

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Katedra botaniky



Bakalářská práce

Mikroevoluční procesy u endemického taxonu

Krkonoš *Campanula bohemica*

Microevolutionary processes in the Czech endemic *Campanula bohemica*

Kateřina Hanušová

Školitel: doc. RNDr. Jan Suda, Ph.D.

Praha 2011

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem předloženou práci Mikroevoluční procesy u endemického taxonu Krkonoš *Campanula bohemica* vypracovala samostatně pouze s použitím literatury, kterou uvádím a cituji.

8. 5. 2011 v Praze

Poděkování

Mé poděkování patří především mému školiteli Honzovi Sudovi za pomoc, vstřícnost, ochotu a užitečné rady při zpracovávání této práce. Dále bych ráda poděkovala svým přátelům za jejich morální podporu. V neposlední řadě mé díky patří především mojí rodině za vytvoření příjemného studijního prostředí a jejich všestrannou pomoc.

Abstrakt

Rod *Campanula* L. - zvonek - je největším rodem čeledi *Campanulaceae*. Jedná se o druhově bohatý rod cévnatých rostlin se subkosmopolitním rozšířením, jehož taxonomické členění není do dnešní doby uspokojivě vyřešeno. Evoluční historii tohoto rodu provází řada mikroevolučních procesů, jako je hybridizace, polyploidizace a geografická izolace. Především díky geografické izolaci lze u zvonků v rámci Evropy nalézt značné množství endemitů. V České republice docházelo k této geografické izolaci zejména ve vyšších pohorích (Krkonoše, Jeseníky). V této oblasti můžeme nalézt tři endemické zástupce rodu *Campanula*. Jsou to: *Campanula gelida* Kovanda, *Campanula rotundifolia* L. subsp. *sudetica* (Hruby) Soó a *Campanula bohémica* Hruby. Jedná se o fytogeograficky významné taxony naší květeny, navzdory tomu zůstávají údaje o jejich variabilitě, evoluční historii a procesech v jejich populacích značně fragmentární. Dosud chybí jejich podrobné zhodnocení pomocí moderních biosystematických přístupů.

Campanula bohémica je silně ohroženým, neoendemickým druhem vyšších poloh Krkonoš. Řadí se do příbuzenství druhu *Campanula scheuchzeri* Vill., ze kterého se i s největší pravděpodobností vyvinul. Na podobných stanovištích v Krkonoších jako *C. bohémica* se vyskytuje i fenotypově velmi podobný druh *C. rotundifolia* L. V místě sympatrického výskytu *C. bohémica* a *C. rotundifolia* nejspíše dochází k hybridizaci těchto dvou druhů. Jejich kříženec se nazývá *Campanula ×pilousii* Šourek. Studie shrnující rozsah této hybridizace a její dopad na endemický taxon dosud chybí.

V závěrečné části této rešerše jsou nastíněny otázky, které budou řešeny v navazující diplomové práci pomocí průtokové cytometrie, AFLP a mnohorozměrných morfometrických přístupů.

Klíčová slova: *Campanula bohémica*, endemismus, hybridizace, Krkonoše, mikroevoluce, polyploidie, populační struktura.

Summary

The genus *Campanula* L. - bellflower - is the largest group of the family *Campanulaceae* with a subcosmopolitan distribution and poorly resolved infrageneric classification. The evolutionary history of the genus has been shaped by a number of microevolutionary processes, including interspecific hybridization, genome duplication and geographical isolation, that resulted in the genesis of several endemic or geographically restricted species. The centre of endemism in the Czech Republic lies in subalpine altitudes of the Jeseníky and the Krkonoše (Giant) mountains, where three endemic taxa can be found: *C. gelida* Kovanda, *C. rotundifolia* L. subsp. *sudetica* (Hruby) Soó and *C. bohemica* Hruby. Despite their evolutionary and biogeographical value, there is a lack of information about their phenotypic variation, population structure, evolutionary history and processes acting in their populations. A critical assessment of these topics would require application of modern biosystematics tools.

Campanula bohemica is an endangered neoendemic of higher altitudes in the Krkonoše Mts., closely related to *C. scheuchzeri* Vill., native to the Alps. The endemic species often grows in sympatry with related and morphologically similar *C. rotundifolia*. The incidence of intermediate morphotypes suggest that both species can hybridize and the primary hybrid was described under the name *C. ×pilousii* Šourek. The frequency of hybridization, its dynamics as well as its impact on the genofond of *C. bohemica* is in the need of a detailed study.

In addition to a literature review, the bachelor thesis summarizes questions that will be addressed in the master thesis, including the methodological approaches (flow cytometry, AFLP and multivariate morphometrics).

Key words: *Campanula bohemica*, endemism, hybridization, Krkonoše Mountains, microevolution, polyploidy, population structure.

Obsah

1.	Úvod.....	1
2.	Charakteristika rodu <i>Campanula</i> L. – zvonek.....	2
2.1.	Taxonomické zařazení.....	2
2.2.	Popis rodu <i>Campanula</i>	2
2.3.	Rozšíření rodu <i>Campanula</i>	3
2.4.	Vnitřní členění rodu <i>Campanula</i>	3
3.	Mikroevoluční procesy.....	4
3.1.	Hybridizace.....	4
3.2.	Polyploidie.....	6
3.3.	Geografická izolovanost.....	9
4.	Endemismus.....	9
4.1.	Endemismus v Krkonoších.....	10
4.2.	Endemismus u rodu <i>Campanula</i> L.....	11
5.	Endemické druhy horských zvonků v ČR.....	11
5.1.	<i>Campanula gelida</i> Kovanda - zvonek jesenický.....	11
5.1.1.	Historie.....	11
5.1.2.	Popis druhu.....	12
5.1.3.	Karyologie.....	12
5.1.4.	Rozšíření druhu.....	13
5.1.5.	Ekologie.....	13
5.1.6.	Ohrožení a péče o druh.....	13
5.2.	<i>Campanula rotundifolia</i> L. subsp. <i>sudetica</i> (Hruby) Soó - zvonek okrouhloolistý sudetský.....	14
5.2.1.	Historie.....	14
5.2.2.	Popis druhu.....	14
5.2.3.	Karyologie:.....	15
5.2.4.	Rozšíření druhu.....	15
5.2.5.	Ekologie.....	15
5.2.6.	Ohrožení a péče o druh.....	15
5.3.	<i>Campanula bohemica</i> Hruby - zvonek český.....	16
5.3.1.	Historie.....	16
5.3.2.	Popis druhu.....	16
5.3.3.	Karyologie.....	17
5.3.4.	Rozšíření druhu.....	17
5.3.5.	Ekologie.....	18
5.3.6.	Ohrožení a péče o druh.....	18
6.	Historické a současné procesy v populacích <i>C. bohemica</i>	19
6.1.	Evoluční historie druhu.....	19
6.2.	Současné procesy v populacích druhu <i>C. bohemica</i>	20
7.	Otázky pro navazující diplomovou práci.....	21
8.	Metodika.....	22
8.1.	Průtoková cytometrie.....	22
8.2.	Molekulární markery – AFLP.....	23
8.3.	Morfometrická analýza.....	23
9.	Závěr.....	24
	Použitá literatura.....	25
	Přílohy.....	Chyba! Záložka není definována.

1. Úvod

Rod *Campanula* L. - zvonek - je největším rodem čeledi *Campanulaceae*. Jedná se o druhově bohatý rod zahrnující asi 300 druhů cévnatých rostlin, jehož taxonomické členění není do dnešní doby uspokojivě vyřešeno. Publikované studie se týkaly zejména systematiky rodu, evolučního vývoje, jeho rozšíření a počtu chromozomů. Značně důležité procesy generující variabilitu, jako je například hybridizace, byly do nedávné doby opomíjeny. Tyto jevy společně s geografickou izolací daly vznik značnému množství endemitů, kterými je tento rod, především v rámci Evropy, známý.

Studiem zvonků v České republice se v minulosti zabýval botanik Miloslav Kovanda (Kovanda 1966, 1967, 1968, 1970, 1977). Vyčlenil v rodu *Campanula* polyploidní komplex *C. rotundifolia* s. l., do kterého zahrnul mimo jiné i šest významných českých zvonků. Jedná se o taxony *C. moravica* (Spitzner) Kovanda, *C. gentilis* Kovanda, *C. rotundifolia* subsp. *rotundifolia*, *C. rotundifolia* subsp. *sudetica* (Hruby) Soó, *C. gelida* Kovanda a *C. bohemica* Hruby. U většiny těchto taxonů nebyla dosud provedena podrobnější studie s využitím moderních molekulárních postupů. Nutnost provedení takovéto studie se ukazuje například u druhu *Campanula bohemica* (zvonek český), silně ohroženého neoendemita Krkonoš, který je v současnosti vytlačován z některých svých lokalit (Rybka *et al.* 2004). O jeho význačnosti a vzácnosti vypovídá i fakt, že je zahrnut do evropské soustavy Natura 2000.

V této bakalářské práci bych ráda shrnula dosavadní poznatky o druhu *C. bohemica*, zejména současné procesy, které probíhají v populacích tohoto neoendemita. Tato literární rešerše bude výchozí prací pro navazující magisterskou studii zvonku českého s využitím moderních biosystematických metod.

2. Charakteristika rodu *Campanula* L. – zvonek

Tento rod zahrnuje asi 300 druhů, které jsou rozšířeny převážně mimo tropické oblasti severní polokoule. Je rodem cévnatých rostlin s výhradně bylinnými zástupci (Roquet *et al.* 2008).

