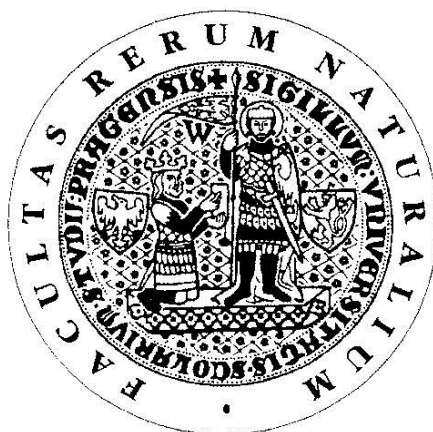


Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie
Studijní obor: Biologie



Zuzana Líblová

Důsledky polyploidizace pro invazní potenciál druhů
Impact of polyploidy on the invasive potential of species

Bakalářská práce

Školitel: Doc. RNDr. Zuzana Münzbergová Ph.D.

Praha, 2012

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, dne 22. 8. 2012

Abstrakt

Polyploidní varianty mnohých druhů rostlin jsou nejen nápadně často nalézány mezi nepůvodními rostlinami na všech kontinentech, ale velmi často navíc mají mnohem rozlehlejší areál svého výskytu oproti diploidním rostlinám v místě, odkud pocházejí. V mnoha případech mají cytotypy se znásobeným genomem také zvýšenou hranici tolerance k různým stresovým faktorům či takové fyziologické a morfologické znaky, které jim umožňují přežít podmínky, ve kterých by se diploidní rostliny neměly šanci udržet. To vše naznačuje, že polyploidizace pravděpodobně přináší rostlinám určitou evoluční výhodu nad jejich diploidními předky, a proto mohou úspěšně kolonizovat nová území. V této práci jsou shrnuty poznatky o možných důsledcích polyploidizace na různých úrovních v souvislosti s jejich vlivy na vlastnosti podporující invazní charakter rostlinných druhů. Jsou zde představeny také známé hypotézy pojednávající právě o možnostech, proč se rostliny po zavlečení stanou invazními. Dále následuje část věnovaná průtokové cytometrii, důležité moderní metodě pro zjišťování velikosti genomu a stupni ploidie. Na závěr jsou stručně uvedeny informace o modelovém druhu vikvi ptačí (*Vicia cracca*) a výsledky měření stupně ploidie semen této rostliny z Aljašky a z Japonska.

Klíčová slova: ploidie, polyploidizace, invazivita, autopolyploidi, allopolyploidi, průtoková cytometrie, vikev ptačí (*Vicia cracca*)

Abstract

Polyploid variants of many species of plants are strikingly frequently found among alien plants on all continents. They also very often have a much larger distribution range of its occurrence, compared to diploid plants in the place of their origin. In many cases, the polyploid cytotype also has increased tolerance to various stress factors or a physiological and morphological characteristics that allow them to survive the conditions in which the diploid plants would have little chance to survive. All this suggests that polyploidy is likely to bring plants an evolutionary advantage over their diploid ancestors, and polyploids therefore can successfully colonize new

territories. This thesis summarizes the findings about the possible consequences of polyploidy at different levels in relation to their effects on the properties supporting plant invasive ability. It presents also known hypotheses dealing with possibilities of why plants become invasive after introduction. This is followed by sections devoted to flow cytometry, an important modern method for determining genome size and ploidy level. In conclusion it briefly describes the model species bird vetch (*Vicia cracca*) and the results of measurements of the degree of ploidy of seeds of this plant from Alaska and Japan.

Key words: ploidy, polyploidy, invasiveness, autopolyploids, allopolyploids, flow cytometry, bird vetch (*Vicia cracca*)

Obsah

1. Úvod	6
2. Vznik polyploidů a ustálení polyploidní linie	7
3. Změny na úrovni DNA po polyploidizačním procesu	9
4. Změny navazující na polyploidizaci a přispívající k invaznímu úspěchu	10
4.1 Rozšíření ekologické tolerance	11
4.2 Schopnost kompetice	13
4.3 Morfologie.....	13
4.4 Biotické vztahy.....	14
4.5 Rozmnožování.....	15
4.6 Fyziologie.....	16
5. Velikost genomu.....	18
6. Průběh invaze	19
7. Hypotézy o zvýšeném invazním úspěchu rostlin	20
7.1 „EICA“ hypotéza (The evolution of increased competitive ability hypothesis)...	20
7.2 „ERH“ (Enemy release hypothesis)	22
8. Průtoková cytometrie (flow cytometry)	23
8.1 Historie	23
8.2 Srovnávací standardy	24
8.3 Princip a hlavní součásti průtokového cytometru	24
8.4 Výhody.....	25
8.5 Nevýhody a omezení.....	25
8.6 Postup přípravy vzorku a vlastní měření.....	26
9. Víkev ptačí (<i>Vicia cracca</i>).....	26
9.1 Historie a současné znalosti o vikvi ptačí (<i>Vicia cracca</i>).....	26
9.2 Výsledky vlastního měření ploidie semen vikve ptačí.....	28
10. Závěr	30
11. Seznam použité literatury	31
12. Seznam použitých webových zdrojů	36

1. Úvod

Polyploidizace je významným faktorem při tvorbě nových druhů u eukaryot, a to zejména u rostlin. Má vliv na řadu genetických, fyziologických i morfologických vlastností, které dále ovlivňují nejen samotné přežívání, ale i rozmnožování a šíření rostlin na nová území. Polyploidizovaný stav znamená přítomnost více než dvou genomů v buňce (Soltis and Soltis, 2000). Podle Stebbinsovy (1950) klasifikace existují tři typy polyploidů. Allopolyploidi, což jsou jedinci, kteří vznikli procesem zdvojení chromozómů a hybridizace mezi dvěma nepříbuznými druhy; autopolyploidi, jedinci s několika identickými chromozómovými sadami, na jejichž vzniku se podíleli dva jedinci stejného druhu; a segmentární allopolyploidi, kteří vznikli z rodičů, jejichž chromozómové sady se lišily jen částečně. V této práci nebude třetí typ polyploidů uvažován.

Podle výsledků mnoha studií se předpokládá, že minimálně jedním cyklem některého typu polyploidizace prošlo v minulosti 60-70% druhů krytosemenných rostlin (Masterson, 1994), a to mnohokrát nezávisle v průběhu evoluce (Soltis et al., 2003). U nahosemenných rostlin se polyploidie vyskytuje jen vzácně. Naopak je velice běžná u kaprad'orostů, kde poměrně vysoká chromozómová čísla nejsou výjimkou (Grant, 1981). Ve své práci Pandit et al. (2011) shromáždili údaje o chromozómových číslech 640 celosvětově ohrožených druhů a jejich neohrožených příbuzných, 81 invazních druhů a jejich neinvazních příbuzných. Bylo zjištěno, že ohrožené druhy jsou téměř výhradně diploidní, zatímco invazní druhy jsou většinou polyploidní. Nicméně, dále zjistili, že počet chromozómů sám o sobě neměl vliv na to, jestli je rostlina invazní, nebo ohrožený druh, ale překvapivě záleželo především na poměru počtu chromozómů mezi invazním/ohroženým druhem k počtu chromozómů jejich neinvazních/neohrožených příbuzných.

Polyploidní rostliny většinou mají rozšířenou ekologickou toleranci na rozdíl od jejich diploidních předků a velmi často se vyskytují na stanovištích s více či méně odlišnými podmínkami než jejich diploidní předchůdci. Protože polyploidní deriváty mnoha druhů jsou nápadně často nacházeny mezi rostlinami označovanými jako plevely a invazní rostliny (Bennett et al., 1998), které způsobují nejen ekonomické problémy v mnoha zemích, kam byly zavlčeny z míst původního výskytu a kde ohrožují společenstva ostatních organismů ve svém okolí (Williamson, 1996) a mění celkový charakter jejich složení, byla polyploidie již mnohokrát navržena jako atribut

podporující úspěch cizích rostlin (Verlaque et al., 2002). Polyploidie může rostlinám poskytnout výhodu v raných fázích invaze, jedinec s vyšším stupněm ploidie tak může mít lepší kompetiční schopnosti nebo být lepším kolonizátorem než jeho diploidní rodiče (Soltis and Soltis, 2000). Po přenesení rostlin na nové místo nastává fáze ustalování, během které jsou postupně zvýhodňováni jedinci, kteří jsou schopni se lépe adaptovat na změněné podmínky. Takoví jedinci se mohou po čase začít šířit na jiné typy habitatů. Díky mnoha novým vlastnostem, plynoucím až už ze samotné duplikace genomu v případě autopolyploidů, nebo navíc i zvýšené heterozygotnosti u allopolyploidů, získají tedy tyto rostliny možnost v nových podmínkách přežít, usadit se, a dokonce stát se invazními a dále se šířit. K úspěšné kolonizaci nových území v mnoha případech přispívá i vícenásobné zavlečení, čímž se zvyšuje šance daného druhu na uchycení. Všechny takto nově získané vlastnosti mohou mít mnoho ekologických důsledků, které je určitě třeba dále podrobně zkoumat.

Cílem mé bakalářské práce je snaha o shrnutí dosavadních poznatků o možném vlivu polyploidie na invazní úspěch rostlin. Tato práce je zároveň teoretickým podkladem pro navazující diplomovou práci, ve které se budu zabývat modelovým druhem víkev ptačí (*Vicia cracca*), četností výskytu jeho cytotypů v sekundárním areálu druhu a testováním hypotézy, že polyploidizace je zodpovědná za invazivnost tohoto druhu v sekundárním areálu (Severní Amerika, Austrálie, Nový Zéland).

