posledních let naznačují, že se jedná o velmi vzácný fenomén (Soltis et al. 2007), je tato hypotéza jen málo pravděpodobná.

Nicméně stále není potvrzeno, zda jsou vedlejší druhy skutečně hybridogenní či zda se jedná i o recentně vznikající hybridy. Mnozí autoři dokonce uznávanou taxonomii zpochybňují a doporučují její detailnější studii (Vogel & Rumsey 1999). Proti koncepci ustálených hybridů svědčí také neustále potvrzovaná vysoká míra hybridizace mezi základními druhy (Kukkonen 1994), a dokonce byly nalezeny i trihybridi (Gilman 1994). Všechny tři vedlejší druhy jsou velmi morfologicky plastické. Jsou proto často v různých regionech popisovány jako nové intraspecifické taxony (Wilson 2008). Příkladem může být *Diphasiastrum alpinum* subsp. *kablikianum* Domin (syn. *D. kablikanum* (Domin) Dostál, *D. issleri* sensu Rauschert, Holub) popsané pouze z Krkonoš na konci 90. let 20. století. Tato rostlina svými morfologickými charakteristikami představuje přechodný typ mezi *D. alpinum* a *D. issleri* (Kubát 1997, Dostál 1984, 1989) a lze ji tedy považovat za možný ustálený introgresní typ. Jelikož vedlejší druhy jsou zřejmě plně fertillní (Kukkonen 1994), ačkoli jsou to pravděpodobně homoploidní hybridy, lze introgresi očekávat u všech druhů rodu *Diphasiastrum*.

K potvrzení hybridního původu taxonu přispívá i skutečnost, že často neroste společně s rodičovskými druhy. Toto je však obtížně prokazatelné u výtrusných rostlin, neboť ty se mohou na dané lokalitě vyskytovat dlouhou dobu pouze ve stádiu gametofytu (Procházka & Harčarik 1999). Navíc se gametofyty pravděpodobně často vyskytují ve větším množství než sporofyty a zřejmě pohlavně dospívají až po 12-15 letech a mohou přežívat delší dobu než sporofyty (Procházka & Harčarik 1999).

5. Metodické přístupy řešení problematiky

Dříve používanými metodami výzkumu rodu *Diphasiastrum* byly zejména morfologická a ekologická pozorování, karyologie a světelná mikroskopie. Ty však nepostačují k přesnějšímu určení struktury populací a tedy ke kritickému zhodnocení mikroevočních procesů či genetické variability druhů. Díky allozymovým analýzám byla částečně vyřešena problematika taxonomie. Jednalo se o vyřešení původu F1 hybridů a polyploidů. Pro testování byla použita gelová isoenzymová analýza. Jako elektroforetické markery zde byly použity glukoso-6-fosfát isomeráza a esteráza (Stoor et al. 1996). Avšak pro úplné ověření mikroevočních vztahů v rámci skupiny i pro přesné taxonomické

zhodnocení vedlejších druhů apod. má dnešní botanika množství moderních molekulárních (např. AFLP, sekvence), cytologických (průtoková cytometrie), morfometrických (geometrická morfometrika) a statistických (multivariační morfometrika) technik.

5.1 Průtoková cytometrie

Průtoková cytometrie (anglicky *flow cytometry*, FCM) patří mezi moderní a perspektivní metody používané dnes v mnoha biologických postupech (nejen v botanice, ale i v imunologii, molekulární biologii, genetice, zoologii apod.). Mezi její aplikace patří například stanovení absolutního obsahu jaderné DNA, určení ploidie, detekce mixoploidie či aneuploidie, analýza buněčného cyklu, studium genové exprese, počítání a určení typu krevních buněk, detekce a charakterizace mikroorganismů, třídění požadovaných částic apod. (Suda 2005).

Tato metoda je založena na měření optických vlastností (fluorescence) fluorochromem obarvených izolovaných částic (jader, buněk) unášených velkou rychlostí v tenkém proudu kapaliny skrz optickou komůrku. V komůrce částice procházejí přes svazek paprsků a fluorochromem emitované světlo je zaznamenáváno a zpracováno počítačem.

Mezi hlavní přednosti průtokové cytometrie patří jednoduchost přípravy vzorků, velká rychlost analýz, nedestruktivnost (pro analýzy stačí velmi malá část materiálu), možnost analyzovat množství pletiv i nedělící se buňky a směsné vzorky. V neposlední řadě je předností této metody i velká přesnost měření (detekovatelné jsou už několikaprocentní rozdíly v množství DNA způsobené např. aneuploidií nebo mezidruhovou hybridizací) a nízké náklady analýz (Doležel 1997). Avšak i tato metoda má určité nedostatky – např. měření je ve většině případů třeba provádět s čerstvým, živým materiálem; u některých druhů mohou problémy způsobovat také sekundární metabolity, stejně jako vysoký obsah slizovitých látek v listech (Suda 2005).

Průtoková cytometrie nebyla nikdy v rámci rodu *Diphasiastrum* využita a měla by přinést náhled do vyřešení problematiky mezidruhových vztahů. Metoda má pomoci k ověření mikroevolučních vztahů skupiny, zejména s důrazem na potvrzení hybridního původu intermediárních taxonů. Vzhledem ke vzácnosti všech druhů plavuníků, je průtoková cytometrie, jakožto nedestruktivní metoda, velmi vhodná pro výzkum této skupiny.

5.2 Morfometrika

Morfometrické analýzy patří k nejdůležitějším postupům v biosystematice. Pro zpracování naměřených dat využívají mnohorozměrné statistické metody (hodnocení vzdáleností a úhlů v tělech a strukturách zkoumaných organismů). Z těchto jednotlivých vzdáleností však většinou není možné zpětně odvodit celkový tvar organismu či orgánu (Marhold & Suda 2002).

Cílem morfometriky bývá morfologické odlišení jedinců, populací, ploidních úrovní apod. Na srovnávané znaky je nahlíženo jako na taxonomicky stejně hodnotné, čímž je minimalizována subjektivnost pozorovatele (Marhold & Suda 2002).

Soubor dat získaný ze studia plavuníků bude zpracován pomocí mnohorozměrných statistických metod jakými jsou shlukovací analýza – PCA, kanonická diskriminační analýza – CDA a klasifikační diskriminační analýza.

5.3 Geometrická morfometrika

Geometrická morfometrika, dříve „nová morfometrika“, se začala rozvíjet koncem 80. a začátkem 90. let 20. století. Tento metodický přístup lze uplatnit v širokém spektru studií – např. při studiu ontogeneze, pohlavního dimorfismu a v neposlední řadě také v taxonomii (Neustupa 2006, Marhold & Suda 2002).

Tato metoda se snaží analyzovat a srovnávat tvar jednotlivých objektů. Navazuje na práce britského biologa D'Arcy W. Thompsona, který se pokusil vysvětlit veliké množství a rozmanitost tvarů v přírodě pomocí matematických zákonitostí, a sice deformací souřadnicových sítí – tzv. transformačních mřížek. Jedněmi z prvních prací pojednávající o geometrické morfometrice byla v r. 1991 publikace amerického biologa a matematika Freda Booksteina (*Geometric Tools for Morphometric Data: Geometry and Biology*) a některé publikace amerického biostatistika Jamese Rohlfy.

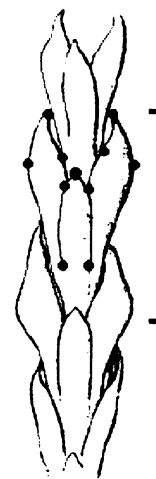
Metoda geometrické morfometriky nevychází ze vzdáleností mezi body, ale je založena na srovnání konfigurace (souřadnic) strukturně shodných – význačných bodů (landmarků) na souboru zkoumaných objektů. Poloha těchto bodů je zaznamenávána pomocí souřadnicové sítě. Dalším krokem je pak prokrustovská analýza, kde je analyzovaný soubor objektů počítačem přeložen přes sebe tak, aby mezi odpovídajícími si landmarky byly co nejmenší vzdálenosti. Po této analýze zůstává u každého objektu a pro každý landmark tzv. zbytková vzdálenost – tedy vzdálenost od landmarku u průměrného objektu celé sady. Zbytkové vzdálenosti všech landmarků informují o charakteristice tvaru každého jednotlivého zkoumaného objektu. Díky tzv. metodě ohebných pásků jsou získány informace o vzájemných tvarových změnách mezi zkoumanými objekty a definují tak tvaroprostor, ve kterém probíhá veškerá tvarová přeměna. V taxonomii umožňují tvaroprostory srovnávat např. podobnosti a odlišnosti různých druhů, v biogeografii lze tvaroprostorové trendy spojovat s geografickým rozšířením různých populací studovaných druhů atd.