2.1. Taxonomické zařazení

Oddělení: Magnoliophyta

Třída: Magnoliopsida

Řád: Asterales

Čeleď: *Campanulaceae*

Podčeleď: *Campanuloideae*

Rod: *Campanula*

2.2. Popis rodu *Campanula*

Jedná se o vytrvalé, dvouleté nebo jednoleté byliny s jednoduchými listy. V pletivech mají článkované mléčnice. Květy jsou pětičetné, uspořádané v latách, hroznech, klasech nebo strboulech. Někdy mohou být jednotlivé. Kalich bývá členěný do 1/4-1/2. Kališní cípy jsou trojúhelníkovité až čárkovité. Některé druhy mají mezi kališními cípy přívěsky. Koruna je zvonkovitá, trubkovitě zvonkovitá nebo nálevkovitě zvonkovitá. Mívá modrou nebo fialovou barvu. Tyčinky mohou být volné nebo srostlé s čnělkou. Nítky tyčinek jsou při bázi rozšířené, kryjí nektárium. Prašníky jsou volné. Semeník je 3pouzdrý, vzácně může být až 5pouzdrý. Plodem je tobolka, která je tenkostěnná, někdy mírně dřevnatějící. Otvírá se 3(-5) děrami při bázi nebo při vrcholu. Semena jsou drobná, četná, elipsoidní, někdy zploštělá nebo s lemem. U rodu *Campanula* můžeme najít výraznou proterandrii (tyčinky dozrávají v květech dříve než pestíky). Pylová zrna se uvolňují z prašníků už v poupěti a jsou zachytávána chlupy na čnělce, tzv. vymetacími trichomy. S otevřením květu je pyl sbírán hmyzem. Teprve po jeho odnesení může dojít k vlastnímu opylení pylem z jiného květu nebo z jiné rostliny. U některých druhů může dojít ke styku blizny s čnělkou a k samoopylení

(např.: *C. patula*, *C. persicifolia*). Jedná se o rostliny entomogamní, někdy může docházet k autogamii. Semena se šíří pomocí anemochorie (Kovanda 2000).

2.3. Rozšíření rodu *Campanula*

Hlavní centrum druhové diverzity rodu *Campanula* (asi 250 druhů) se nachází v mediteránní oblasti. Zástupce rodu *Campanula* lze nalézt na různorodém množství stanovišť, jako jsou louky, okraje lesů, slatiny a skalní výchozy (Park *et al.* 2006, Roquet *et al.* 2008).

2.4. Vnitřní členění rodu *Campanula*

Vnitřní členění rodu *Campanula* je dodnes nejednotné a značně problematické. V tomto rodu lze vymezit dvě základní sekce. Jedná se o sekci *Rapunculus* Dumort. a sekci *Campanula*. Rozdíly mezi těmito sekcemi jsou především v typu otvírání tobolky a v přítomnosti přívěsků na kalichu. Pro sekci *Rapunculus* je typická nepřítomnost přívěsků na kalichu a tobolka otvírající se laterálními póry nebo chlopněmi. Sekce *Campanula* má tobolku otevírající se bazálními póry nebo chlopněmi a na kalichu lze nalézt přívěšky (Fedorov *et* Kovanda 1976). Součástí sekce *Campanula* je i variabilní polyploidní komplex *Campanula rotundifolia* s. l. (Kovanda 1970, 1977).

Členění tohoto komplexu se v průběhu historie měnilo (Kovanda 1967). Kovanda (1970, 1977) komplex *Campanula rotundifolia* rozdělil na pět skupin na základě morfologických znaků (tvar lodyhy, postavení poupat, větvení oddenku). Jsou to skupiny *Alpicolae* (Krašán) Kovanda, *Saxicolae* Witas., *Lanceolatae* Witas., *Vulgares* (Krašán) Witasek a *Scheuchzerianae* Kovanda. Druhy z tohoto komplexu, které můžeme nalézt na našem území, se řadí do skupin: *Saxicolae* (*Campanula gentilis*, *C. moravica*), *Vulgares* (*C. rotundifolia* subsp. *rotundifolia*, *C. rotundifolia* subsp. *sudetica*) a *Scheuchzerianae* (*C. bohémica*, *C. gelida*).

3. Mikroevoluční procesy

Mikroevoluce bývá chápána jako vnitrodruhová evoluce. Projevuje se drobnými změnami ve variabilitě a morfologické modifikaci druhu. Provází ji jevy jako mutace, molekulární tah, genetický posun a další (Flégr 2005). U rodu *Campanula* se můžeme setkat především s hybridizací, polyploidizací a geografickou izolovaností.

3.1. Hybridizace

Hybridizace, neboli křížení, je důležitým evolučním dějem. Již v minulosti byla předmětem mnoha studií, z nichž nejvýznamnější jsou s největší pravděpodobností práce Gregora Johanna Mendela. Podle toho, v rámci které taxonomické jednotky probíhá, ji můžeme rozdělit na hybridizaci vnitrodruhovou nebo mezidruhovou. Především mezidruhová hybridizace je neustálým předmětem studia (Briggs *et* Walters 2001).

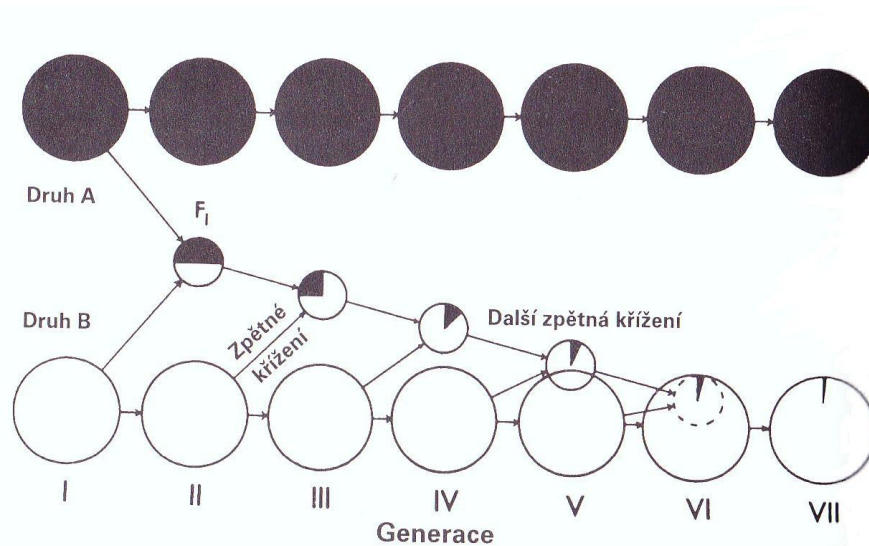
Hybridi vykazují značnou heterogenitu ve zdatnosti a vitalitě (Wissemann 2007). Geny vnesené do genofondu hybridizací se mohou stát důležitým zdrojem genetického polymorfismu a mikroevoluční plasticity daného druhu. Tyto jevy však mohou způsobit částečnou či úplnou sterilitu hybrida. Aby se hybridizaci zabránilo, může dojít k vytvoření účinné mezidruhové bariéry (Flégr 2005). K těmto bariérám patří i prezygotické a postzygotické reprodukčně-izolační mechanismy. Prezygotické bariéry jsou ty, které brání vzniku zygoty (prostorová izolace, izolace způsobená opylovači, gametofytická inkompatibilita). Postzygotické bariéry zabraňují vývoji zygoty nebo rozmnožování dospělého jedince. Patří k nim sterilita a úmrtnost hybridů. Prezygotické bariéry jsou silnější než bariéry postzygotické (Lowry *et* al. 2008).

Úspěšnost hybridizace také závisí na množství faktorů. Je to například: typ křížení, životní forma rostliny (jednoletky x trvalky), struktura stanoviště, šíření pylu, šíření semen, mechanismus pylové inkompatibility a další. Úspěšné hybridy můžeme nalézt především u trvalek s dobře šířitelnými semeny. Tato skutečnost je dána možností osidlovat nové lokality s dostatečnou dobou k vývoji a vytvoření nové populace (Wissemann 2007).

Hybridizace může vést ke vzniku „plnohodnotného“, tzv. hybridogenního druhu. Tento jev nazýváme hybridizační speciací. K hybridizaci může docházet jak mezi taxony téže ploidie (homoploidní hybridizace), tak mezi taxony s rozdílným ploidním stupněm ploidie

(heteroploidní hybridizace; Hegarty *et* Hiscock 2005). U rostlin je hybridizace často spojena s následnou polyploidizací, kdy vzniká allopolyploidní taxon (Flégr 2005). Procesem polyploidizace může být obnovena funkční meioza a schopnost rozmnožování (Wissemann 2007).

V přírodě také může docházet k introgresivní hybridizaci (introgresi). Jedná se o typ hybridizace, který je podporován narušením biotopů vzájemně křížitelných druhů, ať už přirozeným nebo ve spojení s lidskou činností. Je to křížení, při kterém mohou být geny jednoho druhu vneseny do druhého spontánním křížením a následně dochází k zpětnému křížení (Obr. 1). Jedna z teorií uvádí, že introgrese může být značně rozšířená a evolučně významná a míra jejího vlivu na nové geny značně převyšuje mutace (Briggs *et* Walters 2001).



Obr. 1: Graf znázorňující introgresi mezi dvěma druhy. Zpětné křížení F₁ hybridů s druhem B vede v konečném důsledku k přijetí některých genů druhu A druhem B. Převzato z: Briggs *et* Walters (2001).

Hybridizace nemusí mít jen pozitivní evoluční význam, může také vést i ke genetické erozi a následnému vyhynutí taxonu a to zejména u málo početných a ohrožených druhů nebo u druhů se slabou reprodukční bariérou. Příkladem může být hybridizace u violky žluté sudetské (*Viola lutea* subsp. *sudetica*). Dochází u ní k mezidruhové hybridizaci s nepůvodním druhem *Viola tricolor*, kdy je výsledný hybrid životaschopnější a stává se ohrožením pro původní krkonošský druh (Krahulcová *et* al. 1996).