2. Vznik polyploidů a ustálení polyploidní linie

Jedinci s větším než diploidním počtem chromozómových sad, mohou vzniknout několika způsoby. Přirozeně vzniklá polyploidní rostlina může být výsledkem splynutí jedné normální a jedné neredukované gamety za vzniku triploida, nebo splynutím dvou neredukovaných gamet za vzniku tetraploidního potomka. Syntetické polyploidní rostliny lze vytvořit ze somatických buněk, pokud u nich vyvoláme tepelný šok nebo je vystavíme působení anti-mitotického jedu, jako je např. kolchicin. Obě tyto možnosti mají za následek inhibici dělicího vřeténka a vznik diploidní buňky (Levin, 2002).

Jak také vyplývá z nejnovějších analýz, mnohé druhy, včetně pro lidstvo významných plodin, jako je třeba kukuřice, které byly donedávna považovány za nesporně diploidní, jsou ve skutečnosti paleopolyploidi. Zachování kompletního duplikovaného genomu je nicméně velmi vzácné (Van de Peer et al., 2009), ve většině případů došlo u těchto rostlin během dlouhé doby jejich vývoje k procesu tzv.

diploidizace genomu (Leitch a Bennett, 1997). Obsah DNA totiž musí být upraven tak, aby spolu s celkovým objemem buňky příliš nezpomaloval proces růstu buňky a replikaci (Cavalier-Smith, 1978). Tyto úpravy zahrnují mnoho změn, a to jak rozsáhlé redukce, translokace, přestavby genomu, tak i ztráty některých celých chromozomů. Na základě těchto změn pak sekundárně diploidizované rostliny vykazovaly tradiční znaky primárně diploidních rostlin, za něž také byly považovány (Leitch a Bennett, 1997).

Po dlouhou dobu se obecně soudilo, že polyploidní varianty rostlin vznikly vždy pouze jednou. Na základě současných poznatků o zkoumaných polyploidních druzích byl ale zjištěn fakt, že mají ve většině případů vznik mnohonásobný, tedy že mohly a pravděpodobně také vznikly během evoluce vícekrát (Soltis a Soltis, 1999). Vícenásobný vznik u téhož druhu ze stejného předka může mít zajímavé biologické následky. Polyploidizace je významným zdrojem genetické rozmanitosti a ovlivňuje tvorbu nových genotypů (Soltis and Soltis, 1993).

Zdvojení genomu ve většině případů způsobí jeho nestabilitu, horší regulaci i poruchy v reprodukci. Dochází k velkým změnám, jejichž prostřednictvím je třeba nastalé problémy alespoň zmírňovat. Velmi rychle po polyploidizační události dochází ke změnám exprese mnoha genů, u allopolyploidů ve větší míře než u autopolyploidů, protože hybridizací je exprese ovlivněna mnohem více než zdvojením genomu jako takovým (Chen, 2007). Zdvojením mohou geny a genomy díky vlivu odlišné evoluce získat zcela nové, nebo rozdílné funkce (tzv. subfunkcionalizace) a tím poskytnout polyploidním jedincům biochemické a ekologické výhody, které poté významně přispívají k jejich úspěchu v přírodě (Soltis and Soltis, 2000). Mnohé z těchto změn mohou být potenciálně výhodné, často však vedou k nestabilitě (Comai, 2005) a výsledný stav může být neslučitelný s dalším přežíváním. Nově vzniklí polyploidní jedinci mají jen omezenou šanci na uchycení se v původní (diploidní) populaci (Felber, 1991).

Největší překážkou, kterou je nutno překonat, aby nedošlo k zániku neopolyploida, je „minority cytotype exclusion“, který je řízený frekvenčně závislým výběrem. Menšinový cytotyp je v nevýhodě proto, že trpí větším podílem neúspěšných procesů opylení, reprodukční znevýhodnění v dané generaci vede k většímu postižení i v příští generaci a menšinový cytotyp je z populace rychle vyloučen. Nevýhodu menšinového cytotypu lze snížit vyvinutím alternativních systémů reprodukce jako samoopylení a různé způsoby vegetativního rozmnožování (Levin, 1975).

Ráda bych zde zmínila také výsledky zajímavé práce od Fawcett et al. (2008). Autoři této studie se pomocí fylogenetických přístupů snažili najít přibližný čas nejmladších duplikačních událostí u vybraného souboru rostlin. Zjistili, že tyto události nejsou v čase rozmístěny náhodně, ale jsou seskupené kolem hranice přechodu období křída/terciér během tzv. velkého vymírání všech organismů. Jejich vysvětlení tohoto výsledku je založené na jimi formulované hypotéze, že rostliny se zdvojeným genomem měly v té době určitou selektivní výhodu a lépe se přizpůsobovaly drasticky se měnícímu prostředí, ve srovnání s diploidními rostlinami. Zároveň byla po vyhynutí mnoha rostlin rapidně snížena konkurence a nové niky se staly přístupné pro obsazení, čímž vznikly potřebné příznivé podmínky pro úspěšný rozvoj polyploidů. Druhy se zdvojeným genomem se tak mohly začít rychle šířit.

3. Změny na úrovni DNA po polyploidizačním procesu

Po prodělání polyploidizace může u rostliny nastat tzv. genomový šok (McClintock, 1984). U allopolyploidů hlavně kvůli velmi pravděpodobné možnosti neslučitelnosti genomů, u autopolyploidů i allopolyploidů pak kvůli genetické redundanci (te Beest et al., 2011), tj. situaci, kdy dva i více genů zajišťují stejnou funkci. V takovém případě je pro jedince obtížné normálně ukončit mitózu a meiózu, hrozí riziko vzniku aneuploidie v somatických buňkách a případně i v gametách (Otto, 2007). Allopolyploidizací dochází k rozsáhlejším změnám exprese genů než autopolyploidizací. To naznačuje, že hybridizace má na změnu exprese a fenotypové variace mnohem větší vliv než zdvojení genomu samo o sobě (Chen, 2007). Avšak, i samotné zdvojení může snížit riziko vyhynutí druhu a to například díky heteróznímu efektu, zvýšené odolnosti proti škodlivým mutacím a zvýšené evoluční a adaptační rychlosti. U polyploidních rostlin bývá inbrední deprese ze začátku nižší, ve srovnání s jejich diploidními rodiči, ale škodlivé alely se v průběhu času nahromadí a mohou snížit fitness a výhody získané polyploidizací (Otto, 2007). Polyploidní rostliny tedy mohou mít užitek z genové redundance a to jak (1) ze zakrytí škodlivých alel, i když tato výhoda ale nemusí být trvalá, tak i (2) díky schopnosti pozměnit funkci jedné z kopií některého genu. Po allopolyploidizaci většinou u rostliny vzniká fixovaná heterozygotita, se kterou jsou spojeny znaky jako zlepšení fitness, rychlejší růst, více biomasy a zvýšená reprodukční schopnost hybridů. Tyto vlastnosti pak vedou k možné konkurenční výhodě polyploidů nad diploidy (Comai, 2005). Polyploidizace může mít

za následek okamžitou změnu úrovně relativní genové exprese nového jedince. Některé z těchto změn jsou přechodné a nepřidávají rostlině žádnou podstatnou výhodu (Hegarty et al., 2006).

Například v práci Wang et al. (2006) se zabývali studiem regulace genů u *Arabidopsis thaliana*. U syntetických allopolyploidů, podle jejich závěrů, měla polyploidizace jen minimální vliv na expresi genů ve srovnání s hybridizací.

Polyploidie, jak je všeobecně uznáváno, je velmi významným faktorem ve vývoji rostlin. U mnoha rostlin byly nalezeny důkazy o jednom či více proběhlých cyklech polyploidizace. Po polyploidizační události často následuje rozsáhlé umlčování a odstraňování duplicitních genů. Kopie genů mohou být zapínány a vypínány tkáňově specificky v reakci na různé vnější podněty. Náchylnost k zachování nebo odstranění genu záleží na jeho příslušnosti ke konkrétní genové rodině (Adams and Wendel, 2005a). Pokud zůstanou zachovány obě kopie genů, většinou podstoupí oddělené vývojové procesy a získají rozdílné funkce, což zároveň zpětně umožňuje zachování obou kopií (Hegarty and Hiscock, 2007). Polyploidizace je zásadní pro získávání nových užitečných vlastností. Její vliv se projevuje na mnoha úrovních od molekulární až po ekologickou (Adams and Wendel, 2005a). Přežití polyploidních rostlin je prvotně dáno velkou tolerancí ke změnám jejich chromozómového čísla a restrukturalizacím celého genomu (Leitch and Leitch, 2008). Polyploidii se můžou změnit morfologické, fenologické, fyziologické znaky i ekologie rostliny. Tyto změny mohou vytrvat po dobu jedné nebo i více generací (Levin, 2002).

4. Změny navazující na polyploidizaci a přispívající k invaznímu úspěchu

Nově vytvořené rostliny si díky svým získaným vlastnostem mohou lépe poradit například s nestabilními podmínkami prostředí, využívat niku v různé míře odlišnou od niky jejich diploidních rodičů, nebo přímo vytlačit progenitorové druhy ze současného místa výskytu (Leitch and Leitch, 2008).

Ellstrand a Schierenbeck (2000) ve své práci řešili otázku, zda mají invazní rostliny vlastnosti potřebné pro úspěšnou invazi již od svého vzniku, tzv. preadaptace, nebo si invazivitu vyvíjí až po zavlečení na jiné území během procesu ustalování, což lze označit pojmem postadaptace. Z celkového shrnutí výsledků mnoha studií vyplynulo, že jsou možné obě tyto cesty vzniku invazních druhů.