Data získaná pomocí geometrické morfometriky je možné dále vyhodnocovat běžnými mnohorozměrnými metodami, jakými jsou například analýza hlavních komponent, shlukovací analýza, případně diskriminační analýza (Marhold & Suda 2002).

Předpokládá se, že zhodnocením souboru různých druhů rostlin rodu *Diphysastrum* pomocí klasické a geometrické morfometriky budou ověřeny užívané determinační charakteristiky,

popřípadě nalezeny charakteristiky nové, a tím jednoznačně vymezeny sporné hybridogenní skupiny. Pro vyhodnocení charakteristik pomocí klasické morfometriky bude vytipováno 10-15 kvantitativních znaků na každé rostlině a pro zpracování budou použity mnohorozměrné statistické metody. Vyhodnocení pomocí geometrické morfometrické analýzy budou provedena na cca 10 vytipovaných landmarcích (viz. obr.č. 10).

Plavuníky jsou díky svému „jednoduchému“ tvaru a malé morfologické proměnlivosti pro použití této metody velmi vhodné.



5.4 Možné další postupy – molekulární metody

Stejně jako průtoková cytometrie je dnes i studium genetické variability pomocí molekulárních markerů hojně používanou metodou ve studiích

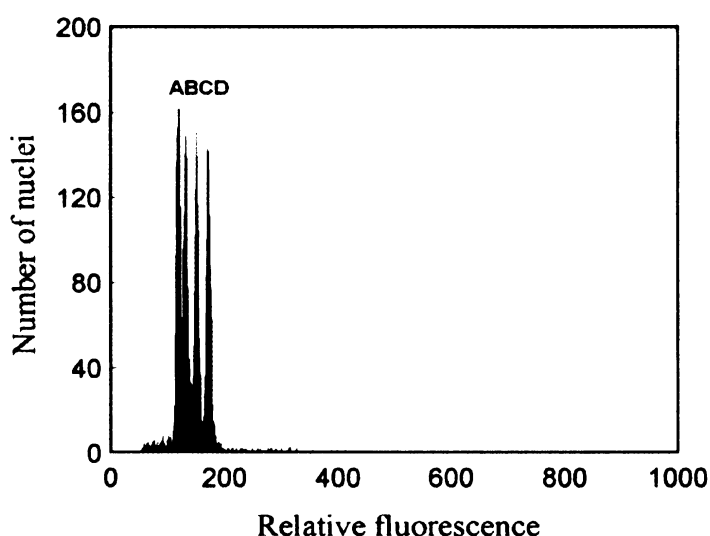
systematiky a ekologie. První snahy o vyřešení problematické taxonomie rodu *Diphasiastrum* byly uskutečněny pomocí allozymových analýz v roce 1996 (Stoor et al. 1996). Pro identifikaci druhově specifických markerů, stanovení genetické variability na několika úrovních, zjištění příbuzenských vztahů a detekci hybridních jedinců je možné využít metody detekující polymorfismus na úrovni celého genomu – zejména AFLP (Vos et al. 1995). Některé druhy plavuníků již byly využity ke studiu fylogeneze celé čeledi *Lycopodiaceae*. Například sekvenování specifických chloroplastových intronů (*rbcL* genů a *trnL* intronů) naznačilo možnou parfyletičnost rodu (Wilkström 2001, Wilkström & Kenrick 1997, 2000, 2001; viz. zařazení do systému).

Obr. č. 10: Část lodyhy *D. alpinum* (spodní strana) s vyznačenými (semi-) landmarky. Použita budou tři patra lístků nad sebou (jedno patro vyznačeno úsečkou).

Metoda nazývaná AFLP (anglicky *Amplified fragment length polymorphism* = délkový polymorfismus amplifikovaných fragmentů) je jednou z nejvýznamnějších biosystematických metod. Je využívána v genetickém výzkumu, při zjišťování DNA z otisků prstů i v praktickém genovém inženýrství. Metoda AFLP byla vyvinuta na počátku 90. let 20. století společností KeyGene. Poprvé byla popsána v r. 1995 (Vos et al. 1995). Podstatou této metody je štěpení DNA restričními enzymy a následná selektivní amplifikace (znásobení) vzniklých DNA fragmentů. Metodu AFLP je možné aplikovat bez předběžných znalostí DNA sekvence daných organismů, pomocí této metody bude pravděpodobně možné ověřit (spolu s použitím průtokové cytometrie) mikroevoluční vztahy mezi jednotlivými druhy i uvnitř rodu *Diphasiastrum*. A to především s důrazem na potvrzení hybridogenního původu vedlejších intermediárních taxonů.

6. Dosavadní výsledky

V roce 2007 – 2008 byla provedena pilotní cytometrická studie zástupců rodu *Diphasiastrum*. Bylo měřeno celkem 115 rostlin z lokality Hochficht (rakouská strana Šumavy) a Kaproun (Jihlavské vrchy). Jako interní standard byl při měření použit *Pisum sativum* cv. *Ctirad*, který má genom podobné velikosti jako plavuníky. Průtoková cytometrie odhalila skutečnost, že všechny základní, sympatricky rostoucí druhy se významně odlišovaly obsahem jaderné DNA (histogram *D. alpinum*, *D. complanatum*, *D. tristachyum*, *D. zeilleri* – viz. obr. č. 11).



Obr. č. 11: Simultánní analýza absolutní velikosti genomu čtyř druhů plavuníků:

- A - *D. alpinum* (CV 2,06%)
- B - *D. complanatum* (CV 1,97%)
- C - *D. zeilleri* (CV 1,65%)
- D - *D. tristachyum* (CV 1,7%).

Genom extrémních druhů (nejmenší u *D. alpinum* a největší u *D. tristachyum*) se průměrně lišil o 45%, i když oba typy měly shodný počet chromozomů ($2n = 44$; Jarolímová, nepubl.). Velmi často se zde vyskytovaly také rostliny přechodných typů vykazující intermediární velikost genomu mezi jednotlivými udávanými základními druhy (viz. histogram – *D. alpinum*, *D. complanatum*, *D. tristachyum*, *D. zeilleri* - obr. č. 3). Avšak zjištěná absolutní velikost genomu několika rostlin neodpovídala rozmezí žádného ze studovaných druhů.

7. Závěr

Využití velikosti genomu jakožto specifika přináší možnost rychlé a jednoznačné diskriminace taxonů, jejich primárních hybridů i vytipování sporných jedinců, kteří mohou potencionálně být jejich zpětnými kříženci.

Průtokovou cytometrií zjištěné intermediární velikosti genomů ležících mezi velikostmi zjištěnými u tzv. základních druhů plavuníků (*D. alpinum*, *D. complanatum* a *D. tristachyum*) ukazuje na přechodné typy rostlin a indikuje tak jejich hybridní původ vzniklý kombinací druhů základních. Jelikož některé analyzované rostliny byly obtížně určitelné a ani absolutní velikost jejich genomu neodpovídala rozmezí žádného ze studovaných druhů, lze je považovat za produkty introgresivní hybridizace.

8. Otázky pro diplomovou práci

1. Stanovení diference jednotlivých taxonů na úrovni absolutní velikosti genomu a potvrzení uváděné kombinace rodičovských taxonů u vedlejších druhů.
2. Určení míry hybridizace, včetně introgresivní užitím znalostí struktury absolutní velikosti genomu, morfologických a případně molekulárních charakteristik.
3. S využitím mnohorozměrných statistických postupů ověření užívaných morfologických determinačních znaků, případně nalezení nových druhově specifických, a to především s důrazem na tvarové charakteristiky.
4. Kombinací získaných biosystematických charakteristik zjistit, zda vedlejší druhy jsou recentně vznikajícími hybridy či zda se jedná o hybridogenní taxony.
5. Aplikování získaných poznatků na efektivní ochranu studovaných taxonů (vytipování ochranných nejvíce nejcennějších lokalit a návržení odpovídajícího managementu).