Na extinkci v důsledku hybridizace má vliv značné množství faktorů, jako jsou: síla reprodukční bariéry, která odděluje křížící se taxony, vitalita a fertilita hybridů, celková

velikost hybridní populace, demografická stochasticita, rozdělení populace, rychlost růstu populace, změny v tlaku herbivorů a patogenů a další. Zatím však nebylo provedeno zhodnocení, do jaké míry tyto faktory extinkci ovlivňují. Následnými počítačovými simulacemi bylo zjištěno, že hybridizace je nejrychlejší genetickou hrozbou pro ohrožené druhy (Wolf *et al.* 2001).

V minulosti studium hybridizace probíhalo především prostřednictvím pozorování rostlinné morfologie, případně, zejména u heteroploidních kříženců, pomocí klasické karyologie (stanovení počtu chromozomů). S rozvojem molekulární biologie bylo možné analyzovat hybridy mnohem detailněji. Dnes se využívá především metoda AFLP a analýza chloroplastové DNA (Hegarty *et Hiscock* 2005).

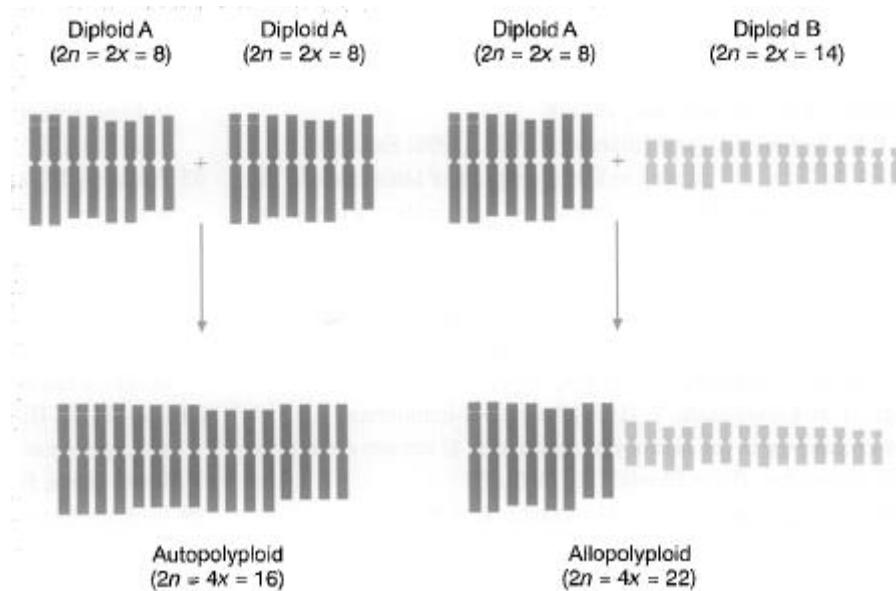
U rodu *Campanula* se můžeme setkat s mezidruhovou hybridizací hned v několika případech. Jedná se například o hybridizaci mezi druhy *Campanula bohemica* a *Campanula rotundifolia*, jejichž kříženec se nazývá *Campanula ×pilousii* Šourek a hybridizaci mezi druhy *Campanula rhomboidalis* a *Campanula rotundifolia*, jejichž kříženec je *Campanula ×iserana* Kovanda (Kovanda 2000).

3.2. Polyploidie

Polyploidii lze charakterizovat jako přítomnost tří nebo více kompletních chromozomových sad v jádře namísto dvou, jako je tomu u diploidů. (Hegarty *et Hiscock* 2008). Stupeň ploidie může být značně vysoký. U krytosemenných rostlin bylo největší chromozomové číslo zjištěno u rozchodníku *Sedum suaveolens* ($2n=640$), který je údajně 80-ploidní (Bennett *et Leitch* 1997).

Polyploidie je jednou z hlavních hnacích sil evoluce. V minulosti se uvádělo, že velká část (až 70%) krytosemenných rostlin bylo nebo je evolučně propojeno s polyploidii. (Wagner 1968, Soltis *et Soltis* 1999, 2000). V dnešní době bylo prokázáno prostřednictvím molekulárních metod, že všechny krytosemenné rostliny, s výjimkou druhu *Amborella*, mohou být považovány za polyploidní (Soltis *et al.* 2009). U některých rodů je každý stupeň polyploidní série zastoupen nějakým druhem. V jiných rodech mají recentní druhy vysoké počty chromozomů a předpokládá se, že vznikly dávnou polyploidizací, ale jejich předci s nižšími násobky základního počtu chromozomů již vyhynuli. Polyploidizace je prvkem rychlého procesu saltační speciace (Briggs *et Walters* 2001).

Polyploidi v průběhu historie prošli různými typy rozdělení do skupin. Do dnešní doby toto rozdělení není jednotné. Prvotně byli polyploidi rozděleni na allopolyploidy a autopolyploidy (Clausen *et al.* 1945). Stebbins (1951) toto dělení dále rozšířil a rozlišoval autopolyploidy, částečné allopolyploidy, pravé polyploidy a autoallopolyploidy. Jeho rozdělení bylo založeno na genetických a cytogenetických kritériích. Jako hlavní typy uznával první tři skupiny. Pozdější rozdělení polyploidů bylo opět jen na allopolyploidy a autopolyploidy. Za základní kritéria pro dělení polyploidů byly považovány faktory jako je například chování chromozomů v meióze, fertilita a morfologie (Soltis *et al.* 2003). Následující odstavce budou vedeny podle původního rozdělení polyploidie na autopolyploidii a allopolyploidii (Obr. 2).



Obr. 2: Schéma autopolyploidie a allopolyploidie. Autopolyploid vzniká ze dvou identických genomů (A+A). Allopolyploid zahrnuje genomy ze dvou odlišných předků (A+B). Převzato z: Bennett *et Leitch* (1997).

Autopolyploid je polyploid, jehož chromozomové sady jsou odvozeny od jednoho druhu. Je výsledkem spontánní genomové duplikace nebo splynutí neredukovaných ($2n$) gamet (Hegarty *et* Hiscock 2008). K této duplikaci může dojít i po vystavení rostliny tepelnému šoku, který naruší normální průběh mitosy. Tímto způsobem mohou na diploidních rostlinách vyrůstat polyploidní větve (Briggs *et* Walters 2001). Dříve byla autopolyploidie považována za velmi vzácný jev. Dnes již bylo zjištěno, že se jedná o poměrně častý proces (Soltis *et al.* 2003).

Allopolyploid vznikl křížením mezi dvěma či více druhy, tudíž má dvě nebo více rozdílných sad chromozomů. Odvození allopolyploidi jsou reprodukčně izolováni od svých

rodičů. Při zpětném křížení s rodiči dochází k velmi nepravidelné meiose, která vede až ke sterilitě hybridu. Nový allopolyploid vzniká při náhlé, okamžité události. Celý proces se odehrává jen tehdy, pokud rostou rodičovské druhy v těsné blízkosti. Jedná se tedy o sympatrickou speciaci (Briggs *et* Walters 2001).

Polyploidii lze navodit i experimentálně působením kolchicinu, který funguje jako inhibitor dělicího vřeténka a brání rozestupu chromozomů. Po jeho aplikaci tudíž nedojde k rozdělení chromozomů do dceřiných jader (Briggs *et* Walters 2001).

Odlišným dějem od polyploidie je aneuploidie. Aneuploid je jedinec, jemuž jeden nebo více chromozomů chybí či přebývá od základní chromozomové řady. K aneuploidii může dojít při tvorbě gamet, kdy je jeden chromozom buď úplně vyloučen z chromozomové sady, nebo dojde k jeho namnožení do více kopií. V takovýchto rostlinných populacích dochází ke vzniku mnoha překážek a někteří aneuploidní jedinci vůbec nemusí přežít. K rostlinám, u nichž často dochází k aneuploidii, patří například čeledi *Poaceae* a *Asteraceae* (Briggs *et* Walters 2001).

Rod *Campanula* má základní chromozomové číslo $x=17$ (Eddie *et* al. 2003). Jeho vznik je vysvětlován několika způsoby. Uvádí se například, že mohlo dojít k amfidiploidii (křížení mezi druhy s $2n=16$ a $2n=18$). Další teorie udává, že diploidní počet vznikl zdvojením chromozomové sady u trisomického diploida. Obě tyto hypotézy jsou však nepravděpodobné, jelikož druhy se základním chromozomovým číslem $x=17$ nelze odvozovat od skupin s číslem $x=8$ a $x=9$ a především díky odlišné morfologii chromozomů. Chromozomy druhů s tímto počtem jsou $2x-3x$ delší než u ostatních druhů rodu *Campanula*. (Kovanda 1967). Největší karyologickou variabilitu ze zvonků rostoucích u nás vykazuje *Campanula rotundifolia* L. Celkově se u tohoto druhu vyskytují cytotypy diploidní ($2n=34$), triploidní ($2n=51$) a tetraploidní ($2n=68$). Na našem území je převážně diploidní. Tetraploidi byli pozorováni jako příměs v některých populacích diploidů, nejčastěji v severní části areálu. Samostatně se vyskytují především v horských oblastech ČR, jako jsou Krkonoše. Triploidi se na našem území nevyskytují (Kovanda 1966). Taxon *Campanula moravica* zahrnuje dva cytotypy, tetraploidní a hexaploidní ($2n=102$). Tetraploidní cytotyp je pravděpodobně častější (Kovanda 2000). Druh *Campanula gentilis* je diploidní a tetraploidní, přičemž tetraploidní cytotyp je častější než diploidní (Rauchová 2007). Taxony *Campanula bohémica*, *Campanula gelida* a *Campanula rotundifolia* subsp. *sudetica* jsou tetraploidní (Kovanda 2000).