Je známo mnoho případů, kdy se v sekundárně kolonizovaném areálu vyskytují pouze polyploidní rostliny od určitého druhu, ačkoliv v primárním areálu existuje více variant jeho cytotypů (te Beest et al., 2011). Příkladem je práce od Treier et al. (2009), ve které se autoři zabývali relativním posunem v četnosti a prostorovém výskytu diploidních a hexaploidních cytotypů u invazního druhu *Centaurea maculosa*. Tento druh byl zavlečen z Evropy do Severní Ameriky přibližně před 120 lety. Bylo zjištěno, že v sekundárně osídleném areálu se kromě jedné smíšené populace vyskytuje pouze tetraploidní cytotyp. Zjištěn byl i výrazný posun v klimatickém optimu u tetraploidních populací z primárního i sekundárního areálu směrem k výrazně sušším podmínkám Severní Ameriky. Podobný, ale o něco menší posun, byl nalezen mezi diploidy a tetraploidy z Evropy. Z dalších zjištěných údajů vyplývá, že v populacích diploidů převládá monokarpický životní cyklus, zatímco tetraploidní jedinci jsou převážně polykarpičtí. Obecně se polykarpie vyskytovala častěji u rostlin v sekundárním areálu. Z výsledků studie bylo zjištěno, že do Severní Ameriky byly zavlečeny diploidní i tetraploidní rostliny *Centaurea maculosa*, ale pouze tetraploidy se stali dominantním a invazním cytotypem. Úspěch tetraploidů tedy pravděpodobně vyplývá, alespoň částečně, z preadaptace evropských tetraploidních populací na sušší klima. Možné jsou i další adaptace na rozdílné podmínky sekundárního areálu.

Všechny změny, které uvedu níže, mohou (ale nemusí) zlepšit schopnost invaze u polyploidních rostlin.

4.1 Rozšíření ekologické tolerance

Není tak úplně jasné, zda je vždy pravidlem, že polyploidní rostliny mají širší ekologickou toleranci a mohou tedy tolerovat (1) větší rozsah podmínek prostředí než jejich diploidní rodiče (Stebbins, 1950), (2) extrémní ekologické nebo klimatické podmínky (větší tolerance stresu). Širší ekologická tolerance pravděpodobně umožňuje polyploidům snadněji osídlit nová stanoviště. Větší tolerance stresu by mohla polyploidním jedincům zajistit schopnost obývat širší škálu biotopů (te Beest et al., 2011).

Zvýšenou tolerancí ke stresu z různých faktorů mohou být vysvětleny i výsledky studie od Sudová et al. (2010), která prováděla očkování rostlin *Aster amellus* mykorrhizními symbionty. Nenačkované diploidní rostliny vykazovaly téměř 100% úmrtnost, zatímco hexaploidní jedinci rostli se symbionty stejně, nebo i hůře, než bez

nich. To lze vysvětlit pravděpodobně tím, že hexaploidní rostliny jsou mnohem více tolerantní k abiotickým stresům a (zároveň) udržování symbiontů by pro ně mohlo představovat zbytečnou zátěž. Jiným vysvětlením je, že kvůli pomalejším životním procesům, způsobeným polyploidizací, mají velké náklady na svou vlastní údržbu a nezbývají jim prostředky na udržení symbiontů.

Mnohokrát už bylo zjištěno, že polyploidní rostliny mívají širší geografické rozšíření než diploidní rostliny. Například studie arktických rostlin od Brochmann et al. (2004), ve které zjistili, že v oblasti Beringovy úžiny se nachází spíše diploidní rostliny, protože tato oblast nebyla tolik postižena zaledněním během poslední doby ledové, na rozdíl od oblastí u Atlantiku. Tato zjištění podporují hypotézu, že polyploidní rostliny byly úspěšnější v osidlování oblastí po odlednění, do kterých se šířily ze svých refugií. Většina arktických polyploidních druhů je samosprašných. Dále zjistili, že úroveň heterozygoty stoupá směrem k polyploidním variantám. Evoluční úspěch polyploidů v arktické oblasti může být založen na jejich fixované heterozygotitě, která působí proti inbreedingu a na genetickém driftu v obdobích dramatických změn klimatu. Ekologická amplituda druhů, stejně jako jejich úroveň heterozygoty a biochemických vlastností byla rozšířena s vyššími ploidními úrovněmi.

Na druhou stranu existují také studie dokazující opak. Ve své práci se Lowry a Lester (2006) zabývali komplexními studiemi druhů z rodu *Clarkia*. Z výsledků vyplynulo, že polyploidní rostliny mají výrazně větší areály výskytu než diploidi. Tento fakt potvrzuje domněnku, že buď genetická rozmanitost, nebo schopnost kolonizace, nebo kombinace obojího, hraje významnou roli v určení zeměpisného rozšíření cytotypu. Na základě této studie ale nebyl nalezen žádný jednoznačný důkaz pro podporu rozšíření vhodné ekologické niky. Prokazatelný rozdíl v diferenciaci niky mezi diploidy a polyploidy téhož druhu nebyl nalezen ani v práci od Martin and Husband (2009), kteří shromáždili data o podmínkách místa výskytu vždy dvou diploidních a jedné polyploidní varianty od jednoho druhu z celkem 144 domácích rodů severoamerických rostlin. Porovnávali některé proměnné faktory, které uznali jako nejdůležitější pro život rostlin, jako například zeměpisnou šířku, ve které se daný druh vyskytuje, minimální a maximální teplotu v daném místě během roku a minimální a maximální úhrn srážek v místě výskytu. Kromě malých rozdílů v minimálním ročním úhrnu srážek, kdy se polyploidi vyskytovali v mírně sušších oblastech než diploidi, z porovnání rozdílů v ostatních faktorech mezi dvojicemi diploidů a mezi diploidy

a polyploidy neplyne žádná podpora pro hypotézu o rozrůznění vhodných nik mezi cytotypy.

Podle některých studií bylo také zjištěno, že polyploidní rostliny se většinou vyskytují v sukcesních habitatech, poškozených či nějakým způsobem narušených přírodními i lidskými zásahy s více heterogenními environmentálními podmínkami než diploidní rostliny, které upřednostňují klidná klimaxová společenstva (Ehrendorfer, 1980, in te Beest, 2011).

4.2 Schopnost kompetice

Kompetice a mnoho dalších interakcí rostlin s biotickými faktory okolního prostředí mají velký vliv na úspěšné rozšiřování druhů. Je-li rostlina schopna dobře konkurovat ostatním druhům rostlin, má i lepší kolonizační schopnosti a lépe se šíří (Leger, 2008; Goergen et al., 2011). Dobré kompetiční schopnosti polyploidů oproti jejich diploidním předkům mohou být dány několika vlastnostmi. Těmi mohou být (1) rychleji klíčící semena a (2) rychle rostoucí semenáčky. To umožní rostlině vyhnout se konkurenci o světlo, případně méně zastoupené živiny (Bretagnole et al., 1995).

Jako příklad studie o tomto tématu uvedu práci na *Aster amellus* (Münzbergová, 2007), v rámci které byly pěstovány diploidní a hexaploidní rostliny získané z lokalit se současným výskytem i bez výskytu kompetičního druhu *Bromus erectus*. Vybrané rostliny byly pěstovány jak s tímto kompetičním druhem, tak bez něj. Podle výsledků nebyl zjištěn žádný prokazatelný vliv ploidní úrovně ani místa původu na zlepšení konkurenční schopnosti rostlin. U tohoto druhu tedy nelze říci, že by měli hexaploidní populace větší kompetiční schopnost než diploidní.

4.3 Morfologie

Po zvětšení obsahu DNA jasně následuje i zvětšení objemu a povrchu buňky, což je typické u polyploidních rostlin (Stebbins, 1971). Více DNA však znamená i delší čas, který je potřebný k replikaci (Bennett a Leitch, 2005, Gregory 2005). Tyto změny mohou mít různý vliv na architekturu buňky a regulační funkce (Comai, 2005) a ve výsledku může dojít k celkovému zpomalení metabolismu a růstu (Cavalier-Smith, 1978). Větší buňky se projeví na celkové velikosti dospělé rostliny, která je často větší a mohutnější než její diploidní předci. Velmi často mají tyto rostliny i větší a četnější

květy a větší semena. Větší semena mají více zásobních látek, semenáčky z takových semen rostou rychleji a jsou odolnější než semenáčky diploidních rostlin. Rychlost klíčení nemusí být ale vždy větší, v porovnání s diploidy (Bretagnolle et al., 1995). Vitalita klíčících rostlin a semenáčků přináší polyploidům konkurenční výhodu v prvních fázích procesu invaze. Na druhou stranu, příliš velká a těžká semena jsou pro polyploidní rostlinu často velkým omezením ve schopnosti šířit se na větší vzdálenosti a tím je výrazně snížen potenciál pro kolonizaci nových stanovišť (Vinogradov, 2003). Větší velikost dospělých polyploidních rostlin pak může být podstatnou výhodou během kolonizace nového území. Zvýšená konkurenční schopnost a vitalita byla navržena jako pravděpodobné vysvětlení pro invazní úspěch polyploidních rostlin (Blossey a Nötzold, 1995). V neposlední řadě je třeba zmínit, že i některé orgány polyploidních rostlin, například květy, mohou mít po polyploidizaci jiný tvar, než měly květy diploidů (Segraves and Thompson, 1999). Taková změna se může projevit například v rozdílné hloubce korunní trubky nebo velikosti korunních plátků (Oswald and Nuismer, 2007). Její charakter se pak odráží zejména ve vztazích se společenstvy opylovačů na původním i novém stanovišti (Segraves and Thompson, 1999). S rozmanitými morfologickými změnami tedy souvisí i různé biotické vztahy.