9. Seznam literatury

- Adler, W., Oswald K. & Fischer R. (1994): Exkursionsflora von Österreich. - Ulmer, Stuttgart.
- Arnold, M.L., Bulger, M.R., Burke, J.M., Hempel, A.L., and Williams, J.H. (1999): Natural hybridization: How low can you go and still be important? - *Ecology* 80(2): 371-381.
- Barton, N.H. (2001): The role of hybridization in evolution. - *Molecular Ecology* 10(3): 551-568.
- Bennert, H.W. (1999): Die seltenen und gefährdeten Farnpflanzen Deutschlands.- Biologie, Verbreitung, Schutz. Bundesamt für Naturschutz Bonn, Bonn BadGodesberg.
- Bennert H.W., Suksathan P., Horn K. (2007): *Diphasiastrum multispicatum* (J.H. Wilce) Holub (Lycopodiaceae) in Thailand. *American Fern Journal* 97: 155-165.
- Briggs, D., Walters, S.M.(2001):. Proměnlivost a evoluce rostlin. Univerzita Palackého, Olomouc.
- Holub, J. (1960): Nové nebo méně známé rostliny květeny ČSSR. – *Preslia*, Praha, 32: 423-426.
- Holub, J.(1964): Miscellanea ad floram čechoslovacum pertinentia (1. – 17.). – *Acta Horti Bot. Pragensis*, Praha, 1963: 47 – 59.
- Bruce, J.G. (1979): Gametophyte of *Lycopodium-digitatum*. *American Journal of Botany* 66(10): 1138-1150.
- Buerkle, C.A., Wolf, D.E., and Rieseberg, L.H. (2003): The origin and extinction of species through hybridization. - In *Population Viability in Plants: Conservation, Management, and Modeling of Rare Plants*. Springer-Verlag Berlin, Berlin. pp. 117-141.
- Burke, J.M., Arnold, M.L. (2001): Genetics and the fitness of hybrids. - *Annual Review of Genetics* 35: 31-52.
- Damboldt, J. (1962): *Lycopodium issleri* in Bayern. – *Ber. Bayer. Bot. Ges., München*, 35: 20 – 22.
- Doležel J. (1997): Application of flow cytometry for the study of plant genomes. – *Journal of Applied Genetics* 38: 285-302.
- Domin, K. (1938): *Lycopodium issleri* Rouy v Československu a o variabilitě našich plavuní ze sekce *Heterophylla* Spring. – *Rozpravy Čes Akad., Cl. 2, Praha*, 49/19: 1 –28.
- Dostál J. (1984): *Diphasiastrum* - In Conert H. J. (ed.), Hegi, G., (1984), *Illustrierte Flora von Mitteleuropa*, p. 28 - 43, Verlag Paul Parey, Hamburg.
- Dostál J. (1989): *Nová květena ČSSR*, I. díl, Academia Praha 1989
- Emms, S.K., Arnold, M.L. (1997): The effect of habitat on parental and hybrid fitness: Transplant experiments with Louisiana irises. - *Evolution* 51(4): 1112-1119.
- Futák, J. (1963): Rod *Diphasiastrum* Presl. em. Rothm. (*Lycopodium* L. p.p.) na Slovensku. – *Biológia*, Bratislava, 18: 256 – 264.
- Gilman, A.V. (1994): A new tri-hybrid Lycopod, *Diphasiastrum-digitatum* x *sabinifolium*. - *Rhodora* 96(887): 287-293.
- Haeupler H. & Muer T. (2007): *Bildatlas der Farn- und Blütenpflanzen Deutschlands*. 2. Auflage, pp. 20-64. Stuttgart (Hohenheim) : Ulmer, 2007.
- Hegarty, M.J.and Hiscock S.J. (2005): Hybrid speciation in plants: new insights from molecular studies. - *New Phytologist* 165/2: 411-423.
- Holub J. (1975): *Diphasiastrum*, a new genus in Lycopodiaceae. *Preslia* 14: 97-100.
- Holub, J. (1985): Transfers of *Lycopodium* species to *Huperzia* – with a note on generic classification in *Huperziaceae* - *Folia Geobotanica & Phytotaxonomica* 20(1): 67-80.
- Holub, J. (1991): Some taxonomic changes within Lycopodiales. - *Folia Geobotanica & Phytotaxonomica* 26(1): 81-94.
- Hultén E. (1958): The amphi-Atlantic plants and their phytogeographical connections. *Kongl. Svenska Vetenskapsakad. Handl. - Fjärde Serien* 7:1-340.
- Issler, E. (1909): Die Vegetationsverhältnisse der Zentralvogesen mit besonderer Berücksichtigung des Hohnackgebietes. – *Engler Bot. Jahrb., Leipzig*, 43, Beibl. 99: 6 –62.

- Issler, E. (1910): Über 3 in den Vogesen vorkommende Lycopodium-Formen aus der complanatum-Gruppe. – Mitteil. Philomat. Ges. Elsass-Lothringen, Strasbourg, 4: 438 – 442.
- Jäger E. J. & Werner K. (2005): Exkursionsflora von Deutschland. Begr. von W. Rothmaler. Bd. 4: Kritischer Band., 10. Aufl., p. Heidelberg, Spektrum Akademischer Verlag.
- Jalas, J. & Suominen, J. (eds.) (1972): Atlas Florae Europaeae. Distribution of Vascular Plants in Europe. - 1. Pteridophyta (Psilotaceae to Azollaceae). — The Committee for Mapping the Flora of Europe & Societas Biologica Fennica Vanamo, Helsinki.
- Jerry A. C. (1993): Lycopodiaceae – In Tutin T. G., Burges N. A., Chater A. O., Edmondson J. R., Heywood V. H., Moore D. M., Valentine D.H., Walters S.M. & Webb D.A.. (eds.) Flora Europaea 2. edition Cambridge University Press, Cambridge p 5.
- Johnston, J.A., Arnold, M.L., Donovan, L.A. (2003): High hybrid fitness at seed and seedling life history stages in Louisiana irises. - Journal of Ecology 91(3): 438-446.
- Judd, W.S., Soltis, D.E., Soltis, P.S., Ionta, G. (2007): *Tolmiea diplomenziesii*: A new species from the Pacific Northwest and the diploid sister taxon of the autotetraploid *T. menziesii*
- Kalio, P., Laute, U. et Mäkinen, Y.(1969): Vascular flora of Inari Lapland. - 1. Introduction and Lycopodiaceae – Polypodiaceae. – Annal. Univ. Turkuensis, Ser. A, Biol. –Georg., Turku, 42: 1 - 108
- Kubitzki K. (1990): The families and genera of vascular plants. - Springer, Berlin, p. 36-37.
- Krahulcova, A., Chrtek, J., Krahulec, F. (1999): Autogamy in *Hieracium* subgen. *Pilosella*. - Folia Geobotanica 34(3): 373-376.
- Krahulec, F., Krahulcova, A., Fehrer, J., Brautigam, S., Plackova, I., Chrtekjun, J. (2004): The sudetic group of *Hieracium* subgen. *Pilosella* from the Krkonose Mts: a synthetic view. - Preslia 76(3): 223-243.
- Kubát K. (1997): Lycopodiaceae – In Hejný S. & Slavík B. (eds.): Květena České republiky 2. vyd., Academia, Praha 1997.
- Kubát K. (2002): Lycopodiaceae – In Kubát K., Hrouda L., Chrtek J. jun., Kaplan Z., Kirschner J. & Štěpánek J.(eds.) (2002): Klíč ke květeně České republiky, Academia, Praha.
- Kukkonen, I.(1967): Studies on variability of *Diphassium* (*Lycopodium*) *complanatum* complex in Finland. - Botaniska Notiser 120(4): 500-&.
- Kukkonen, I. (1994): Notes on the treatment of the family Lycopodiaceae for Flora-Nordica. - Annales Botanici Fennici 31(3): 197-202.
- Kukkonen, I. (1970): A nomenclatural note on the Fennoscandian *Diphassium complanatum*. – Annal. Bot. Fenn., Helsinki, 7: 142
- Kukkonen, I.(2000): Lycopodiaceae. Pp. 1–13, in Jonsell, B., ed. Flora Nordica. Volume 1. Lycopodiaceae to Polygonaceae. - Bergius Foundation, The Royal Swedish Academy of Sciences, Stockholm.
- Lawalrée, A. (1957): Une Lycopode ardennaise méconnu, *Lycopodium issleri*. – Bull. Soc. Bot. Belg., Bruxelles, 90: 109 – 120.
- Löve Á. & Löve D. (1948): Chromosome numbers of northern plant species. – University Institute of Applied Sciences, Department of Agriculture Reports, Ser. B 3: 1–131, Reykjavik, p 3.
- Ma, X., and Gang, D. (2004): The Lycopodium alkaloids. - Nat Prod Rep 21(6): 752-772.
- Marhold K., Mártonfi P., Mered'a P., Mráz P.(2007): Chromosome Number Survey of the Ferns and Flowering Plants of Slovakia, Bratislava : Veda,p 5.
- Marhold K., Suda J. (2002): Statistické zpracování mnohorozměrných dat v taxonomii, Karolinum, Praha.
- Meusel, H., Jäger, E. & Weinert, E. (1965): Vergleichende Chorologie der entraleuropäischen Flora 1., VEB FischerJena, p.5.