3.3. Geografická izolovanost

Geografická izolovanost může vést k alopatrické speciaci, kdy nový druh vzniká pozvolně, mimo přímý kontakt s mateřským druhem (Flégr 2005). Ke geografické izolaci může dojít ponořením pevninských mostů, dálkovým přenosem semen na „ostrovy“ nejrozličnějšího typu (oceánské ostrovy, izolované horské vrcholy, bezodtoká jezera, hadce) nebo kontinentálním driftem a horotvornými procesy. Výzkumy ukázaly, že klimatické změny v období postglaciálu měly velký význam pro migraci a následné uchycení izolovaných populací (Briggs *et* Walters 2001).

Předpokladem pro vznik nového druhu je dostatečně dlouhá reprodukční izolace od původní mateřské populace. V genofondu této izolované populace se začínají postupně hromadit genetické změny, které mohou vést k fenotypovému a následnému ekologickému rozrůznění obou populací.

Zvláštním typem alopatrické speciace je speciace vikariantní. Dochází k ní, je-li původně jednotná populace rozdělena určitou bariérou na dvě populace, které se časem geneticky a fenotypově rozrůzní. Touto bariérou může být pohoří, tok řeky nebo pro vodní organismy naopak pevnina (Flégr 2005).

S geografickou izolovaností se můžeme setkat například u druhů *Campanula bohemica* a *Campanula gelida*. Oba tyto druhy patří do příbuzenství alpského druhu *Campanula scheuchzeri*, z jehož předka se i vyvinuly (Bureš *et* Procházka 1999, Chejnová *et al.* 2000). Během poslední doby ledové došlo k masivní migraci alpských druhů do sudetské oblasti a následně k jejich diferenciaci v důsledku izolovanosti této areály (viz kapitola 6.3.). Následně došlo k vikarianci a oddělily se dva v současné době rozlišované taxony *Campanula bohemica* a *Campanula gelida* (Bureš *et* Procházka 1999).

4. Endemismus

Za endemický je obecně považován taxon vázaný svým areálem výlučně k určité oblasti. Mimo tuto oblast se přirozeně nevyskytuje. Velice výrazným geografickým projevem endemismu je jeho nerovné zastoupení ve flórách různých zemí. Velkým počtem a podílem endemitů se často vyznačují ostrovy (Kanárské ostrovy, Kréta, Sardinie) a členitější pohoří (Pyreneje, Alpy, Karpaty), narozdíl od rovin, které bývají na endemity chudé. Zastoupení

endemismu je závislé na geologickém stáří území, na velikosti a stáří jeho izolace a jaké klimatické změny toto území postihovaly. Z hlediska původu můžeme endemity rozlišit na dva typy. Paleoendemity, které vývojově pochází z doby starší než jsou čtvrtohory, a neoendemity, jejichž vznik je čtvrtohorní (Hendrych 1984).

Kromě vysokohorských lokalit, jako jsou Karpaty a Alpy, jsou endemické druhy ve střední Evropě poměrně vzácné. Celkový počet endemitů je značně závislý na taxonomickém pojetí (Krahulec 2006).

V České republice můžeme najít přibližně 40 endemických taxonů, výhradně neoendemitů, z toho 25 se nachází v Krkonoších. Endemické druhy jsou v České republice poměrně roztroušené. Za centra endemismu je možné považovat tři oblasti ČR. Jedná se o nížinné oblasti (Polabí), izolovaná pohoří (Krkonoše, Jeseníky) a hadce. Mezi zajímavé české endemity patří například *Pinguicula bohemica* Krajina, *Dianthus arenarius* subsp. *bohemicus* (Novák) O. Schwarz, *Poa riphaea* (Asch. et Graebn.) Fritsch, *Sorbus bohemica* Kovanda, *Minuartia smejkalii* Dvořáková a další (Holub *et al.* 1979).

4.1. Endemismus v Krkonoších

Endemické taxony jsou nejvíce koncentrovány v oblastech vrcholů nebo ledovcových karů. Frekvence těchto bezlesých útvarů je v Krkonoších nejvyšší, narozdíl od ostatních lokalit v České republice. Z tohoto důvodu je zde míra endemismu vyšší než na ostatních místech ČR. Lze zde nalézt 10 ledovcových karů, kde pravidelně dochází k lavinovým sesuvům. Díky tomuto jevu dochází k neustálému odstraňování stromových porostů, je uvolněn prostor pro uchycení bylin a snižují se konkurenční vztahy.

Množství endemitů je recentního původu, a proto jejich taxonomie není stabilní. Do dnešní doby není jisté, zda některé populace v Krkonoších jsou zařaditelné do skupin druhů nebo poddruhů. Významnými zástupci krkonošských endemitů jsou apomiktické taxony *Hieracium*, *Taraxacum alpestre* (Tausch) DC., *Alchemilla corcontica* Plocek a *Sorbus sudetica* (Tausch) Fritsch, *Campanula bohemica* Hruby a *Euphrasia corcontica* Smejkal (Krahulec 2006).

4.2. Endemismus u rodu *Campanula* L.

Mezi centra endemismu obou evropských sekcí rodu *Campanula* patří zejména Balkánský poloostrov (zejména Řecko), Kréta a oblast Pyrenejského poloostrova. Z horských oblastí lze nalézt endemické zvonky především v Alpách, Karpatech a Apeninách. Jako příklad endemitů lze uvést druhy *C. cyanea* Phitos (Řecko), *C. constantini* Beauverd et Top. (Řecko), *C. alpestris* All. (Alpy) a *C. tubulosa* Lam. (Kréta) ze sekce *Campanula* a druhy *C. cenisia* L. (Alpy), *C. carpatica* Jacq. (Karpaty) a *C. arvatica* Lag. (Pyrenejský pol.) ze sekce *Rapunculus* (Fedorov et Kovanda 1976).

V České republice můžeme nalézt celkem 6 taxonů z komplexu *C. rotundifolia* (Kovanda 1970, 1977). Jedná se o taxony: *C. bohémica*, *C. gelida*, *C. gentilis*, *C. moravica* a *C. rotundifolia*. Druh *C. rotundifolia* zahrnuje dva poddruhy, *C. rotundifolia* subsp. *rotundifolia* a *C. rotundifolia* subsp. *sudetica*. Za endemity ČR můžeme považovat taxony *C. bohémica*, *C. gelida* a *C. rotundifolia* subsp. *sudetica*.

Druh *Campanula moravica* se nachází v celé Panonské oblasti. Mimo České republiky byl nalezen i například na území Slovenska, Maďarska, Rakouska a Rumunska. U taxonu *Campanula gentilis* byl potvrzen výskyt v Bavorsku, jedná se tudíž o subendemický taxon (Rauchová 2007). Poddruh *Campanula rotundifolia* subsp. *rotundifolia* je široce rozšířený (Kovanda 2000).

5. Endemické druhy horských zvonků v ČR

Do tohoto přehledu českých endemických zvonků jsem zařadila taxony *Campanula gelida*, *C. rotundifolia* subsp. *sudetica* a *C. bohémica*.

5.1. *Campanula gelida* Kovanda - zvonek jesenický

5.1.1. Historie

Druh *Campanula gelida* je podle dnešních poznatků stenoendemitem Hrubého Jeseníku. Jeho jedinečnosti si botanici povšimli už poměrně dávno. Zájem o tento taxon s sebou nesl značnou nejednotnost jeho taxonomického pojetí. Vývojem tohoto

taxonomického pojetí se ve svém článku zabýval Miloslav Kovanda (Kovanda 1977). První záznam o tomto druhu přinesl roku 1843 H. Grabowski, který jej popsal jako *Campanula rotundifolia* L. γ *pusilla*. Následně byl tento endemit stejně jako všechny české, horské, endemické zvonky přiřazen k alpskému druhu *Campanula scheuchzeri*, který je s největší pravděpodobností jeho evolučním předkem. Poté byl zařazen k druhu *Campanula kladniana*, ale ani s tím se tehdejší taxonomie nesmířila. Johann Hruby tento taxon popsal jako součást druhu *Campanula rotundifolia* L. var. *sudetica* Hruby. Kovanda taxon *C. gelida* pojmenoval jako poddruh *Campanula bohemica*, tedy *Campanula bohemica* subsp. *gelida* (Kovanda 1977). V dnešní době se tento taxon popisuje jako samostatný druh, který není součástí druhu *Campanula bohemica*.

5.1.2. Popis druhu

Jedná se o vytrvalou, trsnatou bylinu s tenkým a větveným kořenem. Oddenek je tenký, plazivý a také větvený. Lodyhu má přímou, krátce vystoupavou, (8-)12-18(-20) cm vysokou, tuhou a v dolní části hranatou. Lodyha je na hranách brvitá. Tento druh má přizemní listy dlouze řapíkaté, jsou k vidění po celý život rostliny, neodumírají. Čepel mají okrouhlou až okrouhle ledvinitou, celokrajnou nebo oddáleně vroubkovaně pilovitou. Lodyžní listy jsou v dolní části lodyhy volně nahloučené. Dolní listy jsou řapíkaté s čepelí úzce obvejčitou nebo úzce kopinatou, tupou a při bázi brvitou. Ostatní listy jsou \pm přisedlé, úzce kopinaté nebo čárkovitě kopinaté a jsou lysé. Květy má jednotlivé nebo v chudém hroznu (2-4 květy). Poupata jsou vzpřímená. *Campanula gelida* má kališní cípy trojúhelníkovitě kopinaté, rovné, dosahující 2/5-3/5 koruny, při bázi jsou 2,2-3,1 mm široké. Koruna je zvonkovitá až trubkovitá, 17-20 mm dlouhá, k bázi je obloukovitě zúžená. Je fialově modré barvy. Její cípy jsou vzpřímené až rozestálé (Obr. 3, 4 v příloze). Prašníky jsou stejně dlouhé nebo nepatrně delší než nitky. Semeník je lysý a spodní. Plodem je tobolka, která je čihovitá až kuželovitá, (4-)5-6(-7) mm dlouhá, blanitá, nící a otvírající se třemi děrami při bázi. Semena má tento druh elipsoidní, 0,7-1,0 mm dlouhá (Kovanda 2002).