4.4 Biotické vztahy

Změna vztahů s okolními organismy může mít velký vliv na invazní úspěch polyploidů. Vztahy s hmyzem, opylovači, býložravci, půdními organismy a patogeny jsou pro rostlinu důležité v každém ohledu. Složení společenstev opylovačů se například mohou lišit v závislosti na stupni ploidie u konkrétního druhu rostliny (Thompson et al., 2004). Podle mnoha nových studií mohou změny těchto vztahů mít na rostlinu větší dopad, než se původně myslelo (te Beest et al., 2011).

Ve své práci Nuismer and Thompson (2001) ukazují, že na základě vzniku takových rozdílů mezi polyploidy a diploidy může docházet ke vzniku nových rostlinných druhů a v návaznosti na to i vznik a rozdělení druhů hmyzu a navázání nových vztahů mezi nimi. Zabývali se zkoumáním vlivu polyploidie na vztahy mezi obecně rozšířenými druhy rostlin a třemi druhy fytofágních mūr. Ve výsledku se ukázalo, že polyploidie neměla jednoznačný účinek na vztah mezi rostlinami a mūrami. Polyploidizované rostliny byly sice méně napadány jedním z druhů mūr, prokazatelně však byly stále v hojné míře napadány zbylými dvěma druhy. Je tedy možné, že

polyploidizace nedává rostlinám jednoznačnou schopnost odolnosti proti hmyzím fytofágům. Evoluční úspěch polyploidních rostlin je tedy pravděpodobně dán spíše jinými faktory, než osvobozením od hmyzích fytofágů. Podobný příklad ukázala ve své práci Münzbergová (2006), v níž se zabývala studiem vztahů mezi *Aster amellus* a býložravou můrou *Coleophora obscenella*. Sledovala (mimo jiných faktorů) vliv ploidní úrovně rostlin na rozsah jejich poškození od můry. Hexaploidní rostliny byly poškozovány ve větším rozsahu než diploidní, což mohlo být způsobeno i tím, že hexaploidi tvořili větší množství semen a byli pro můry větším lákadlem.

Kromě již zmíněné morfologie nejčastěji právě květu, mají polyploidní rostliny v mnohých případech zvýšenou odolnost vůči různým patogenům nebo hmyzím býložravcům, způsobenou vytvořením nejrůznějších obranných mechanismů proti napadení (Oswald and Nuismer, 2007).

4.5 Rozmnožování

Polyploidie je v mnoha případech spojena se vznikem apomixie, šíření druhu je tak možné i v případě, že hybridní rostlina nemá ve svém okolí dostatek vhodných partnerů pro křížení. Apomiktické druhy byly dříve považovány za slepé vývojové linie, ale dnes už víme, že se mohou za určitých podmínek vrátit k pohlavnímu rozmnožování cizosprašností (Comai, 2005). Častým jevem je i vznik kleistogamie, jak je vidět z práce od Bernström (1950), ve které zjistil, že tetraploidní populace *Lamium amplexicaule* mají větší výskyt neotevřených květů oproti diploidním.

Jak ukázali Ramsey a Schemske (1998), když v rámci své práce srovnávali výsledky mnoha studií, allopolyploidní rostliny častěji upřednostňovaly samoopylení před cizosprašností, na rozdíl od autopolyploidů, u nichž bylo zjištěno spíše cizosprašení. Přesto, že frekvence mezidruhové hybridizace byla shledána mnohem nižší u taxonů rozmnožujících se převážně samoopylováním, byla stále dost vysoká, aby autoři vyslovili domněnku, že autopolyploidie je mezi rostlinami mnohem častější, než se původně myslelo. Volba cizosprašení u autopolyploidů může být vysvětlena nutností zvýšit stupeň heterozygotnosti (Stebbins, 1971) a utlumit následky inbrední deprese, která se stupňuje opakovaným příbuzenským křížením (Ozimec and Husband, 2011). Polyploidizací často vznikají jedinci se sníženou fertilitou oproti diploidním rodičům, výjimečně jsou úplně sterilní, v mnoha případech jsou znatelné rozdíly ve fertilitě mezi samčími a samičími gametami (Bretagnolle and Thompson, 1995). Toto potvrdil ve své

práci i Husband (2004), když zjistil, že triploidní jedinci mají ve většině případů nižší, i když velmi variabilní fitness než jejich rodiče. V takových případech může docházet k rozvoji různých způsobů vegetativního rozmnožování (Levin, 1975). Mezi cytotypy často dochází k vytvoření reprodukčních bariér, z důvodů zabránění křížení mezi nimi a snížení pravděpodobnosti vyloučení menšinového cytotypu (Husband and Schemske, 2000).

Běžně pozorovaným jevem u polyploidních rostlin je také polykarpický životní cyklus a delší životnost. Díky možnosti opakované reprodukce je výrazně zvýšena produkce semen. Na druhou stranu, množství semen může lákat větší počet býložravců. Přestože v původním prostředí může být pro polyploidy poškozování od přirozených nepřátel velkou nevýhodou, právě polykarpie a dlouhověkost mohou být těmi podstatnými vlastnostmi, kvůli kterým jsou tak úspěšní po zavlečení do nového prostředí, kde se tyto nepřátelé nevyskytují (Müller-Schärer et al., 2004).

4.6 Fyziologie

Důsledkem polyploidizace a zvětšení velikosti buněk je způsobeno i mnoho fyziologických rozdílů mezi diploidy a polyploidy. V textu níže uvádím výčet možných změn spolu s odpovídajícími příklady z různých studií.

Jedním z projevů je například změna hospodaření s vodou. Může dojít ke snížení ztrát vody v důsledku snížení rychlosti transpirace. To je dáno tím, že polyploidní rostliny mají velmi často sice větší (jakožto důsledek zvětšování buněk), ale menší množství průduchů na plochu listu. Snížená rychlost transpirace byla potvrzena například v práci Chen and Tang (1945) u autotetraploidů *Hordeum vulgare*. Účinnější hospodaření s vodou a zvýšení tolerance na nedostatek vody bylo zaznamenáno i v práci Maherali et al. (2009) u *Chamerion angustifolium* a to jen u tetraploidního cytotypu. V této práci srovnávali schopnost využití vody u diploidních a tetraploidních cytotypů ve srovnání se syntetickými neotetraploidy. U neotetraploidů duplikace genomu způsobila zvětšení průduchů, ale tato změna nestačila k tomu, aby přeživali stres z nedostatku vody stejně úspěšně, jako přirození tetraploidi. Proto autoři došli k závěru, že různé fyziologické tolerance byly způsobeny pravděpodobně samotnou duplikací, ale zvýšená tolerance na nedostatek vody u tetraploidů se vyvinula až později. Účinnost využívání vody bezesporu souvisí s adaptacemi rostlin na suché podmínky a je jasné, že takové adaptace mohou mít vliv na invazní úspěch druhů.

S tímto tématem souvisí i pomalejší výměna CO₂. U polyploidních rostlin je v souvislosti s tím očekávána také snížená schopnost fotosyntézy oproti diploidům (Levin, 2002). Toto očekávání potvrdili Chen and Tang (1945) v již zmíněné práci u tetraploidů *Hordeum vulgare*. Snížení účinnosti fotosyntézy, jakožto velmi důležité funkce pro život rostlin, může negativně ovlivnit invazní úspěch polyploidů (te Beest et al., 2011). Ne vždy je ale snížení rychlosti fotosyntézy u polyploidních rostlin pravidlem. V práci od Hull-Sanders et al. (2009) bylo srovnáváno 20 populací *Solidago gigantea* z Evropy (sekundární areál) a 10 populací z USA (primární areál). Diploidi a tetraploidi se vyskytovali na obou kontinentech, hexaploidi pouze v USA. Autoři měřili rychlost fotosyntézy a vodivost průduchů u všech genotypů. Pouze u hexaploidů byla zjištěna zvýšená rychlost fotosyntézy a lepší vodivost průduchů, na rozdíl od diploidů a tetraploidů. Obojí je podle autorů ovlivněno ploidií, ne však původem z konkrétního kontinentu.

Úspěch invaze je také ovlivňován mírou tolerance ke stresu od různých činitelů. Zde se jeví jako vhodné příklady z poměrně nedávné doby několik studií. Například práce Schlaepfer et al. (2010) s druhem *Solidago gigantea*, v níž byly prováděny různé testy na rostlinách z populací diploidů a tetraploidů ze Severní Ameriky a tetraploidů z Evropy. U tetraploidních variant byl prokázán lepší prospěch na živinami chudých, vápnatých půdách než u diploidů, což jim, mimo jiných faktorů, může přinášet výhodu při kolonizaci. U autotetraploidů *Brassica rapa*, pocházejících z Číny, byla v práci Meng et al. (2011) zaznamenána zvýšená tolerance vysoké salinity v půdě, na rozdíl od diploidů, kteří měli horší klíčivost, byli celkově menší a měli méně rozsáhlý kořenový systém. Polyploidní rostliny mohou také vykazovat zvýšení tolerance k chladu, jak prokázali Liu et al. (2011) ve své studii u tetraploidů *Dendranthema nankingense*, když opakovaně vystavili 10 diploidních a 10 tetraploidních rostlin působení nízkých teplot. V tomto experimentu ale bylo také zjištěno, že tetraploidi byli zároveň mnohem méně tolerantní k působení vysokých teplot. Naopak, sníženou toleranci k nízkým teplotám prokázal Tyler et al. (1987) u semenáčků tetraploidů *Festuca pratensis* var. *apennina* oproti diploidním rostlinám *Festuca pratensis*. Při hledání vysvětlení invazivity u populací tetraploidů *Senecio inaequidens* v Evropě, které byly zavlečeny z několika míst v Africe, zjistili ve své práci Lachmuth et al. (2010), že některé tetraploidní populace v Africe vykazují mnohé environmentální preadaptace na toleranci k chladu oproti diploidním populacím. Z toho plyne, že posun nebo rozšíření klimatické niky je významným mechanismem preadaptace u tetraploidů tohoto druhu na nižší zimní

teploty v Evropě. Po zavlečení vícera cytotypů do Evropy dala tato preadaptace výhodu tetraploidům a napomohla jim při úspěšné kolonizaci tohoto kontinentu.