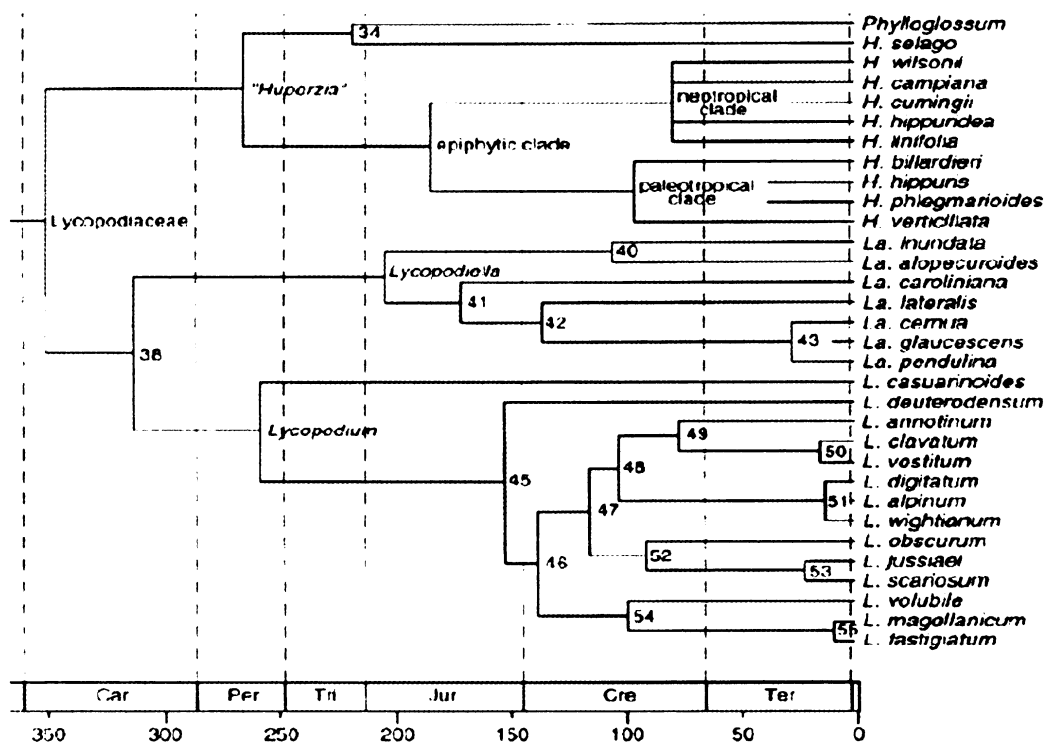
- Muller S., Jérôme C. & Horn K. (2003): Importance of secondary habitats and need for ecological management for the conservation of *Diphasiastrum tristachyum* (Lycopodiaceae, Pteridophyta) in the Vosges Mountains (France). - *Biodiversity and Conservation*, 12, p. 321-332.
- Neustpa, J. (2006): Co je to geometrická morfometrika aneb morfologie znovu na scéně. - *Živa* 54: 54-56.
- Oinonen, E. (1968): The size of *Lycopodium clavatum* L. and *L. annotinum* L. stands as compared to that of *L. complanatum* L. and *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn stands, the age of tree stands and the dates of fire on the site. - *Acta Forestalia Fennica* 87: 1 – 53.
- Oellgaard, B. (1987): A revised classification of the Lycopodiaceae s. lat.. - *Opera Botanica* 92: 153 – 178.
- Ollgaard, B., Tind, K. (1993): Scandinavian ferns. – Copenhagen.
- Pacyna, A. (1972): Biometrics and taxonomy of the Polish species of the genus *Diphasium* Presl. – *Fragm. Flor. Geobot., Kraków*, 18: 255 – 297.
- Procházka P. (1999): *Diphasiastrum* – In Čeřovský J., Feráková V., Holub J., Maglocký Š. & Procházka F. (eds.): Červená kniha ohrožených a vzácných druhů rostlin a živočichů ČR a SR. 5., Příroda, Bratislava, p. 132-33.
- Procházka, F. (1965): K rozšíření Pteridophyt na Šumavě a v Předšumaví. - *Sborník Jihočeského Muzea České Budějovice, Přírodní vědy* 5: 37-60.
- Procházka, F. (1966): K problematice chráněných druhů kaprad'orostů v Československu. - *Ochrana Přírody* 21: 141-144.
- Procházka, F. (1980): Současné změny východočeské flory a poznámky k rozšíření chráněných druhů rostlin. - *Krajské muzeum Hradec Králové, Hradec Králové*, 135 p.
- Procházka, F. (1997): *Diphasiastrum oellgaardii* - a new species in the flora of the Czech Republic. - *Preslia* 69: 169-173.
- Procházka F. [ed.] (2001): Černý a červený seznam cévnatých rostlin České Republiky (stav v roce 2000). – *Příroda* 18: 1-166.
- Procházka F. & Harčarik J. (1999): New localities of *Diphasiastrum* species in the Krkonoše Mts and elsewhere in the Czech Republic where three or more species of this genus are recorded. - *Preslia, Praha*, 71: 193-215.
- Procházka F., Švarc J. Vaněčková L. (1998): Nová lokalita plavuníků (*Diphasiastrum*) v jihovýchodních Čechách. – *Vlastiv. Sborn. Vysočiny, Jihlava, sect. natur.*, 13: 283–286.
- Rauschert, S. (1967): Taxonomie und Chorologie der *Diphasium*-Arten Deutschlands (Lycopodiaceae). – *Hercynia, Leipzig*, 4: 439 – 481.
- Rieseberg, L.H. (1997): Hybrid origins of plant species. - *Annual Review of Ecology and Systematics* 28: 359-389.
- Rothmaler, W. (1930): Pteridophyten-Studien I. – *Feddes Repetitorium* 54: 52 - 82
- Siplivinskij, V.N. (1973): Zamětki o bajkaľskoj flore, 1. – *Novosti Sist. Vysšich Rast.*, Leningrad, 10/1973: 345 – 361.
- Skog, J. & Hill E., C.R. (1992): The mesozoic herbaceous Lycosids. - *Annals of the Missouri Botanical Garden* 79(3): 648-675.
- Soltis D., Soltis P., Schemske D., Hancock J., Thompson J., Husband B., Judd W. (2007): Autopolyploidy in angiosperms: have we grossly underestimated the number of species? - *Taxon* 56: 13-30.
- Soltis, D.E., Albert, V.A., Leebens-Mack, J., Bell, C.D., Paterson, A.H., Zheng, C.F., Sankoff, D., dePamphilis, C.W., Wall, P.K., Soltis, P.S. (2009): Polyploidy and Angiosperm diverzification. - *American Journal of Botany* 96(1): 336-348.