5.1.3. Karyologie

Campanula gelida je tetraploid, $2n=68$ (Kovanda 2000).

5.1.4. Rozšíření druhu

Campanula gelida je stenotopním endemitem Hrubého Jeseníku (Kovanda 1968; Obr. 5 v příloze). Nachází se zde pouze na jediné lokalitě a tou je oblast Petrových kamenů. Jedná se o nadmořskou výšku 1446 m. n. m. a o plochu přibližně 300 m². Jeho populace zpravidla nepřesahuje počet 50 trsů (Bureš *et* Procházka 1999, Rybka *et al.* 2004).

Petrovy kameny jsou třetím nejvyšším vrcholem Hrubého Jeseníku tvořené třemi skalisky. Skládají se především z fylitů a kvarcitů. Z geomorfologického hlediska se jedná o mrazový srub, což je skalní útvar vzniklý postupným mrazovým zvětráváním a následným odnosem. V 17. století byly považovány za místo čarodějnických sletů a to výrazně ovlivnilo míru turistiky v následujících staletích.

5.1.5. Ekologie

Vyskytuje se ve skalních štěrbinách Petrových kamenů i v jejich blízkém okolí, tedy na horské louce s kyselou reakcí. V obvodu Petrových kamenů je značně proměnlivý, z hlediska výšky lodyhy a počtu, tvaru, barvy květů. Příčinou je především rozdílnost světelných podmínek (světlo x stín). Rostliny ve stínu také kvetou později nebo mohou být i sterilní (Bureš *et* Procházka 1999).

Jedná se o entomogamní druh s dobou kvetení od července do srpna (Kovanda 2000).

Náleží do asociace *Cetrario-Festucetum supinae* (Jeník 1961).

5.1.6. Ohrožení a péče o druh

Patří mezi druhy kriticky ohrožené (C1), takto je zapsán v červeném seznamu ČR a v mezinárodním seznamu IUCN (Walter *et* Gillet 1998). Zákonem je chráněn jako druh kriticky ohrožený (§1). Je zapsán na seznamu přísně chráněných druhů Bernské úmluvy a je zahrnut do evropské soustavy NATURA 2000.

V minulosti byl tento druh značně decimován letní i zimní turistikou. Byl také často vysbíráván jako skalnička. Na počátku 80. let téměř vymizel. Roku 1984 došlo k odklonění turistické cesty mimo tuto lokalitu a celá oblast výskytu druhu *Campanula gelida* je dodnes

přísně chráněna. V dnešní době se začíná tento druh opět pomalu šířit. Je stále monitorován a okolní vegetace (především maliník), která by mohla být pro tento taxon nebezpečná, je vyřezávána (Bureš *et al.* 1989, Bureš *et Procházka* 1999).

5.2. *Campanula rotundifolia* L. subsp. *sudetica* (Hruby) Soó - zvonek okrouhloolistý sudetský

5.2.1. Historie

Poddruh *Campanula rotundifolia* subsp. *sudetica* je endemickým taxonem sudetské oblasti ČR. V zájmu botaniků se ocitl už v 18. století, tudíž bylo jeho systematické zařazení v průběhu historie značně nejednotné. Vývojem tohoto taxonomického pojetí se ve svém článku zabýval Miloslav Kovanda (Kovanda 1977). Nejstarší záznam o tomto druhu můžeme najít v knize „Flora Silesiae” (Grabowski *et* Wimmer 1827), kde je popsán jako *Campanula rotundifolia* L. *γ pusilla* Haenke. Tyto první záznamy byly pořízeny pouze z lokalit v Hrubém Jeseníku. Poté byl tento taxon zařazen k alpskému *Campanula scheuchzeri* Vill., kam již bylo možné započítat i krkonošské zástupce. Závažným problémem se ukázalo to, že k *C. scheuchzeri* Vill. byly řazeny i druhy *C. bohemica* a *C. gelida* (viz kap. 5.1, 5.3). Aby došlo k odlišení, byl druh *C. rotundifolia* subsp. *sudetica* přejmenován na taxon *Campanula kladniana* (Schur) Witas. Tento postupný vývoj taxonomie vedl ke zmatkům, které se pokusil vyřešit Johann Hruby. Zařadil tento druh jako poddruh rodu *Campanula rotundifolia* a pojmenoval jej *Campanula rotundifolia* var. *sudetica* Hruby. Soó následně tento taxon přeřadil do kategorie poddruhu. Kovanda ve svém článku použil označení *Campanula tatrae* Borbás subsp. *sudetica* (Kovanda 1977). Dnes je rozšířeno původní jméno botanika Johanna Hruby *Campanula rotundifolia* subsp. *sudetica* (Hruby) Soó.

5.2.2. Popis druhu

Poddruh *Campanula rotundifolia* subsp. *sudetica* je rostlina s nevětvenou lodyhou, vystoupavou až položenou nebo převislou. Je (5-)10-15(-18) cm vysoká v dolní části hustě olistěná. Květy jsou jednotlivé až v chudém hroznu. Kališní cípy má úzce kopinaté, při bázi 1-1,5 mm široké. Koruna je sytě modrá až modrofialová, (16-)18-22(-24) mm dlouhá (Obr. 6

v příloze). Semeník bývá lysý a spodní. Plodem je tobolka, která je 5-8 cm dlouhá. Od nominátního poddruhu *C. rotundifolia* se liší především svými přizemními listy, které jsou k vidění po celý život rostliny. Dalším rozdílem je hustá trsnatost této rostliny (Kovanda 2000).

5.2.3. Karyologie:

Campanula rotundifolia subsp. *sudetica* je tetraploid, $2n=68$ (Kovanda 2000).

5.2.4. Rozšíření druhu

Campanula rotundifolia subsp. *sudetica* je neoendemitem sudetských pohoří. Lze ho nalézt v Krkonoších a Hrubém Jeseníku. Někteří autoři jej však zahrnují pouze do oblasti Hrubého Jeseníku (Bureš *et* Procházka 1999). Byl nalezen například na krkonošských lokalitách, jako jsou Kotelné jámy, Čertova zahrádka, Úpská jáma a na jesenických lokalitách, jako jsou Tabulové kameny, Červená hora, Keprník a Obří skály (Kovanda 2000).

5.2.5. Ekologie

Tento druh se vyskytuje na skalách, skalnatých svazích a zarostlých sutích. Vyžaduje kyselé, vlhké půdy, chudší na živiny.

Náleží do svazu *Agrostion alpinae*, do asociací *Saxifraga paniculatae-Agrostietum alpinae* (Kovanda 2000).

5.2.6. Ohrožení a péče o druh

Patří mezi druhy silně ohrožené (C2), takto je zapsán jak v červeném seznamu ČR (Procházka 2001) tak v mezinárodním seznamu IUCN (Walter *et* Gillet 1998). Zákonem je chráněn jako druh kriticky ohrožený (§1).

5.3. *Campanula bohemica* Hruby - zvonek český

5.3.1. Historie

Druh *Campanula bohemica* je krkonošským neoendemitem. Jeho unikátnosti si botanici povšimli už dávno, i když taxonomické pojetí zůstávalo v průběhu historie značně nejednotné. Celkovým vývojem tohoto taxonomického pojetí se ve svém článku zabýval Miloslav Kovanda (Kovanda 1984). Tento taxon poprvé označili bratři Preslové jako *Campanula linifolia* Haenke in Jacq. (Presl *et* Presl 1819). Nebyl však dostatečně popsán a bylo možné jej zaměnit i s jinými druhy rodu *Campanula*, tudíž bylo nutné podrobněji se zaměřit na rozlišovací znaky a krkonošský endemit byl poté uveden pod novým jménem. Tím bylo označení *Campanula rotundifolia* L. *β grandifolia* Wimmer. Později došlo k uvedení zvonku českého do souvislosti s *Campanula scheuchzeri*, jehož název byl pro dnešní *C. bohemica* přejat. Uvedený taxon lze nalézt pod tímto jménem např. v „Prodromu květeny české” (Čelakovský 1871). Autor však předpokládal, že se jedná o samotný alpský taxon a ne o samostatný krkonošský druh. Významný posun v taxonomii přinesl Johann Hruby, který daný druh znovu popsal a označil jako *Campanula bohemica* Hruby. Některé jeho popisky (zejména výška daného taxonu a tvar kališních cípů) však byly přehnané a zcela nepodobné krkonošskému endemitu, takže jeho název byl označen za podivný a přejmenován (Šourek 1953). Šourekovo jméno pro tento taxon znělo *Campanula corcontica* Šourek a všechny dosavadní Hrubyho herbářové popisy byly nahrazeny tímto označením. Pozdější výzkum na základě Mezinárodního kódu botanické nomenklatury označil za prioritní název *Campanula bohemica* Hruby.