Na základě potenciální zvýšené tolerance k chladu u polyploidních cytotypů, Grant (1981) navrhl, že polyploidní rostliny obecně, by se mohly vyskytovat ve vyšších nadmořských výškách i zeměpisných šířkách častěji než diploidní cytotypy. Toto tvrzení je opravdu podpořeno studií od Lafuma et al. (2003), ve které byly zkoumány opět rostliny *Senecio inaequidens* z Afriky, Mexika a Evropy. Tetraploidní populace se podle výsledků této práce vyskytovali v průměru ve vyšších nadmořských výškách než populace diploidů. Smíšené populace byly nalézány ve středních nadmořských výškách v místech překrývání diploidních a tetraploidních. Takovéto výškové rozdělení pravděpodobně odráží rozdílné ekologické požadavky těchto dvou cytotypů s tím, že tetraploidní rostliny jsou schopny více tolerovat environmentální stres.

V důsledku polyploidizace může dojít také ke změně obsahu a/nebo kvality sekundárních metabolitů. Výzkumy v této oblasti jsou zaměřené především na rostliny aromatické a farmaceuticky využitelné. Ve studii na *Solanum khasianum* (Bhatt and Heble, 1978, in te Beest et al., 2011) byl u autopolyploidů zjištěn zvýšený obsah alkaloidů na jednotku hmotnosti. Dále pak u polyploidních variant např. *Vetiveria zizanioides* (Lavania, 1988, in te Beest et al., 2011) byly zaznamenány zvýšené hladiny terpenů a zvýšená koncentrace oleje. Naopak v již výše uvedené práci Hull-Sanders et al. (2009) při zkoumání cytotypů *Solidago gigantea* zjistili, že polyploidní invazní cytotypy v Evropě (diploidi i tetraploidi) mají menší koncentraci několika druhů terpenů ve srovnání s neinvazními rostlinami z původního místa výskytu (USA). Také tyto změny mohou mít vliv na vztahy rostlin s ostatními organismy a ovlivnit úspěch polyploidů při kolonizaci.

5. Velikost genomu

Celkové množství DNA, tedy hodnota, která se označuje C a znamená celkový počet chromozomů, stoupá se zvyšující se ploidií. Tzv. monoploidní velikost genomu C_X , znamená průměrný obsah monoploidní chromozomové sady. V mnoha případech ale dochází u polyploidů k tzv. zeštíhlování genomu neboli diploidizaci. To znamená, že zvyšování hodnoty C se stoupající ploidií není vždy úměrné a dochází k poklesu hodnoty C_X (Leitch a Bennett, 2004). Konečné důsledky na celkovou velikost genomu závisí na poměru stupně ploidiie, C a C_X hodnot (te Beest et al., 2011). Zeštíhlování je

výhodné v tom smyslu, že rostliny s velkými genomy jsou velmi omezené v mnoha důležitých funkčních vlastnostech a ekologických možnostech (Knight et al., 2005). Takové rostliny například tvoří příliš velká semena, čímž je omezena jejich schopnost šíření a je tak snížen jejich potenciál kolonizovat nová území (te Beest et al., 2011). Jak píše Vinogradov (2003), velké množství DNA tak může zvýšit pravděpodobnost vyhynutí. Toto tvrzení podložil výsledkem ze srovnání údajů o mnoha druzích rostlin, na jejichž základě zjistil, že řada ohrožených druhů má v průměru větší genom než většina jejich běžně se vyskytujících příbuzných.

Naopak, malé množství DNA je nalézáno u rostlin označovaných jako plevely (Bennett et al., 1998). Hypotézu, že velký genom by mohl bránit rostlině využívat invazivitu jako životní strategii, podporují i zjištění v práci Garcia et al. (2008). V ní bylo mimo jiné zjištěno, že tři invazní druhy rodu *Artemisia* mají výrazně menší genom než jiné neinvazní příbuzné podrody. Je tedy pravděpodobné, že invazní charakter rostlin úzce souvisí s nízkým obsahem DNA. Na základě předpokladu, že invazní druhy budou mít nižší průměrnou hodnotu 2C, založili svoji práci i Gallagher et al. (2011), v rámci které srovnávali dostupné údaje o velikosti genomu 92 druhů z rodu *Acacia*. Z vyhodnocení všech dat ale nebyly zjištěny žádné významné rozdíly mezi průměrnou velikostí genomu invazních a neinvazních druhů, nelišily se dokonce ani průměrnou velikostí semen.

O opaku pro změnu svědčí výsledky od Lavergne et al. (2010), kteří ve své práci měřili velikost genomu u více než 200 invazních (v Severní Americe) a neinvazních (v Evropě) genotypů populací chřastice rákosovité (*Phalaris arundinacea*). V Severní Americe se vyskytují diploidizovaní tetraploidi, hybridy evropských druhů. Ukázalo se, že invazní genotypy měly v průměru menší genomy než jejich evropské zdrojové populace. Menší velikost genomu mohla být upřednostňována v přirozeném výběru a podpořit jejich invazní potenciál, pravděpodobně i v souvislosti s hybridizací, díky níž severoamerické rostliny dříve klíčily a rostly rychleji.

6. Průběh invaze

Průběh procesu invaze nepůvodních rostlin na novém stanovišti je možné popsat jako několik typických po sobě následujících fází. Podle Richardson and Pyšek (2006) tento proces začíná introdukcí neboli zavlečením nepůvodního druhu do nového prostředí. Tato fáze je ve valné většině případů zprostředkována lidmi. Další fází je

uchycení druhu, který pak lze označit jako náhodně se vyskytující neboli „příležitostný“. Takové druhy se vyznačují tím, že mohou v dané oblasti prosperovat a po určitou dobu přežívat, jejich dlouhodobější udržení ale závisí na opakovaném zavlečení. Rostliny, které jsou schopné se úspěšně množit, jejich potomstvo je fertillní a udržují své populace bez pomoci člověka po dobu delší, než 10 let, můžeme pak označit jako naturalizované. V poslední fázi se daný druh může stát invazním. To znamená, že vytváří velké populace a v krajině se s úspěchem šíří i na velké vzdálenosti. Mezi fází exponenciálního růstu, tedy naturalizací druhu a začátkem invaze, je podstatná doba zdržení, tzv. „lag fáze“. Vliv délky trvání této fáze předurčuje svým způsobem druh k většímu či menšímu úspěchu. Delší čas poskytuje více příležitostí pro přizpůsobení se novým podmínkám, nalezení vhodných symbiontů, nebo dočkání se takových klimatických změn a jiných náhodných událostí v daném místě, které mohou podpořit či přímo vyvolat invazi toho kterého druhu. S prodlužujícím se časem od chvíle zavlečení tedy vzrůstá pravděpodobnost invazivnosti. Odhad invazního potenciálu konkrétního nepůvodního druhu je nicméně velmi obtížný, většinou totiž není možné zjistit, kdy přesně byl zavlečen.

Se snahou o přibližné určení zastoupení potenciálně nebezpečných zavlečených druhů souvisí i pravidlo deseti neboli „tens rule“. To bylo navrženo jako způsob pro kvantitativní odhad vysazených nepůvodních druhů, které se pravděpodobně stanou invazními (Williamson and Fitter, 1996, in Richardson and Pyšek, 2006). Hlavním předpokladem tohoto pravidla, jak je vidět z jeho názvu, je, že 10% zavlečených druhů se v novém místě stane „příležitostnými“ (definice viz výše), z tohoto počtu se 10% stane naturalizovanými a z nich opět jen 10% bude (potenciálně) invazní (Richardson and Pyšek, 2006).

7. Hypotézy o zvýšeném invazním úspěchu rostlin

7.1 „EICA“ hypotéza (The evolution of increased competitive ability hypothesis)

Tato hypotéza byla poprvé navržena r. 1955 od Blossey et Nötzold. Je to snaha o způsob vysvětlení úspěchu nepůvodních, zejména rostlinných druhů. Předpokládá výběr, který upřednostňuje genotypy s lepší konkurenční schopností (Müller and Martens, 2005).

První myšlenkou je oprostění rostliny od nepřátel na původním místě. Je-li nedostatek přirozených predátorů (např. specializovaných býložravců) na novém stanovišti, soubor vlastností rostliny umožňuje využít prostředky, které původně vynakládala na obranné mechanismy, ke svému růstu a rozmnožování. Zavlečené rostliny pak mohou tvořit více biomasy než jedinci z primárního areálu, mají více potomků a větší životaschopnost. Tato hypotéza byla mnohokrát znovu testována s různými modelovými druhy rostlin.

Ve své práci Bossdorf et al. (2005) shrnuli výsledky mnoha studií (nejen) o fenotypových změnách invazních polyploidních variant různých druhů rostlin a došli k závěru, že polyploidní rostliny v mnoha případech opravdu snížily svoji odolnost a investovaly do růstu. Avšak na rozdíl od předpokladu této hypotézy, málokdy se obě tyto skutečnosti vyskytly v rámci jedné populace zároveň. Na předpoklady „EICA“ hypotézy byly v práci Meyer et al. (2005) prováděny například testy s oblíbeným modelovým druhem *Solidago gigantea* s jedinci získanými z lokalit původního výskytu v Severní Americe a z několika míst sekundárně kolonizované Evropy. Vybrané rostliny byly pěstovány po dobu dvou let. Jedinci z nově kolonizovaného areálu měli sníženou odolnost proti poškozování od hmyzích býložravců. Nebylo ale potvrzeno, že by prospívali lépe než rostliny z USA, pokud byli pěstováni bez přítomnosti těchto býložravců.