- Soltis, D.E., Burleigh, J.G. (2009): Surviving the K-T mass extinction: New perspectives of polyploidization in angiosperms. - *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106(14): 5455-5456.
- Stoor, A. M., M. Boudrie, C. Jerome, K. Horn & H. W. Bennert. (1996): *Diphasiastrum oellgaardii* (Lycopodiaceae, Pteridophyta), a new lycopod species from Central Europe and France. *Feddes Repertorium* 107: 149-157.
- Suda, J. (2005): Co se skrývá za průtokovou cytometrií? *Živa* 53:46-48.
- Thomas, B.A. (1992): Paleozoic herbaceous Lycopoids and the beginnings of extant *Lycopodium* sens lat and *Sellaginella* sens lat. - *Annals of the Missouri Botanical Garden* 79(3): 623-631.
- Victorin, M. (1932): Sur quelques Ptéridophytes nord-américaines. – *Contrib. Laborat. Bot. Univ. Montréal* 21: 1 – 7.
- Vogel, J. C. F. J. Rumsey. (1999): On the status of *Diphasiastrum oellgaardii* (Lycopodiaceae, Pteridophyta). *Feddes Repertorium* 110: 439-445.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Vandele, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M., Zabeau, M. (1995): AFLP - A new technique for DNA-fingerprinting. - *Nucleic Acids Research* 23(21): 4407-4414.
- Wagner, F.S. (1992): Cytological problems in *Lycopodium* sens lat. - *Annals of the Missouri Botanical Garden* 79(3): 718-729.
- Wagner & W.H., Beitel, J.M. (1992): Generic classification of modern North-American Lycopodiaceae. - *Annals of the Missouri Botanical Garden* 79(3): 676-686.
- Whittier, D.P. (2003): The gametophyte of *Diphasiastrum sitchense*. - *American Fern Journal* 93(1): 20-24.
- Wikstrom, N. & Kenrick, P. (1997). Phylogeny of Lycopodiaceae (Lycopsidea) and the relationships of *Phylloglossum drummondii* kunze based on rbcL sequences. *International Journal of Plant Sciences* 158(6): 862-871.
- Wikstrom, N. & Kenrick, P. (2000): Phylogeny of epiphytic *Huperzia* (Lycopodiaceae): paleotropical and neotropical clades corroborated by rbcL sequences. - *Nordic Journal of Botany* 20(2): 165-171.
- Wikstrom, N. & Kenrick, P. (2001): Evolution of Lycopodiaceae (Lycopsidea): Estimating divergence times from rbcL gene sequences by use of nonparametric rate smoothing. - *Molecular Phylogenetics and Evolution* 19(2): 177-186.
- Wilce, J. H. (1965): Section *Complanata* of the genus *Lycopodium*. – *Beih. Nova Hedwigia* 19: 1 – 233 and 40 pls.
- Wissemann, V. (2003): Hybridization and the evolution of the nrITS spacer region. - In *Phanerogams, Vol 1, Pt A*. Science Publishers Inc, Enfield. pp. 57-71.
- Wissemann, V., Riedel, M., Riederer, M. (2007): Matroclinal inheritance of cuticular waxes in reciprocal hybrids of *Rosa* species, sect. *Caninae* (Rosaceae). - *Plant Systematics and Evolution* 263(3-4): 181-190.

10. Přílohy

Schéma č. 1: Fylogenetický strom evolučních vztahů uvnitř čeledi *Lycopodiaceae* s uvedením geologického času divergence jednotlivých skupin. Ten byl určen pomocí ze sekvencí *rbcL* chloroplastových genů použitím Sandersonovy NPRS (= *Nonparametric Rate Smoothing*) analyzovací metody (Wikström & Kenrick 2001).

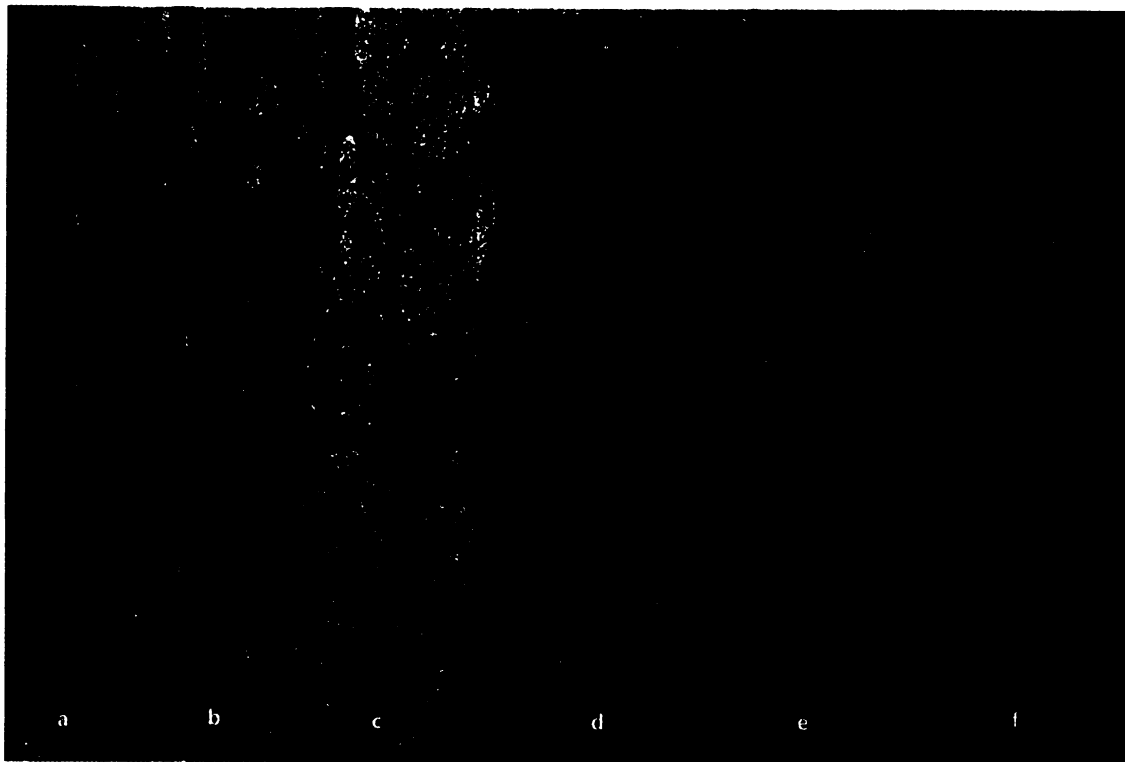
Schéma ukazuje na monofyletický původ rodů *Lycopodium* a *Lycopodiella*, zatímco rod *Huperzia* je parafyletickým k monotypickému rodu *Phylloglossum*. Také je zřejmé, že větev *Huperzia* - *Phylloglossum* je sesterská k větvi *Lycopodium* - *Lycopodiella*.



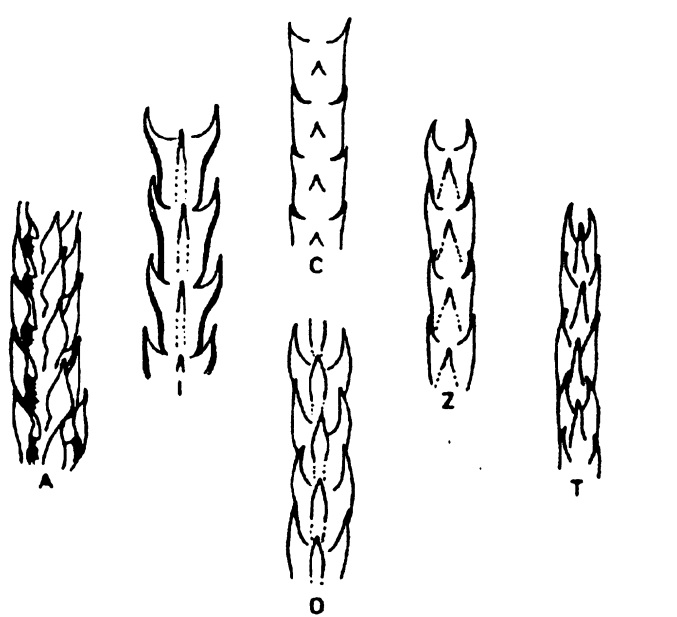
Tab. č. 1: Srovnání tří nejvíce citovaných klasifikací čeledi *Lycopodiaceae* (Wikström & Kenrick 2000). Wagner & Beitel (1992) uvažovali pouze severoamerické druhy a druhy označené symbolem „X“ nejsou v jejich klasifikaci zahrnuty. Ačkoli všechny tři klasifikace obecně souhlasí s celkovým pojetím skupiny, jsou zde velké rozdíly v třídění. Např. rod *Phylloglossum* je zahrnut pouze v Oellgaardově zpracování (1987).