5.3.2. Popis druhu

Campanula bohemica je vytrvalá, řídce trsnatá, zřídka hustěji trsnatá bylina. Má tenký, větvený kořen a tenký, plazivý oddenek. Lodyhy jsou většinou jednotlivé, vystoupavé až přímé, (10-)15-25(-40) cm vysoké, tuhé, v dolní části hranaté a na hranách brvité. Přízemní listy jsou dlouze řapíkaté, v době květu často odumírající. Mají okrouhle srdčitou čepel, vroubkovanou až celokrajnou. Lodyžní listy jsou většinou v dolní části lodyhy volně nahloučené. Dolní listy jsou řapíkaté s čepelí úzce podlouhlou nebo úzce kopinatou, tupou, oddáleně pilovitou až celokrajnou, při bázi brvitou. Střední listy jsou zúženou bází přisedlé,

úzce kopinaté až čárkovitě kopinaté a celokrajné. Horní listy jsou přisedlé, čárkovitě kopinaté až čárkovité. Květy jsou po 2-5 v chudém hroznu nebo jednotlivé. Poupata jsou vzpřímená, někdy obloukovitě skloněná. Kališní cípy má trojúhelníkovitě kopinaté, rovné, zděli 1/4-3/5 koruny, rozestálé až nazpět zahnuté, při bázi 2,1-3,0 mm široké. Koruna je zvonkovitá až trubkovitá, 16-23(-25) mm dlouhá, s cípy rozestálými, při bázi ± polokruhovitá, fialově modrá (Obr. 7, 8 v příloze). Prašníky jsou zděli nebo nepatrně delší než nitky. Semeník je lysý, spodní. Plodem je tobolka. Je podlouhle kuželovitá, (5-)6-8(-10) mm dlouhá, blanitá, nící, otvírající se třemi děrami při bázi (Kovanda 2000, Rybka *et al.* 2004, Dvořák *et Štursa* 2009). Semena jsou elipsoidní, (0,7-)0,8-1,0 mm dlouhá, 0,0459-0,0596 g těžká s přibližně 68% klíčivostí (Kovanda 2000, Harčariková *et Zahradníková* 2010).

5.3.3. Karyologie

Campanula bohemica je tetraploid, $2n=68$ (Kovanda 2000).

5.3.4. Rozšíření druhu

Campanula bohemica je neoendemitem Krkonoš (Obr. 9). Roste na české i polské straně nejvyššího českého pohoří. Jeho lokality se nachází po celé oblasti od cca 800 m. n. m. do 1500 m. n. m., od montánního po alpský stupeň. Nejhojněji se vyskytuje v okolí Pece pod Sněžkou. V minulosti býval dosti hojný, v dnešní době je na ústupu (Kovanda 2000, Rybka *et al.* 2004).

Krkonoše se řadí k českému mezofytiku a oreofytiku. Jejich vznik je datován do prvohor, tedy přibližně do období před 600 miliony lety, období Hercynského vrásnění. Jedná se o nejvyšší české pohoří přesahující horní hranici lesa. Jsou poznamenány glaciací, tudíž zde můžeme nalézt ledovcové doly, kary a morény. Na polské straně lze nalézt i ledovcová jezera. Ledovce měly dopad i na organismy obývající Krkonoše, a proto zde můžeme najít také některé glaciální relikty (*Rubus chamaemorus*). Měnící se podmínky a geomorfologický vývoj měly vliv na formování mnoha rozdílných typů vegetace. Nalezneme zde společenstva kosodřevin, ledovcové kary, rašeliniště, horské smrčiny, horské louky, na kterých se právě druh *Campanula bohemica* vyskytuje, a další. Vegetace Krkonoš

zahrnuje přibližně 20 vegetačních tříd a 23 vegetačních řádů (Dostál 1953, Sýkora 1983, Dvořák *et* Štursa 2009).

Historie Krkonoš je také spojena s těžbou dřeva. Pro značnou devastaci místních lesů se v 16. století těžba přesunula do Orlických hor a v Krkonoších se více rozmohl chov a pastva dobytka. Tento vznik tzv. budního hospodářství měl za následek rozšiřování bezlesých oblastí a ty daly vznik květnatým horským loukám. Tento jev výrazně navýšil druhovou rozmanitost Krkonoš a silně předčil nevýhody spojené se ztrátou lesů (Krahulec *et* al. 1996).

5.3.5. Ekologie

Vyskytuje se na dobře osluněných loukách s dostatečnou vlhkostí a zásobou živin. Jeho primární lokalitou jsou však ledovcové kary, kde se běžně vyskytoval už před vznikem těchto luk (Chejnová *et* al. 2000). Roste také na okrajích porostů kosodřeviny a někdy na kamenitých svazích (Šourek 1970, Kovanda 2000, Rybka *et* al. 2004). Náleží do svazu *Polygono-Trisetion* (Kovanda 2000). Louky, které jsou místem výskytu tohoto druhu, jsou druhotné, antropogenního původu a patří k nejcennějším složkám přírodního fondu Krkonošského národního parku, jak už bylo poznamenáno v předchozí kapitole. Jejich existence je dána tradičním, historickým obhospodařováním, které je však dnes na ústupu. Tím dochází k degradaci luk provázené výrazným úbytkem zastoupení vzácných druhů (Bureš *et* Procházka 1999).

Jedná se o rostlinu entomogamní s dobou kvetení od července po září. Klíčení semen je příznivější po období periody chladu a vystavení světlu. Předpokládá se, že tvoří půdní semennou banku, kdy semena v půdě mohou být živá déle než jeden rok (Harčariková *et* Zahradníková 2010).

5.3.6. Ohrožení a péče o druh

Campanula bohemica patří mezi silně ohrožené druhy (C2), takto je zapsán v červeném seznamu ČR (Procházka 2001) a v mezinárodním seznamu IUCN (Walter *et* Gillet 1998). Zákonem je chráněn jako druh silně ohrožený (§2). Je zahrnut do evropské soustavy NATURA 2000.

Téměř všechny lokality s výskytem tohoto druhu jsou součástí Krkonošského národního parku. Ve vyšších polohách je tento druh součástí první, nejpřísněji chráněné, zóny národního parku, tudíž je o ochranu tohoto druhu dostatečně postaráno. Louky, na kterých se tento druh vyskytuje, jsou jednou ročně sečeny a postupně se zde rozšiřuje i chov ovcí, který také přispívá k zachování rozmanitosti a počtu druhů (Rybka *et al.* 2004). V dnešní době bylo zaznamenáno šíření tohoto druhu podél horských cest prostřednictvím migrace diaspor vlivem turistického ruchu (Chejnová *et al.* 2000).

6. Historické a současné procesy v populacích *C. bohemica*

6.1. Evoluční historie druhu

Druh *Campanula bohemica* je s velkou pravděpodobností příbuzný alpského zvonku *Campanula scheuchzeri*. Oba druhy jsou si morfologicky značně podobné a vykazují i stejný počet chromozomů. Oba tyto taxony jsou tetraploidní ($2n=4x=68$; Kovanda 1977). Předpokládá se, že se krkonošský endemit vyvinul během poslední doby ledové z předka blízce příbuzného tomuto alpskému zvonku (Chejnová *et al.* 2000). Kvůli klimatickým změnám docházelo k migraci řady alpských druhů včetně tohoto předka obou taxonů. Tyto druhy domigrovaly až do sudetské oblasti, kde došlo k jejich diferenciaci (Tab. 1; Rybka *et al.* 2004). V důsledku geografické izolace krkonošské oblasti a malému rozsahu zdejší populace došlo k poměrně rychlé evoluci a během relativně krátké doby se zde mohl diferencovat samostatný taxon (Kovanda 1984). U obou druhů lze dnes pozorovat několik odlišujících znaků. Je to například tvar a velikost lodyžních lístků, koruny a poupat (Kovanda 1984).

Tab. 1: Rozlišovací znaky druhů *Campanula bohemica* a *Campanula scheuchzeri*. Zdroj: Kovanda (1984).

Znak/druh	<i>C. bohemica</i>	<i>C. scheuchzeri</i>
Lodyžní listy	tupé nebo tupě špičaté	špičaté
Poupata	vzpřímená nebo obloukem skloněná	nící
Koruna	při bázi polokulovitá	k bázi zúžená

6.2. Současné procesy v populacích druhu *C. bohemica*

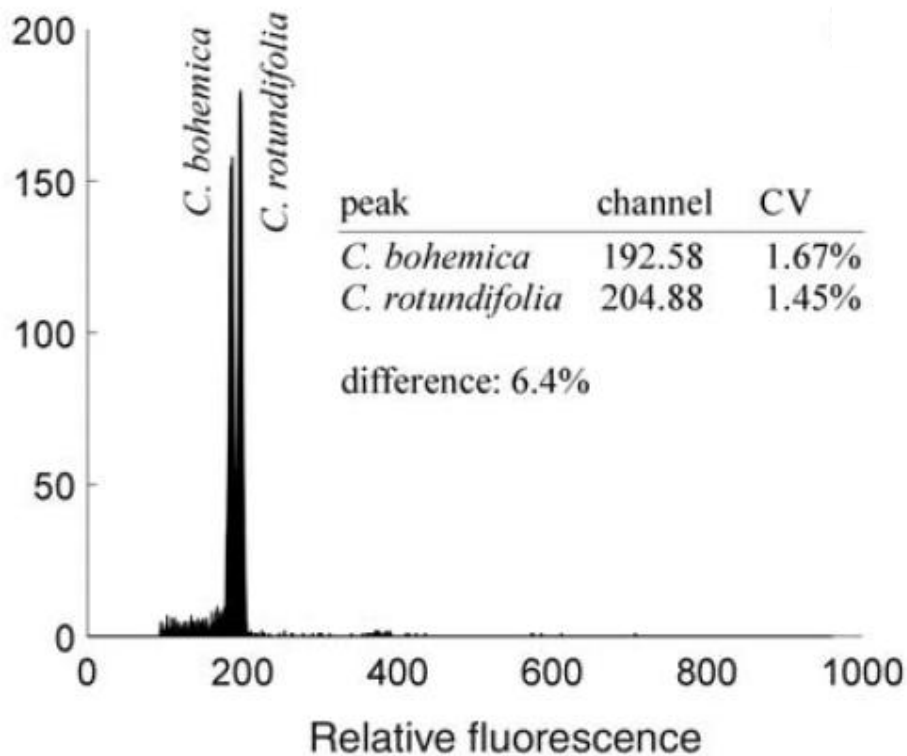
V Krkonoších dochází ke styku populací dvou druhů. Jedná se o druh *Campanula bohemica* a druh *Campanula rotundifolia*, který se především kvůli turistickému ruchu v Krkonoších šíří z nižších poloh do stále vyšších nadmořských výšek. Na styku těchto populací dochází s největší pravděpodobností k mezidruhové hybridizaci (Kovanda 2000). Šourek (1953), který objevil jednu hybridní populaci v Obřím dole v Krkonoších, nazval tohoto hybrida *Campanula ×pilousii* Šourek.