Hypotéza dále předpokládá, že od chvíle zavlečení rostliny na nové místo musí uplynout určitá doba, než druh začne normálně prospívat ve změněných podmínkách daného prostředí, během které postupně roste jeho konkurenční schopnost a další časový úsek, než se druh začne šířit v takové míře, že ho lze považovat za invazní. Velmi důležitým krokem během tohoto časového úseku je právě uvolnění rostliny od stresu z různých faktorů působících v původním místě výskytu a již zmíněné přerozdělení zdrojů a jejich využití.

Naopak mnohé studie tyto domněnky o vlastnostech invazních jedinců vyvrátily. Podle výsledků těchto studií bylo zjištěno, že v novém prostředí došlo u rostlin naopak k podstatnému nárůstu investic do obrany bez poklesu plodnosti a růstu. Příkladem je práce na *Lepidium draba* od Müller and Martens (2005), v níž byly zkoumány rostliny z 11 populací v původním areálu výskytu (Evropa), a 10 populací ze stanovišť kolonizovaného areálu (Severní Amerika). Z výsledků je patrné, že se populace vzrůstem nijak průkazně nelišily a invazní polyploidní jedinci ze Severní Ameriky navíc obsahovali mnohem více obranných látek než jejich diploidní neinvazní varianty.

V souvislosti s touto hypotézou jsou často prováděny i tzv. experimenty přímé konkurence. Jedná se o pěstování rostlin z původní a invazí populace společně. Například test s rostlinami *Alliaria petiolata* přinesl překvapivé výsledky. Když rostly jedinci z primárního a sekundárního areálu odděleně, nevykazovaly žádné rozdíly. Pokud byly cytotypy pěstovány společně, původní diploidní varianty této rostliny z primárního areálu byly schopné konkurenčně potlačit invazní jedince ze sekundárního areálu. Vysvětlení spočívá pravděpodobně v tom, že invazní rostliny si vyvinuly vyšší fitness v introdukovaných oblastech za cenu ztrát některých obranných mechanismů a růstových aspektů a proto neobstály v konkurenci s rostlinami, které je stále měly (Bossdorf et al., 2004). Dalším příkladem z práce Zou et al. (2008) je pěstování semenáčků *Sapium sebiferum* z původního areálu (Čína) a z nově kolonizovaného území (USA). Tento druh byl na konci 18. století zavlečen z Asie, původně pro zemědělské účely. V současné době je velmi nežádoucím invazním druhem v USA. Vybrané rostliny z obou areálů byly pěstovány společně, zároveň ještě v přítomnosti přirozených býložravců, vyskytujících se v Číně. Rostliny z USA rostly rychleji, byly celkově větší, ale vykazovaly mnohem rozsáhlejší poškození listů, dané menší investicí do obrany proti býložravcům. Přesto přežívaly, což by mohlo být dáno zvýšenou tolerancí ke stresu z okusu.

Z uvedených příkladů lze vyvodit, že „EICA“ hypotéza platí jen za určitých okolností, výsledky záleží na konkrétním druhu rostliny a míře speciace původních nepřátel v domácím prostředí (Alpert, 2006). Při ověřování této hypotézy je třeba klást větší důraz na prozkoumání vlastností kompetice a odolnosti a samozřejmě zohlednit další faktory (Bossdorf et al., 2005). Z těchto testů tedy nemohou být odvozovány obecně platné závěry. Podle hlavních domněnek „EICA“ hypotézy nelze, jak vidíme, spolehlivě předpovědět, zda se ten který druh stane invazním, je-li z místa svého původního výskytu přenesen jinam.

7.2 „ERH“ (Enemy release hypothesis)

Hypotéza úniku před nepřáteli je jedna z klíčových hypotéz, která se snaží o vysvětlení invazní úspěšnosti mnoha introdukovaných druhů. Říká, že „přestěhováním“ na nové místo se druh oprostí od svých přirozených nepřátel a v oblasti nového výskytu mu tak nic nebrání v úspěšné expanzi. Tímto způsobem může rostlina uniknout před specializovanými predátory a hlavně parazity. Zároveň se

předpokládá, že predátoři - generalisté - na novém území preferují tamní původní druhy. Za zmínku ale stojí i názor, že parazité v tomto případě nejsou podstatní, při přemísťování si jedinci pravděpodobně své parazity většinou nesou s sebou. Tyto rostliny pak působí jako přenašeči různých onemocnění, vůči kterým jsou na rozdíl od původních druhů nového území sami imunní. Tato situace může podpořit jejich kompetiční schopnost a nepřímo tak úspěšně redukuje populace svých konkurentů. Parazité z původního místa výskytu invazních druhů jsou často využíváni při biologických kontrolách k regulaci výskytu těchto nežádoucích druhů rostlin. Změněná ploidie nicméně může způsobit problémy s přesným určením správného kontrolního organismu kvůli jejímu vlivu na vztahy rostlin s hmyzem (Müller-Schärer and Schaffner, 2008).

Příkladem na testování této hypotézy je práce od Vilà et al. (2004). V ní se zabývali srovnáváním míry poškození od hmyzích býložravců u rostlin původem z Evropy a zavlečenými invazními rostlinami ze Severní Ameriky. Rostliny z druhotně osídleného areálu vykazovaly méně rozsáhlá poškození, ale byly v průměru menšího vzrůstu než rostliny z Evropy.

8. Průtoková cytometrie (flow cytometry)

Průtoková cytometrie je průlomová moderní metoda používaná v současnosti k výzkumům v mnoha biologických oborech. Kromě stanovení obsahu jaderné DNA a určení ploidie se využívá například i pro analýzu buněčného cyklu, studium genové exprese, počítání a určení typu krevních buněk apod. Veškeré uvedené informace o průtokové cytometrii pocházejí ze článku s názvem „Co se skrývá za rostlinnou průtokovou cytometrií“ od doc. RNDr. Jana Sudy Ph.D. (Web 2).

8.1 Historie

Z počátku byla průtoková cytometrie vyvinuta hlavně pro rychlé počítání a analýzu krevních buněk v lékařských oborech. Postupně docházelo k pronikání cytometrie i do dalších oblastí biologie a od počátku 80. let je využívána ke studiu rostlin. Bylo však nutné vyřešit zásadní problém. Většina buněk rostlin je totiž vázána do pevných pletiv, pro průtokovou cytometrii je ale potřeba získat suspenzi izolovaných částic. Jedním řešením je buněčné stěny rozpouštět pomocí enzymů. Rostlinné buňky

ale obsahují také zásobní částice (např. škrob) a často i vysoký obsah fluorochromů (např. chlorofylu), které negativně ovlivňují kvalitu analýz. Proto nejpoužívanějším postupem je dnes rychlá metoda mechanické izolace jader v hypotonickém roztoku.

8.2 Srovnávací standardy

Pro stanovení ploidie konkrétního druhu či odhad jeho absolutního množství DNA se používají standardy (= materiál s již určeným počtem chromozómů nebo u kterého už známe velikost genomu). Podle poměru intenzity fluorescence zkoumaného vzorku a standardu potom lze posuzovat vlastnosti neznámého materiálu. Dnes se používá tzv. interní standardizace. Ta spočívá v tom, že analyzovaný materiál je v přiměřeném poměru smíchán se standardem a oba vzorky jsou homogenizovány, barveny a měřeny zároveň. Přesnost výsledků může být snížena příliš velkým rozdílem v poměru fluorescence standardu a vzorku. Velikosti jaderných genomů cévnatých rostlin jsou velmi rozdílné, proto je třeba mít na výběr z velkého počtu známých standardů.

8.3 Princip a hlavní součásti průtokového cytometru

Měření se uskutečňují za pohybu částic a jsou zaznamenávány jejich optické vlastnosti, nejčastěji intenzita fluorescence. Před měřením je potřeba na dvoušroubovici DNA navázat fluorescenční barvivo (např. DAPI). Tato látka se musí vázat specificky (aby nebarvila i jiné orgány) a kvantitativně (množství navázaného barviva musí být přímo úměrné množství DNA). Poté je fluorescenční barvivo ozářeno světlem vhodné vlnové délky a dojde k jeho excitaci. Tento stav je však nestabilní a elektrony se vrací zpět do původní pozice. Při tomto přechodu dochází k uvolnění tepelné a světelné energie = fluorescence. Část energie se ztrácí ve formě tepla, proto má vyzářené světlo delší vlnovou délku než původní excitační záření. Pomocí filtrů lze obě záření oddělit a fluorescenci změřit.

Jádro přístroje tvoří průtoková komůrka. V ní se seřazují analyzované částice tak, aby se pohybovaly za sebou v úzkém svazku. Suspenze částic je vedena do komůrky, kterou proudí unášecí kapalina (např. destilovaná voda). Ta je přiváděna pod větším tlakem než vlastní suspenze částic. Ty jsou tak udržovány v úzké centrální části

proudu, jsou uspořádány jedna za druhou a jejich proud prochází ohniskem zdroje excitačního záření.

Využívány jsou dva zdroje excitačního světla - lasery a vysokotlaké rtuťové výbojky. Lasery mají vysoký výkon a monochromaticnost vyzařovaného světla, proto není nutné používat regulační optické filtry. Rtuťové výbojky jsou levnější, jednodušší na obsluhu a poskytují záření v poměrně širokém rozsahu vlnových délek. Jejich životnost je ale výrazně menší a jsou navíc potřeba další regulační prvky pro nastavení požadované vlnové délky a intenzity světla.

Fluorescence částic je poté sbírána souborem filtrů a zrcadel a převáděna na pulsy elektrického proudu. Výsledky jsou uchovány ve formě histogramu zobrazujícího relativní intenzitu fluorescence izolovaných částic.