Øllgaard (1987)			Wagner and Beitel (1992)			Holub (1985)	
Family	Genus	Section	Family	Subfamily	Genus	Family	Genus
Lycopodiaceae	Huperzia	22 informal groups	Lycopodiaceae	Huperzioidae	Huperzia Phlegmarium	Huperziaceae	Huperzia
	Lycopodium	Lycopodium Annotina Obscura Magellanica Lycopodiastrium Pseudolycopodium Pseudodiphasium Complanata Diphasium		Lycopodioidae	Lycopodium	Lycopodiaceae	Lycopodium
	Lycopodiella	Lycopodiella Caroliniana Campylostachys Laticostachys		Lycopodielloidae	Lycopodiella Pseudolycopodiella Palhinhaea X		Lycopodiella Pseudolycopodiella Palhinhaea Laticostachys
	Phylloglossum				X		X

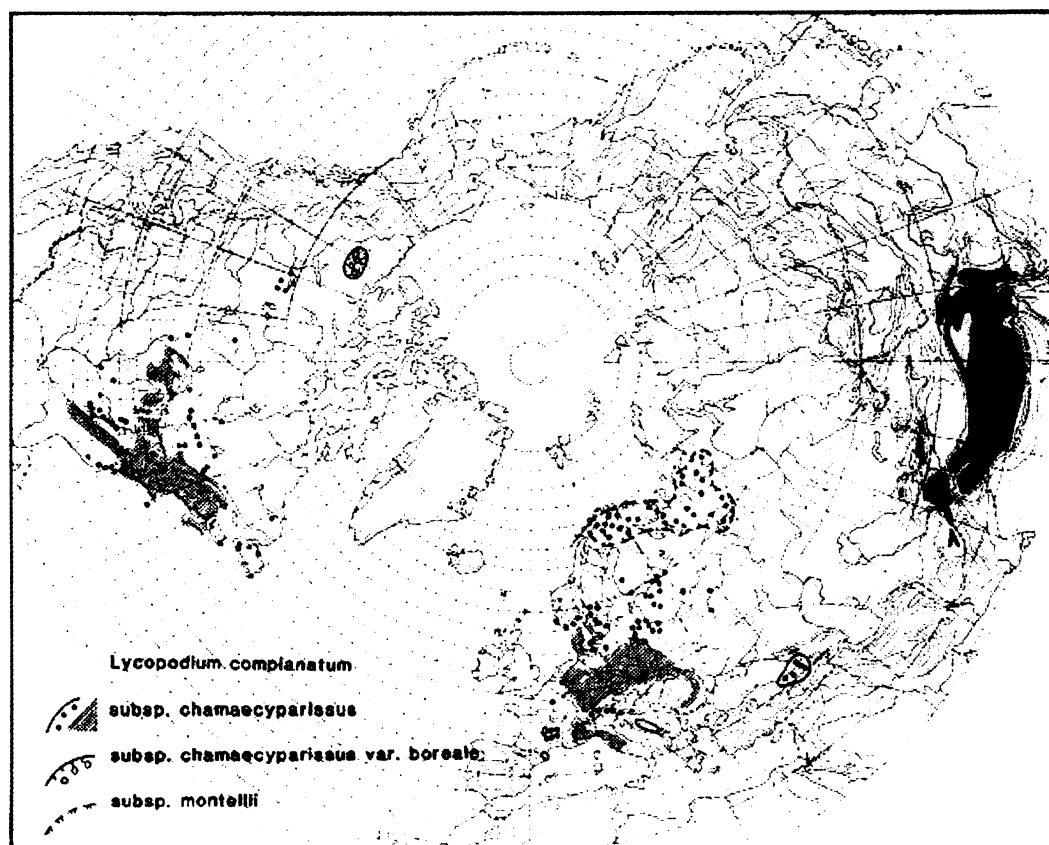
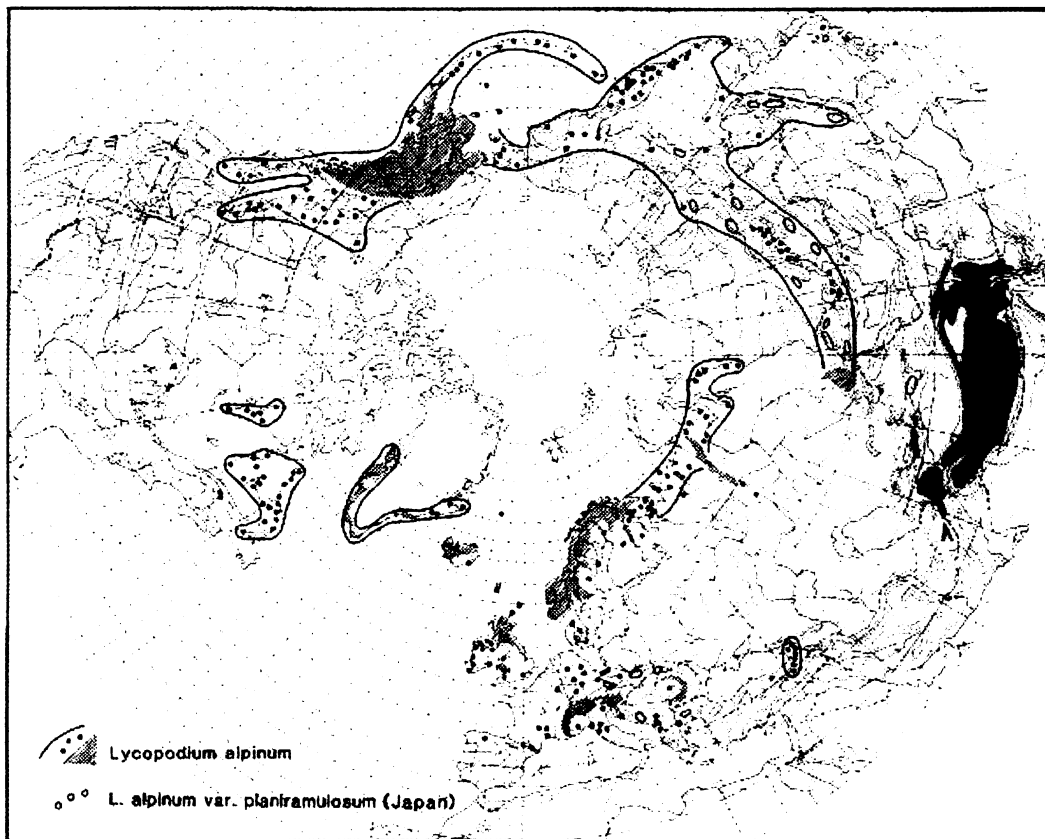
Obr. č. 2: Srovnání lodyh všech šesti středoevropských druhů rodu *Diphasiastrum* (Haeupler & Muer 2007).
a – *D. tristachyum*, **b** – *D. zeilleri* (předpokládaný hybridní druh mezi *D. tristachyum* a *D. complanatum*),
c – *D. complanatum*, **d** – *D. issleri* (pravděpodobný hybrid *D. complanatum* – *D. alpinum*),
e – *D. alpinum*, **f** – *D. oellgaardii* (předpokládaný hybrid *D. alpinum* – *D. tristachyum*).



Obr. č. 2a: Břišní strana sterilních větví českých druhů rodu *Diphasiastrum* (Procházka et al. 1998).
A – *D. alpinum*, **I** – *D. issleri* (pravděpodobný hybrid *D. complanatum* – *D. alpinum*),
C – *D. complanatum*, **Z** – *D. zeilleri* (pravděpodobný hybrid *D. tristachyum* – *D. complanatum*),
T – *D. tristachyum*, **O** – *D. oellgaardii* (předpokládaný hybrid *D. alpinum* – *D. tristachyum*).