Campanula ×pilousii je hybridní druh nazvaný podle Zdeňka Pilouse, krkonošského konservátora státní péče pro ochranu přírody. Šourek (1953) uvádí, že tento kříženec nese intermediární znaky obou předpokládaných rodičovských druhů. Tyto znaky se údajně projevují zejména v odění, větvení lodyhy a ve tvaru květenství (Kovanda 1953, 2000).

K hybridizaci nejspíše dochází mezi tetraploidními cytotypy těchto dvou druhů. Tento jev lze pozorovat na lokalitách okolo 900 m. n. m., kde se stýkají populace obou druhů. Je značně pravděpodobné, že se jedná o introgresivní hybridizaci, a právě proto kříženci stále nejsou přesně morfologicky odlišeni a vykazují značnou morfologickou variabilitu (Kovanda 1977). Problémem zůstává i odlišení obou rodičovských druhů. Je to především kvůli značné proměnlivosti taxonu *C. rotundifolia*, který v horských polohách vykazuje netypické znaky. K významným morfologickým rozdílům údajně patří tvar lodyhy, šířka kališních cípů a délka tobolky (Tab. 2; Kovanda 2000). Důležitým rozdílem obou druhů však zůstává velikost jaderného genomu (Obr. 10).

Tab. 2: Rozlišující morfologické znaky mezi *C. bohemica* a *C. rotundifolia*. Vypracováno podle: Kovanda (2000).

Znak/ druh	<i>C. bohemica</i>	<i>C. rotundifolia</i>
Lodyha	hrnatá, na hranách brvitá	oblá, v dolní části krátce pýřitá
Šířka kališních cípů (v dolní části)	2,1-3,0 mm	0,8-1,5 mm
Délka tobolky	5-10 mm	2-8 mm



Obr. 10: Histogram ukazující rozdíl ve velikosti genomů tetraploidů *C. bohemica* a *C. rotundifolia*. Tento rozdíl byl potvrzen simultánní analýzou obou druhů. Jádra byla izolována v Ottově pufru a obarvena fluorochromem DAPI. Převzato z: Loureiro *et al.* (2010).

7. Otázky pro navazující diplomovou práci

- 1) Jaká je populační struktura lokalit s výskytem *C. bohemica* (podíl druhově smíšených a uniformních populací)?
 - jaké je zastoupení *C. bohemica* a *C. rotundifolia* na smíšených lokalitách?
- 2) Vykazují oba tyto druhy rozdíly v ekologii?
 - existuje (mikro)stanovištní diferenciace v případě smíšených populací?
- 3) Jak často v populacích vznikají kříženci?
 - liší se jejich frekvence na lokalitách s odlišným zastoupením rodičovských druhů?
 - jaká jsou typická stanoviště pro hybridy?

4) Jakými morfologickými znaky se odlišují oba rodičovské druhy?

- jakými znaky se vyznačují jejich hybridů?

5) Jaký je směr hybridizace v přírodních podmínkách?

- dochází k introgresivní hybridizaci?

- je *C. bohemica* spíše mateřskou nebo otcovskou rostlinou hybridů?

8. Metodika

Následující metody budou použity k řešení výše uvedených okruhů otázek.

8.1. Průtoková cytometrie

Průtoková cytometrie (flow cytometry - FCM) je ve vědě široce užívanou metodou. Jedná se o techniku, která umožňuje současné měření a analýzu vlastností buněk nebo jiných biologických částic při jejich průchodu silným zdrojem excitačního záření, nejčastěji laserovým paprskem (Shapiro 2004). Hlavní oblastí využití FCM v botanice je zaznamenávání fluorescenční intenzity jádra obarveného DNA-selektivními fluorochromy, které umožňují s velkou mírou přesnosti určit velikost jaderného genomu. Výsledky mohou být vyjádřeny buď v absolutních jednotkách (pikogramy nebo páry bází), nebo relativně, jako stupeň ploidie. Využití průtokové cytometrie s sebou nese značné množství výhod. Umožňuje velice rychle analyzovat velké množství vzorků s kvalitními a přesnými výslednými údaji. Další výhodou je i snadná příprava a manipulace se vzorky, která je časově nenáročná. Tato metoda je finančně dostupná. Nejvyzdvihovanější výhodou průtokové cytometrie je její nedestruktivnost vůči rostlině, protože k celkové analýze stačí jen malý kousek rostlinného pletiva (Loureiro *et al.* 2010). Pomocí této metody se tedy stanovuje stupeň ploidie, reprodukční způsob, obsah DNA v jádře a fáze buněčného cyklu.

Technika FCM bude využita především pro odlišení druhů *Campanula bohemica* a *Campanula rotundifolia*, pro něž je velikost genomu důležitým diferenčním znakem. Tuto skutečnost potvrdil nedávný výzkum provedený ve spolupráci se Správou KRNAP. Bylo

zjištěno, že velikost jaderného genomu u *C. bohemica* je menší ($2C=4,21$ pg) než u *C. rotundifolia* ($2C=4,72$ pg). Problémem ovšem zůstává odhalení zpětných kříženců, které lze ve zdejších populacích s velkou pravděpodobností nalézt. Tento problém se pokusím vyřešit pomocí metody AFLP.

8.2. Molekulární markery – AFLP

Jak již bylo nastíněno v předchozí kapitole, tato metoda bude využita především pro určení pravděpodobných zpětných kříženců u *C. bohemica* a *C. rotundifolia*.

AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism = délkový polymorfismus amplifikovaných fragmentů) je molekulární metoda založená na namnožení amplifikovaných, vybraných částí celkové jaderné DNA. Tato technika se skládá ze tří kroků. Prvním krokem je restrikce DNA pomocí enzymů. Druhým krokem je selektivní namnožení těchto úseků DNA pomocí polymerázové řetězové reakce (Polymerase Chain Reaction - PCR). Závěrečnou částí je gelová analýza namnožených úseků DNA (Vos *et al.* 1995). Výhody této metody jsou: vysoká reprodukovatelnost, přístupnost ke genomové komplexitě, možnost generování prakticky nekonečného počtu markerů a skutečnost, že nejsou nutné žádné předchozí informace o daném organismu (McNeil *et al.* 2011). AFLP se využívá pro studium genetické variability. Díky tomu lze AFLP použít k detekci procesů v populacích, odlišení blízkých taxonů a při fylogeografických studiích.

8.3. Morfometrická analýza

Morfometrická analýza slouží ke kritickému zhodnocení fenotypové variability mezi jednotlivými druhy. Využití této analýzy má smysl zejména jedná-li se o druhy, které vykazují značnou morfologickou podobnost. Problémem může být fenotypová plasticita, která je značně ovlivňována ekologickými faktory (Briggs *et Walters* 2001). Při kombinaci se statistikou lze získat mnohem objektivnější výsledky a lze předejít subjektivnímu náhledu badatele (Marhold *et Suda* 2002).

K odlišení druhů *C. bohemica*, *C. rotundifolia* a jejich pravděpodobných kříženců bude využita především klasická morfometrika s využitím vegetativních i generativních znaků. Pro studium vzájemných vztahů mezi skupinami objektů bude použita shlukovací

analýza a analýza hlavních komponent (PCA). Navazující kanonická a klasifikační diskriminační analýza bude sloužit k určení znaků, které nejlépe odlišují předem stanovené skupiny objektů (*C. bohemica*, *C. rotundifolia* a jejich hybridy) a ke stanovení úspěšnosti klasifikace.

9. Závěr

Tato bakalářská práce shrnuje dosavadní poznatky o krkonošském endemickém druhu *Campanula bohemica* a o problematice týkající se jeho pravděpodobné hybridizace s druhem *Campanula rotundifolia*. Oba tyto druhy vykazují značnou podobnost a dosud nebyly nalezeny spolehlivé morfologické rozdíly k jejich jednoznačnému odlišení. V nedávné době se ukázalo, že oba druhy se vyznačují rozdílnou velikostí genomu, která tak může být použita jako diferenční znak. Situaci navíc komplikuje mezidruhový kříženec *C. ×pilousii*. Vzhledem ke značné variabilitě v morfologických znacích lze předpokládat, že kromě primárních hybridů existují i hybridy zpětní a jedinci introgresního původu.

Problematika hybridizace okolo druhu *Campanula bohemica* dosud nebyla podrobněji prozkoumána, a právě proto bych se tomuto zajímavému taxonu chtěla dále věnovat ve své diplomové práci a vyřešit otázky spojené s hybridizací a morfologickými odlišnostmi. Řešení těchto otázek by mohlo přispět ke zhodnocení potenciálního rizika eroze genofondu v důsledku mezidruhové hybridizace u důležitého českého endemita a přinést významné propojení základního výzkumu a ochranné praxe.