8.4 Výhody

Hlavní předností průtokové cytometrie je v první řadě jednoduchá příprava vzorků pro analýzu a potřeba jen velmi malého množství studovaného materiálu, cca 20 mg. Proto je také tato metoda považována za relativně nedestruktivní pro zkoumaný organismus. Vzhledem k potřebě nepatrného množství pletiva může být tentýž jedinec analyzován i opakovaně a nehrozí jeho úplný zánik. Tato skutečnost otevírá možnost studia rostlin v časných fázích ontogenetického vývoje nebo podrobná sledování vzácných, ohrožených a mizejících taxonů. Příprava suspenze jader pro měření průtokovým cytometrem je v současnosti otázkou několika málo minut. Samotný průběh analýzy vzorku pomocí průtokové cytometrie je velmi rychlý a snadný. Dále nabízí možnosti analyzovat širokou škálu různých pletiv a lze ji použít nezávisle na fázi životního cyklu, ve které se buňky nacházejí. V neposlední řadě je třeba zmínit i nízké finanční náklady na provoz průtokového cytometru.

8.5 Nevýhody a omezení

Největším omezením je nutnost ve většině případů použít čerstvý materiál. FCM proto nemůže být využívána při terénních studiích, analýzy musí být provedeny v krátké době po získání rostlinného materiálu. Kvalitu histogramů ovlivňují i některé sekundární metabolity, např. taniny, které mohou mít negativní vliv na navázání fluorescenčního barviva na dvoušroubovici DNA. Nepříznivě působí i organické

kyseliny v pletivech mnohých rostlin s CAM metabolismem a slizovité látky v listech. U nich se problémy projeví hned při jejich sekání a filtraci, vzniká totiž viskózní směs věznící jádra, která těžko procházejí přes póry filtru a tvoří shluky.

8.6 Postup přípravy vzorku a vlastní měření

Z vybrané rostliny je třeba oddělit část čerstvého neporušeného pletiva o velikosti cca 0,5-1 cm². Ta se vloží do Petriho misky s hypotonickým izolačním roztokem a pomocí ostré žiletky nebo skalpelu je rozsekána. Poté se materiál obarví fluorescenčním barvivem. Vzorek je potřeba nechat důkladně obarvit a teprve po určité době vzniklou suspenzi přefiltrujeme, abychom odstranili zbytky pletiv. Roztok izolovaných jader je připraven k měření. Vlastní měření fluorescence probíhá velmi rychle. Za krátkou dobu tak snadno získáme informaci o množství DNA, stupni ploidie či dalších potřebných charakteristikách zkoumané rostliny.

Jádra získáváme většinou z listových pletiv, i když lze využít i kořeny, lodyhy, korunní a kališní lístky nebo semena. Nejlepší výsledky poskytují listy mladé, které obsahují nízkou hladinu sekundárních metabolitů. Nevhodné jsou ale listy příliš mladé, které vykazují vysokou mitotickou aktivitu a velká část jader bývá v G2 nebo S fázi, čímž vzrůstá riziko chybné interpretace výsledků.

9. Vikev ptačí (*Vicia cracca*)

Již v úvodu jsem se zmínila o vikvi ptačí (*Vicia cracca*), kterou se budu zabývat v rámci své budoucí diplomové práce. Proto bych zde ráda stručně shrnula dostupné informace o tomto druhu v souvislosti s polyploidií a invazivitou. Na závěr uvedu pro ukázkou výsledky měření pomocí průtokového cytometru stupně ploidie semen získaných z Aljašky a z Japonska.

9.1 Historie a současné znalosti o vikvi ptačí (*Vicia cracca*)

Vikev ptačí je vytrvalý druh patřící do čeledi bobovitých (*Fabaceae*). Je to popínavá rostlina s dlouhými lodyhami a zpeřenými listy. Má zvonkovité oboupohlavné květy tvořící jednostranný hrozen. Roste na širokém spektru stanovišť, vyskytuje se na písčitéch až jílovitých půdách, snáší slunná, stinná, teplá, chladná, suchá i zamokřená

místa. Má dobrou konkurenční schopnost a tradičně zabírá vrchní patro porostu. Začíná kvést koncem jara, semena zrají od července do září (Web 1).

Původní rozšíření tohoto druhu je v Evropě, Asii a na Japonských ostrovech. Druhotně byla zavlečena pravděpodobně na přelomu 19. a 20. století do Severní Ameriky, Austrálie a na Nový Zéland (Rousi 1960).

V textu od Rousi (1960) jsou shrnuty počáteční znalosti o chromozómovém čísle vikve ptačí, pocházející od různých autorů v rámci několika desítek let. První údaj pocházející z roku 1914 říká, že za základní diploidní chromozómové číslo by mělo být považováno č. 12. O několik let později ale byly nalezeny rostliny, jejichž základní diploidní číslo bylo 14. Později se našly i rostliny, které vykazovaly toto číslo mnohem vyšší a to 28. Ty už byly označeny za tetraploidy. Zároveň několik biologů našlo i jedince s 27 a 24 chromozómy. V této práci Rousi srovnával rostliny z evropských, asijských a severoamerických botanických zahrad s volně rostoucími populacemi. Nalezl rostliny diploidní $2n=14$, tetraploidní $2n=28$ a několik hybridních s 12, 13, 21, 27 a 30 chromozómy. Podle výsledků studování geografického rozšíření byly tetraploidní rostliny častější v oblastech dříve zaledněných, tedy úspěšněji osidlovaly území po poslední deglaciaci. Pravděpodobně, podle této studie, také jako jediný byl tetraploidní cytotyp zavlečen do Severní Ameriky a na Nový Zéland. Naopak nebyl nalezen v Asii.

Co se týká současných poznatků o výskytu vikve ptačí, Trávníček et al. (2010) ve své práci zjišťovali rozmístění cytotypů této rostliny v rámci střední Evropy. Shromáždili jedince z 257 populací z České Republiky, Německa, Rakouska a Slovenska a pomocí průtokové cytometrie stanovili jejich ploidiu. Z výsledků zjistili, že tetraploidi se vyskytují převážně v západní části sledovaného území, zatímco diploidi jsou rozšířeni především na východě. Zajímavostí je kontaktní zóna obou cytotypů, která téměř kopíruje hranici mezi ČR a SR. Společný výskyt diploidů a tetraploidů v jedné populaci byl nalezen jen v několika případech právě v blízkosti této zóny. Velmi vzácně našli i triploidní jedince.

Mým cílem v diplomové práci bude postupné shromažďování a doplňování údajů o stupni ploidiu a případně geografickém rozšíření cytotypů (pokud se nepotvrdí předpoklad, že tam byli zavlečeni pouze tetraploidi) vikve ptačí v sekundárním areálu, především v Severní Americe.

9.2 Výsledky vlastního měření ploidie semen vikve ptačí

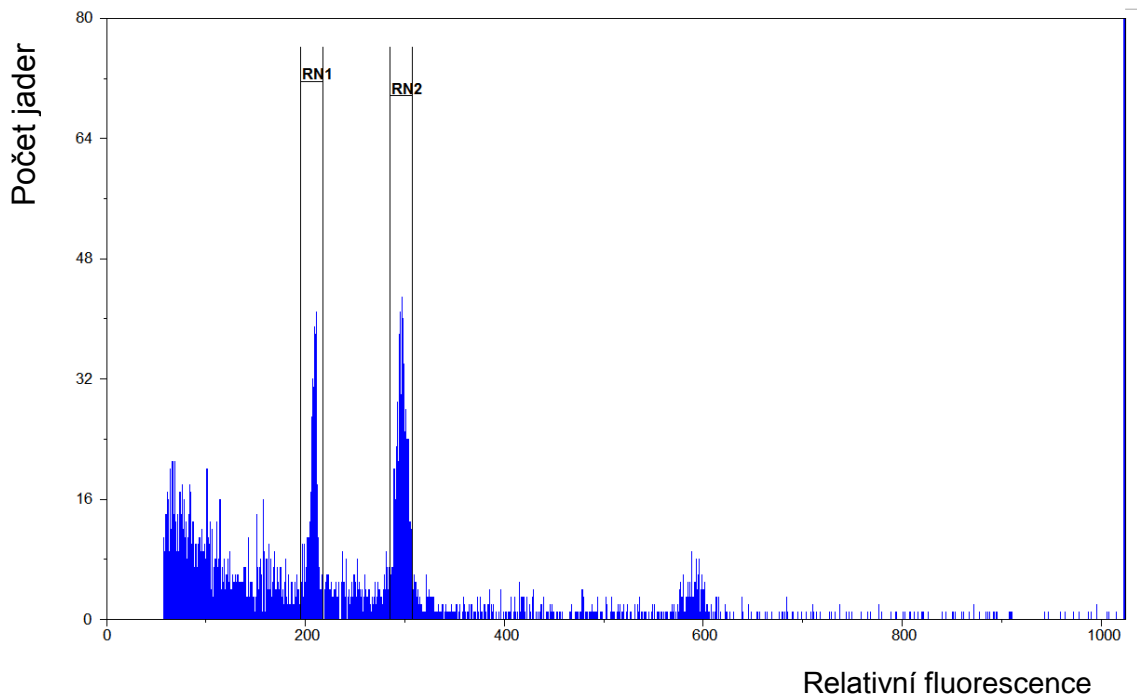
Pro podporu hypotézy, že do Severní Ameriky byl zavlečen, nebo se alespoň stal majoritním, pouze tetraploidní cytotyp, jsem provedla měření pomocí průtokového cytometru u pěti vzorků semen vikve ptačí z Aljašky (sekundární areál výskytu) a jednoho vzorku z Japonska (primární areál výskytu). Jako standard byl použit hrách setý (*Pisum sativum*). Níže je přiložen vzorový histogram (obrázek 9.1), z něhož lze vyčíst, že semena z Aljašky byla tetraploidní, jak jsme předpokládali. Histogramy ostatních vzorků z Aljašky zde uvedeny nejsou, protože vykazují tentýž výsledek. U šestého vzorku získaného z Japonska nebylo možné ploidiu určit, pravděpodobně se totiž jedná o jiný druh vikve (obrázek 9.2). V tabulce 9.1 jsou shrnuty hodnoty poměru relativní fluorescence vzorků vikve ptačí a hrachu setého standardu. V tabulce 9.2 jsou pak pro srovnání uvedeny standardní hodnoty přirozených diploidů a tetraploidů u druhu vikev ptačí z Evropy.