Obr. č. 3: Znárodnění geografického celosvětového rozšíření 2 druhů plavuníků - *D. alpinum* a *D. complanatum* (Meusel 1965). Mapa ukazuje na arktó - alpínské rozšíření *D. alpinum*, zatímco pro *D. complanatum* je typické rozšíření spíše boreálně - kontinentální.



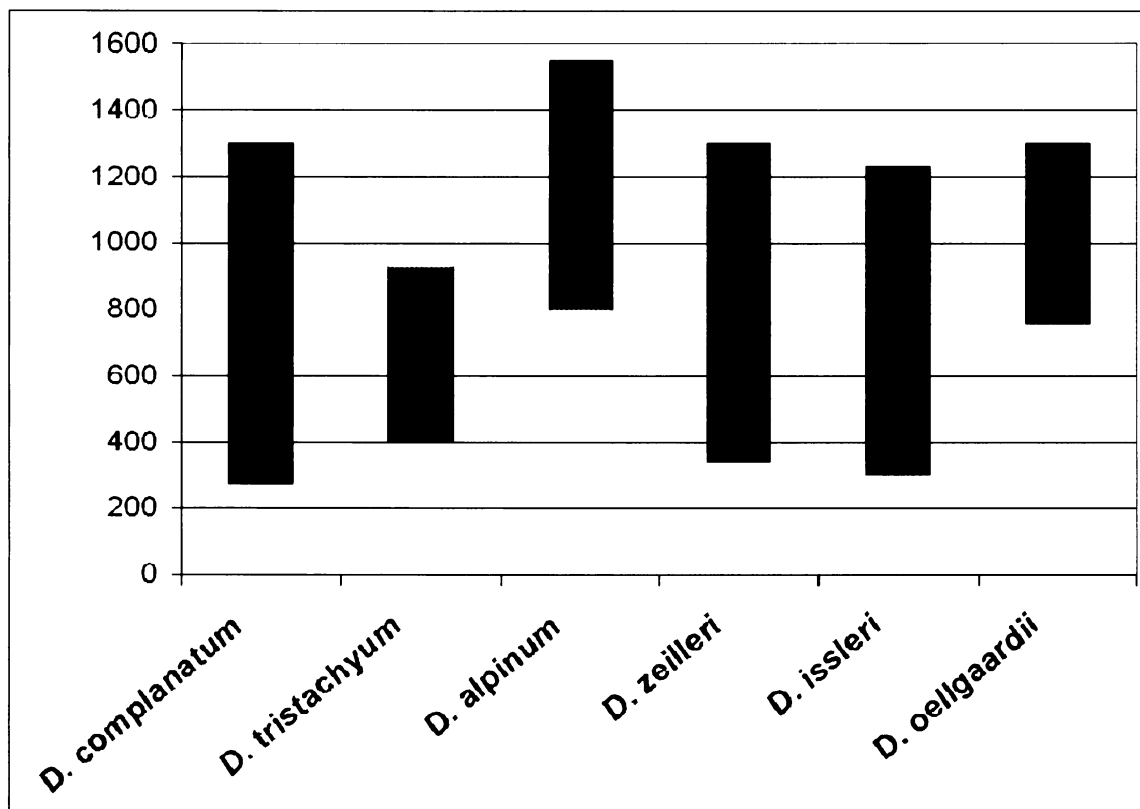
Tab. č. 2: Seznam lokalit výskytu středoevropských druhů plavuníků na území ČR (Dostál 1984, 1989, Kubát 1997, Procházka 1997, Procházka et al. 1998, Procházka & Harčarik 1999). Uvedené lokality jsou převzaty z literárních zdrojů, není ovšem jisté, zda se na nich jednotlivé druhy plavuníků stále vyskytují.

Lokalita	<i>D. complanatum</i>	<i>D. tristachyum</i>	<i>D. alpinum</i>	<i>D. zeilleri</i>	<i>D. issleri</i>	<i>D. oellgaardii</i>
Krkonoše	+	+	+	+	+	+
Liščí hora	+	-	-	-	-	-
Špindlerův mlýn	+	+	+	+	+	+
Harrachov	-	-	+	+	-	-
Husí boudy	-	-	+	+	+	-
Šumava	+	+	+	+	+	+
Včelná p. Boubínem	+	+	+	+	+	-
Poušť u Včelné	+	+	+	+	+	-
Paseka	-	+	-	-	-	-
Boubín	-	+	-	-	-	-
Roklanská slať	-	-	-	+	-	-
Javoří pila	-	-	-	+	-	-
Srní	-	-	-	+	-	+
Modravská hora	-	-	-	+	-	-
Horská kvilda	-	-	-	-	+	-
Prášily	-	-	-	-	-	+
Poledník	-	-	-	-	-	+
Filipova Huť	-	-	-	-	-	+
Jihlavské vrchy	-	+	+	+	+	-
Kaproun	-	+	+	+	+	-
Les Červenka u Terezína	-	+	+	+	+	-
Matějovec	-	+	+	+	-	-
Krušné hory	-	+	+	+	+	-
Kalek	-	-	+	+	+	-
Boží Dar	-	-	+	-	+	-
Horní Blatná	-	-	+	-	+	-
Kryštofovy Hamry	+	+	+	+	+	-
Kovářská	+	-	+	+	+	-
Žďárské vrchy	+	-	+	+	+	-
Žďár	-	+	-	-	-	-
Žákova hora	-	-	+	-	-	-
Orlické hory (Sedlňov)	+	+	+	+	-	-
Jeseníky	-	+	+	+	+	-
ČM vrchovina	+	+	-	+	+	-
Beskydy	+	+	-	+	+	-
Tepelské vrchy	-	-	+	+	+	-
Moravský kras	+	-	-	+	-	-
Novohradské hory	-	-	+	-	+	-
Podkrušnohoří	+	-	-	-	+	-
Smrčiny	+	-	-	-	+	-
Středočeská pahorkatina	+	-	-	-	-	-
Táborsko	-	+	-	-	-	-
Plzeňsko	-	+	-	-	-	-
Brdy	+	-	-	-	-	-
Český ráj	+	-	-	-	-	-
Železné hory	+	-	-	-	-	-
Posázaví	+	-	-	-	-	-
Kostelec n. Č. Lesy	-	-	-	+	-	-
Slavkovský les	-	-	-	-	+	-

Graf č. 1: Výškové rozpětí výskytu středoevropských druhů rodu *Diphasiastrum* na území České republiky.

Jsou zde uvedena výšková minima a maxima nalezišť výskytu jednotlivých druhů plavuníků:

D. complanatum = 270 – 1300 m.n.m., *D. tristachyum* = 400 – 930 m.n.m., *D. alpinum* = 800 – 1550 m.n.m.,
D. zeilleri = 340 – 1300 m.n.m., *D. issleri* = 300 – 1300 m.n.m. (Dostál 1989). Výškové rozmezí nalezišť
D. oellgaardii není dosud přesně známo. Na území ČR byl nalezen pouze v Krkonoších (Špindlerův mlýn) a
na Šumavě; a to ve výškách 760 – 1300 m.n.m. (Procházka 1997).