Použitá literatura

- Bennett M. D., Leitch I. J. (1997): Polyploidy in angiosperms. *Trends in plant science*, 2(12): 470-476.
- Briggs D., Walters S. M. (2001): Proměnlivost a evoluce rostlin. Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc.
- Bureš L., Burešová Z., Novák V. (1989): Vzácné a ohrožené rostliny Jeseníků. Díl 1. Český svaz ochránců přírody, Bruntál.
- Bureš L., Procházka F. (1999): *Campanula bohemica* Hruby subsp. *gelida* (Kovanda) Kovanda. In Čerovský J., Feráková V., Holub J., Maglocký Š., Procházka F.: Červená kniha ohrožených a vzácných druhů rostlin a živočichů ČR a SR. Vol. 5. Vyšší rostliny. Příroda, Bratislava.
- Clausen J., Keck D. D., Hiesey W. M. (1945): Experimental studies on the nature species. Part 2. Plant evolution through amphiploidy and autopoloidy, with examples from the Madiinae. Carnegie Institute Washington, Washington, D. C.
- Čelakovský L. (1867): Prodrömus der Flora von Böhmen. Comité für die naturwissenschaftliche Durchforschung Böhmens, Prag.
- Dostál J. (1953): Krkonoše. Orbis, Praha: 55-73.
- Dvořák J., Štursa J. (2009): Atlas krkonošských rostlin. Nakladatelství Karmášek, České Budějovice.
- Eddie W. M. M., Shulkina T., Gaskin J., Haberle R. C., Jansen R. K. (2003): Phylogeny of *Campanulaceae* s. str. inferred from its sequences of nuclear ribosomal DNA. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 90(4): 554-575.
- Fedorov A. A., Kovanda M. (1976): *Campanula* L. In Tutin T. G., Heywood V. H., Burges N. A., Moore D. M., Valentine D. H., Walters S. M., Webb D. A. [eds.]: *Flora Europaea*. Vol. 4. *Plantaginaceae* to *Compositaceae* (and *Rubiaceae*). Cambridge University Press, Cambridge.
- Flégr J. (2005): *Evoluční biologie*. Academia, Praha.
- Grabowski H., Wimmer F. (1827): *Flora Silesiae. Pars Prima*. Korn, Vratislaviae: 182-192.

- Jeník J. (1961): Alpínská vegetace Krkonoš, Králického Sněžníku a Hrubého Jeseníku. Teorie anemo-orografických systémů. Nakladatelství Československé akademie věd, Praha.
- Harčariková L., Zahradníková J. (2010): Banka semen ohrožených druhů rostlin Krkonoš. *Opera Corcontica*, 47: 211-230.
- Hegarty M. J., Hiscock S. J. (2005): Hybrid speciation in plants: new insights from molecular studies. *New Phytologist*, 165: 411-423.
- Hegarty M. J., Hiscock S. J. (2008): Genomic clues to the evolutionary success of polyploid plants. *Current Biology*, 18(10): 435-444.
- Hendrych R. (1984): Fytogeografie. Státní pedagogické nakladatelství, Praha.
- Holub J., Procházka F., Čeřovský J. (1979): Seznam vyhynulých, endemických a ohrožených taxonů vyšších rostlin květeny ČSR (1. verze). *Preslia*, 51(3): 213-237.
- Chejnová S., Petrás P., Krahulec F. (2000): Fytocenologická charakteristika druhu *Campanula bohemica* Hruby a *Campanula rotundifolia* L. v Krkonoších. *Opera Corcontica*, 37: 211-216.
- Kovanda M. (1966): Some chromosome counts in the *Campanula rotundifolia* complex II. *Folia Geobotanica et Phytotaxonomica Bohemoslovaca*, 1: 268-273.
- Kovanda M. (1967): Polyploidie a variabilita v komplexu *Campanula rotundifolia*. Ms. [Kandid. práce, depon. In: Knihovna katedry botaniky Přírodovědecké fakulty UK, Praha].
- Kovanda M. (1968): New taxa and combinations in the subsection *Heterophylla* (Witas.) Fed. of the genus *Campanula* L. *Folia Geobotanica et Phytotaxonomica*, 3: 407-411.
- Kovanda M. (1970): Polyploidy and variation in the *Campanula rotundifolia* complex. Part II. (Taxonomic). 1. Revision of the groups *Saxiolarae*, *Lanceolatae* and *Alpicolae* in Czechoslovakia and adjacent regions. *Folia Geobotanica et Phytotaxonomica*, 5: 171-208.
- Kovanda M. (1977): Polyploidy and variation in the *Campanula rotundifolia* complex. Part II. (Taxonomic). 2. Revision of the groups *Vulgares* and *Schreuchzerianae* in Czechoslovakia and adjacent regions. *Folia Geobotanica et Phytotaxonomica*, 12: 23-89.
- Kovanda M. (1984): Příklad krkonošského zvonku. *Živa*, 32: 13-15.

- Kovanda M. (2000): *Campanula* L. - zvonek. In Slavík B. [ed.]: Květena České republiky 6. Academia, Praha: 726-748.
- Kovanda M. (2002): *Campanulaceae* Juss. – zvonkovité. In Kubát K., Hrouda L., Chrtek J. jun., Kaplan Z., Kirschner J., Štěpánek J. [eds.]: Klíč ke květeně České republiky. Academia, Praha: 607-613.
- Krahulcová A., Krahulec F., Kirschner J. (1996): Introgressive hybridization between a native and an introduced species: *Viola lutea* subsp. *sudetica* versus *V. tricolor*. *Folia Geobotanica et Phytotaxonomica*, 31(2): 219-244.
- Krahulec F., Blažková D., Balátová-Tuláčková E., Štursa J., Pecháčková S., Fabšičová M. (1996): Louky Krkonoš: Rostlinná společenstva a jejich dynamika. *Opera Corcontica*, 33: 3-250.
- Krahulec F. (2006): Species of vascular plant endemic to the Krkonoše Mts (Western Sudetes). *Preslia*, 78(4): 503-516.
- Loureiro J., Trávníček P., Rauchová J., Urfus T., Vít P., Štech M., Castro S., Suda J. (2010): The use of flow cytometry in the biosystematics, ecology and population biology of homoploid plants. *Preslia*, 82: 3-21.
- Lowry D. B., Modliszewski J. L., Wright K. M., Wu C. A., Willis J. H. (2008): The strength and genetic basis of reproductive isolating barriers in flowering plants. *Philosophical transaction of The Royal society B*, 363: 3009-3021.
- Marhold K., Suda J. (2002): Statistické zpracování mnohorozměrných dat v taxonomii (Fenetické metody). Karolinum, Praha.
- McNeil M. D., Hermann S., Jackson P. A., Aitken K. S. (2011): Conversion of AFLP markers to high-throughput markers in a complex polyploid, sugarcane. *Molecular Breeding*, 27: 395-407.
- Park J.-M., Kovačić S., Liber Z., Eddie W. M. M., Schneeweiss G. M. (2006): Phylogeny and biogeography of isophyllous species of *Campanula* (*Campanulaceae*) in the Mediterranean area. *Systematic Botany*, 31(4): 862-880.
- Presl J. S., Presl C. B. (1819): Kwětena česká: s poznamenájm lékařských, hospodářských a řemeselnických rostlin. J. G. Calve, Pragae: 49-50.

- Procházka F. [ed.] (2001): Černý a červený seznam cévnatých rostlin České republiky (stav v roce 2000). Příroda, Praha, 18: 1-166.
- Rauchová J. (2007): Karyologická, fenetická a genetická diference českého subendemického taxonu *Campanula gentilis* Kovanda. Ms. [Dipl. práce, depon. In: Knihovna katedry botaniky Přírodovědecké fakulty UK, Praha].
- Roquet C., Sáez L., Aldasoro J. J., Susanna A., Alarcón M. L., Garcia-Jacas N. (2008): Natural delineation, molecular phylogeny and floral evolution in *Campanula*. Systematic Botany, 33(1): 203-217.
- Rybka V., Rybková R., Pohlová R. (2004): Rostliny ve svitu evropských hvězd. Rostliny soustavy Natura 2000 v České republice. Sagittaria, Olomouc, Praha: 28-31.
- Shapiro H. (2004): Practical flow cytometry. Wiley-Liss, New York.
- Soltis D. E., Soltis P. S. (1999): Polyploidy: recurrent formation and genome evolution. Tree 14(9): 348-352.
- Soltis D. E., Soltis P. S. (2000): Contribution of plant molecular systematics to studies of molecular evolution. Plant Molecular Biology, 42: 45-75.
- Soltis D. E., Soltis P. S., Tate J. A. (2003): Advances in the study of polyploidy since plant speciation. New Phytologist, 161: 173-191.
- Soltis D. E., Albert V. A., Leebens-Mack J., Bell Ch. D., Paterson A. H., Zheng C., Sankoff D., de Pamphilis C. D., Wall P. K., Soltis P. S. (2009): Polyploidy and angiosperm diversification. American Journal of Botany, 96: 336-348.
- Stebbins G. L. jr. (1951): Variation and evolution in plants. Columbia University Press, New York.
- Sýkora B. (1983): Krkonošský národní park. Státní zemědělské nakladatelství, Praha.
- Šourek J. (1953): *Campanula corcontica* sp. nov. Preslia, 25: 1-24.
- Šourek J. (1970): Květena Krkonoš. Academia, Praha: 221-225.
- Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., van de Lee 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 W. H. jr. (1968): Hybridization, taxonomy and evolution. In Heywood V. H. [ed.]: Modern methods in plant taxonomy. Academic Press Inc., London and New York: 113-138.
- Walter K. S., Gillet H. J. [eds.] (1998): 1997 IUCN Red list of threatened plants. IUCN Gland, Switzerland and Cambridge, UK.
- Wissemann V. (2007): Plant evolution by means of hybridization. *Systematics and Biodiversity*, 5(3): 243-253.
- Wolf D. E., Takebayashi N., Rieseberg L. H. (2001): Predicting the risk of extinction through hybridization. *Conservation Biology*, 15(4): 1039-1053.