Tab. č. 3: Srovnání hlavních charakteristik jednotlivých středoevropských druhů rodu *Diphasiastrum* (Dostál 1984, 1989, Kubát 1997, 2002)

	<i>D. complanatum</i>	<i>D. alpinum</i>	<i>D. tristachyum</i>	<i>D. issleri</i>	<i>D. oelgaardii</i>	<i>D. zeileri</i>
lodyhy (oddenky)	nadzemní či těsně pod povrchem, plazivé, silně zploštělé, na více místech kořenující, až 1m dlouhé	nadzemní, plazivé, roztroušené kořenující, až přes 50 cm dlouhé	podzemní, plazivé, nezelené, až 1m dlouhé	nadzemní či zřídka mělice podzemní, většinou plazivé, na koncích zřetelně zploštělé, převážně přilehlé k povrchu půdy, tuhé, až 1m dlouhé	nadzemní či mělice pod povrchem uložené, plazivé	podzemní, plazivé, nezelené
větve	sterilní = koncové větve nadzemních výhonů, 2,5 - 4 mm široké, poléhavé, silně zploštělé; fertilní - vzpřímené, 10 - 40 cm dlouhé, zřetelné zaškrčení v místě přírůstku nových větví, nepravidelně rozestáté, řídké vějířovité větvené, na líci sytě zelené, na rubu žlutozelené	sterilní - nepatrně zploštělé, 4-hranné, vícenásobné vidličnatě svazčité větvené, vzpřímené nebo vystoupavé, do 60 cm dlouhé, 5 - 15 cm vysoké, výrazně anizofilní	sterilní - 1,5 - 2 mm široké, 10 - 20cm vysoké, vystoupavé, hustě svazčité větvené, ne vějířovité rozložené, ale spíš keříčkovitě nahlouchené, slabě zploštělé, trojúhelníkovité na průřezu, šedo zelené, na rubu ojněné, na svrchní i spodní straně skoro stejné (x <i>D. complanatum</i> , <i>D. zeileri</i>); fertilní - obvykle prostřední	jen málo vystoupavé, volně svazčité, 10 - 20 cm vysoké; sterilní - slabě zploštělé, 2 - 3 mm široké, bohatě větvené, s téměř trojúhelníkovitým průřezem - plochá břišní strana, hřbetní strana zřetelně konvexní	sterilní - téměř vzpřímené, 4 - 18 cm dlouhé, poměrně hustě nahlouchené (tím připomíná <i>D. tristachyum</i>), zploštělé, ale někdy i téměř 4-hranné, asi 2 mm široké, na rubu modře ojněné; fertilní - 4-hranné, nezploštělé, nesoucí stejnotvaré listy	sterilní - zploštělé, vzpřímené, volně svazčité větvené (hustěji než <i>D. complanatum</i>), 1,8 - 2,5 mm široké, na rubu žlutavě zleň až šedo zelené
listy - lodyžní	ve 4 řadách, vstřícné, křížmostojné, tmavozelené, přítisklé, asi 4mm dlouhé, kopinaté a zašpičaté	ve 4 řadách, křížmostojné, stejné utvářené, modrozelené, odstálé či volně přilehlé, 2 - 3 mm dlouhé, zašpičaté	ve 4 řadách, přibližně stejného tvaru a velikosti	ve 4 řadách, šedo zelené	ve 4 řadách, téměř stejné velikosti	ve 4 řadách, břišní jsou odlišné od hřbetních

- bříšní	malé, 0,5 - 1,5 mm, tvoří asi 1/6 - 1/4 větve	s kratičkým téměř kolmo odstálým řapíkem, vzpřímená vejčité kopinatá čepel, bazální část zúžená a téměř kolmá k větví, apikální rozšířená a s větví zhruba rovnoběžná	velikostně shodné s hřbetními, přisedavé, sbíhavé, 2 - 3x užší než lodyha, nedosahují vrcholem k bázi následujícího listu	vejčité, úzce čárkovitý tvar, v apikální části rozšířený, téměř stejné velikosti jako hřbetní, široké asi jako 1/3 lodyhy, k větví přitisklé či poněkud odstávající, ale nikdy nejsou při bázi řapíkatě zúžené	vejčité kopinaté, dosahují asi 1/3 šířky větve, o málo přesahují bázi následujících postranních listů	krátce sbíhavé, volně přiléhající k větví, delší než postranní, zabírají asi 1/4 šířky větve
- hřbetní	čárkovitě kopinaté, zřetelně užší než shora viditelné postranní listy	kopinaté, širší než postranní	kopinaté, trochu širší než listy postranní	úzce kopinaté, užší nebo stejně široké jako listy postranní	úzce kopinaté, přitisklé k větví, přibližně stejné dlouhé jako listy boční	čárkovitě kopinaté, přibližně stejného tvaru a velikosti jako listy postranní
- postranní	zřetelně širší než hřbetní, odstálé, dlouze sbíhavé, na spodní straně nezahnuté a ploché	se zřetelným téměř kolmo odstálým řapíkem a vzpřímenou vejčité kopinatou čepelí, srovitě zahnuté, sbíhavá část užší než výrazně střední žebro	k větví přitisklé, často pod ni mírně ohnuté, obíjí vnější okraj skloněný pod větev	odstálé, srovitě zakřivené, sbíhavá část 2 - 3x delší než volná, mají ostrý kýl zakřivený na bříšní stranu, po celé délce okrajem skloněné pod větev	srpovitý tvar, špička zahnutá zpět k ose, poněkud střechovitě se překrývají, délkou i tvarem odpovídají <i>D. alpinum</i>	krátce sbíhavé, ostře kýlnaté, volně přiléhají k větví nebo špičkou od ní mírně odstávající, většinou srovitě zahnuté, nepatrně skloněné pod větev, špičkami se dotýkají báze následujících listů
výtrusnicové klasy	větš. po 2 - 6 (vzácně jednotlivé), na stopkách 2 - 10 cm dlouhých, velmi řídké osázených čárkovitými listy, na špičce sterilní	velmi krátce stopkaté či přisedlé, jednotlivé na konci větví, 10 - 15 mm dlouhé	po 2 - 7 ve svazečcích na řídkce 1,4 - 3 cm dlouhých olistěných stopkách, na prostředních prýtech jsou na 1 - 3x vidličnaté větvené stopce	jednotlivé či vzácně po 2 na vrcholu rok starých, hustě olistěných větví, krátce stopkaté nebo přisedlé	přisedlé nebo krátce stopkaté, většinou jednotlivé či vzácně po 2 - 3	přisedlé, 1,8 - 3,0 cm dlouhé, po 2 - 4 na 1 - 2x řídkce olistěných stopkách, pouze na středních prýtech
sporofyly	vejčité, náhle zúžené v krátkou špičku, zralé nahnědlé, jen o málo delší než výtrusnice	vejčité kopinaté, více než 2x delší než výtrusnice, s dlouhou odstálou tupou špičkou	s dlouhou kopinatou špičkou, na bázi široce vejčité	eliptické, podlouhle zašpičtatělé		náhle zúžené v dlouhou špičku

zralost výtrusů	VII - VIII	VII - IX	VII - IX	VIII - IX	VIII - IX
stanoviště	primární - světlé jehličnaté i borové lesy a vřesoviště; kyselé půdy a surový humus	primární - horská bezlesí; kyselé, humózní, živinami chudé, písčité nebo kamenité půdy; alpinské hole a křoviny	primární - vřesoviště a kyselé bory; kyselé, živinami chudé půdy, většinou vlhčí	světlé jehličnaté lesy (hlavně borové), vřesoviště, pastviny, zarůstající louky; kyselé, živinami chudé půdy	světlé jehličnaté lesy (hlavně bory) a pastviny; kyselé půdy
nadm. v./pásmo	hlavně podhorské; vzácně pahorkatina; 270 - 1300 m.n.m.	hlavně alpinské až subalpinské, velmi vzácně horské, 800 - 1550 m.n.m.	400 - 930 m.n.m.	není dostatečně známo - předpokládáno mezi 760 - 1300 m.n.m.	nedostatečně známo, předpokládáno mezi 340 - 1300 m.n.m.
rozšíření	subatlantské - subkontinentální cirkumpolární; severní a střední Evropa	arkto - alpinské cirkumpolární; severní, střední i jižní (horské oblasti) Evropa, severozápadní Asie a Dálný Východ, vzácně v Severní Americe	subatlantské - submediteránní cirkumpolární; severní a střední Evropa, Karpaty, východní část Severní Ameriky	subatlantsko - evropské; jižní část střední Evropy a Alpy, střední Sibiř, severovýchodní část Severní Ameriky	subatlantsko - evropské; nedostatečně známé rozšíření; střední Evropa, Skandinávie, Severní Amerika
společenstvo	DG druh svazu <i>Dicrano-Pinion</i> , často ř. <i>Piceetalia excelsae</i>	DG druh svazu <i>Nardion</i> , resp. <i>Loiseleurio procumbentis - Vaccinion a Junction trifidi</i> ; vzácně i svaz ř. <i>Piceetalia excelsae</i>	DG druh svazu <i>Genistion</i> , občas ř. <i>Piceetalia excelsae</i>	svaz <i>Genistion</i> , občas ř. <i>Piceetalia excelsae</i>	ř. <i>Piceetalia excelsae</i> , zvláště svaz <i>Dicrano-Pinion</i>
ochrana	C3	C3	C1	C2	C2