Tabulka 9.1 - Poměry relativní fluorescence vzorků vikve ptačí (*Vicia cracca*) z Aljašky (A 1-5) a z Japonska (J) ke standardu (hrách setý, *Pisum sativum*). Jako fluorescenční barvivo byl použit DAPI. Datum měření 30. 7. 2012.

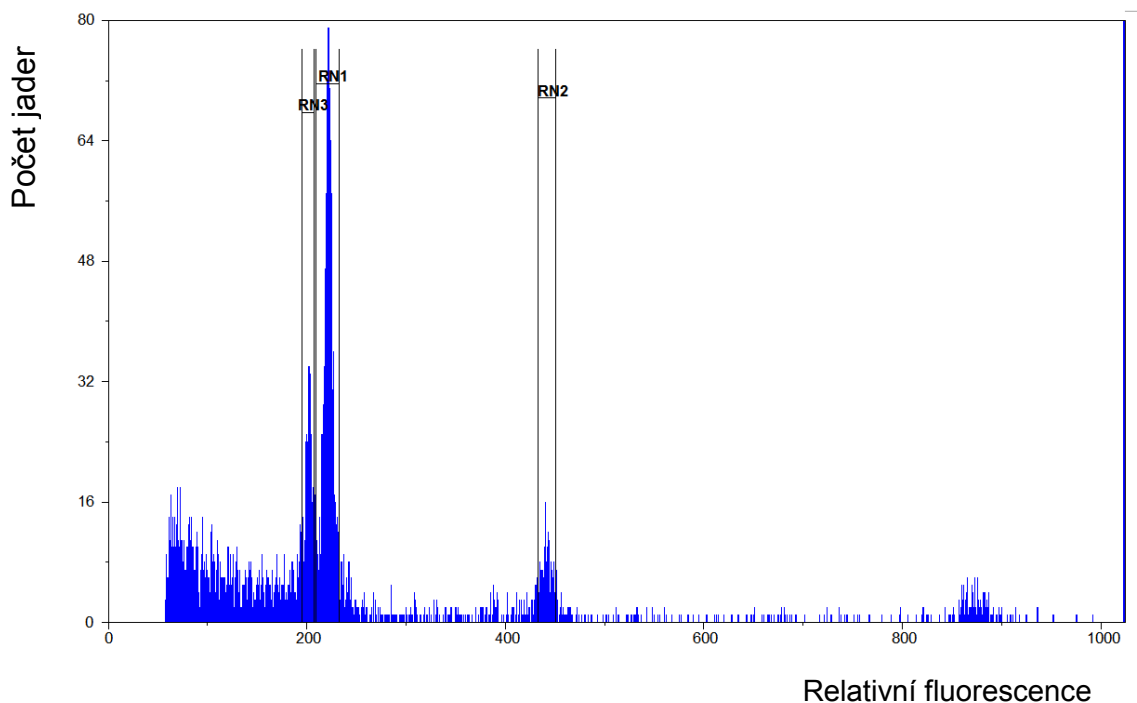
Název vzorku	Poměr relativní fluorescence vzorku a standardu	CV vzorku [%]	CV standardu [%]	Ploidie
A 1	1,459	2,75	1,65	4x
A 2	1,424	2,12	1,56	4x
A 3	1,426	2,14	1,52	4x
A 4	1,436	2,60	2,68	4x
A 5	1,442	2,72	1,33	4x
J	0,914	2,09	1,78	?

Tabulka 9.2 - Shrnutí poměrů relativní fluorescence cytotypů vikve ptačí (*Vicia cracca*) měřených za použití DAPI a *Pisum sativum* cv. Ctirad jako standardu. Data jsou převzata z diplomové práce Mgr. Anežky Eliášové. S.E. = střední chyba průměru.

Ploidie	Relativní fluorescence (Mean ± S.E.)	Rozsah poměru relativní fluorescence vzorku a standardu
2x	0,710 ± 0,008	0,335-0,686
3x	1,071 ± 0,005	1,062-1,076
4x	1,415 ± 0,017	1,345-1,456



Obrázek 9.1 - Zobrazení hodnot relativní fluorescence tetraploida vikve ptačí (*Vicia cracca*) - RN2 a hrachu setého (*Pisum sativum*) jako standardu - RN1.



Obrázek 9.1 - Zobrazení hodnot relativní fluorescence vzorku semen z Japonska (RN3) a standardu (*Pisum sativum*, RN1). Pravděpodobně se nejedná o vikev ptačí (*Vicia cracca*). RN2 může být fluorescence buněk endospermu semen ze vzorku.

10. Závěr

Z výše uvedených výsledků mnoha studií je vidět, že nikdy nemůžeme s jistotou říci, zda se daný druh stane invazním, ani jestli je invazní charakter zavlečeného druhu dán především polyploidizací a jejími různorodými důsledky, které se projevují na mnoha úrovních. Rozhodně není pravidlem, že polyploidní cytotyp od kteréhokoliv rostlinného druhu, je-li zavlečen z původního stanoviště na jiné místo, bude v tomto místě úspěšnější a rozšířenější než diploidní cytotyp. Přesto je mnohými výzkumy dokázáno, že genetické změny a jejich projevy na fenotypu, chemizmu a biotických i abiotických vztazích polyploidizovaných rostlin bezesporu hrají svou roli v rostlinných invazích. Evoluční úspěch polyploidů je s velkou pravděpodobností dán právě možností rychle vytvářet rozmanité odpovědi na nestálé a měnící se podmínky prostředí v důsledku zvýšeného množství genů. Díky této flexibilitě mohou mít oproti diploidům výhodu při osidlování nových nik a zvýšenou pravděpodobnost, že se v novém prostředí uchytí a ustálené linie přetrvají po dlouhou dobu. Nicméně to nemůžeme definovat jako pravidlo pro všechny rostlinné druhy obecně. Změny následující po polyploidizaci působí na každý druh rozdílně a též ekologické a environmentální podmínky jsou různé na různých místech, kam může být druh zavlečen. Invazní potenciál druhu a úspěch v osidlování nového území, je-li tento potenciál vhodně uplatněn, záleží na souhře mnoha okolností, které jsou v podstatě dány dohromady v náhodné kombinaci.

Výsledné hodnoty poměrů relativní fluorescence semen vikve ptačí (*Vicia cracca*) z Aljašky a standardu hrachu setého (*Pisum sativum*), zjištěné pomocí průtokového cytometru, odpovídají výsledkům průměrné relativní fluorescence tetraploidů této rostliny z ČR a SR převzatých z práce Mgr. Anežky Eliášové. Semena z Aljašky jsou tedy podle očekávání tetraploidní. Naproti tomu semena získaná z Japonska vykazují jiné výsledky a neshodují se se standartními hodnotami fluorescence diploidů, triploidů ani tetraploidů, proto se zjevně nejedná o vikev ptačí.

Závěrem je třeba dodat, že mnoho podstatných faktorů, které mají vliv na vlastnosti rostlin, a tím i na jejich invazní potenciál, stále není dost jasně prozkoumáno, či dokonce nemusíme o jejich existenci vůbec vědět. Abychom lépe porozuměli souvislosti mezi polyploidizací a jí získanými vlastnostmi u rostlin, zejména pak potenciálu k invaznímu charakteru, což je důležité nejen pro udržení kontroly nad takovými druhy, je určitě potřeba dále a podrobněji zkoumat tyto vztahy, a to u co

největšího dostupného počtu rostlinných druhů, abychom se vyvarovali unáhlených závěrů, které by mohly přinést jen zkreslené a nesprávné výsledky.

11. Seznam použité literatury

- Adams K. L., Wendel J. F. 2005a.** Polyploidy and genome evolution in plants. *Current Opinion in Plant Biology* **8**: 135–141.
- Alpert P. 2006.** The advantages and disadvantages of being introduced. *Biological Invasions* **8**: 1523–1534.
- Bennett M. D., Leitch I. J. 1997.** Nuclear DNA Amounts in Angiosperms-583 New Estimates. *Annals of Botany* **80**: 169-196.
- Bennett M. D., Leitch I. J. 2005.** Genome size evolution in plants. In: Gregory TR. ed. *The evolution of the genome*. Amsterdam: Elsevier Academic Press, 89–162.
- Bennett M. D., Leitch I. J., Hanson L. 1998.** DNA amounts in two samples of angiosperm weeds. *Annals of Botany* **82**: 121–134.
- Bernström P. 1950.** Cleisto- and chasmogamic seed setting in di- and tetraploid *Lamium amplexicaule*. *Hereditas* **36**: 492–506.
- Bhatt B., Heble M. R. 1978.** Improvement of solasodine content in fruits of spiny and mutant tetraploids of *Solanum khasianum* Clarke. *Environmental and Experimental Botany* **18**: 127–130.
- Bhatt B., Heble M. R. 1978.** Improvement of solasodine content in fruits of spiny and mutant tetraploids of *Solanum khasianum* Clarke. *Environmental and Experimental Botany* **18**: 127–130. In: te Beest et al. 2011
- Blossey B., Nötzold R. 1995.** Evolution of increased competitive ability in invasive nonindigenous plants: a hypothesis. *Journal of Ecology* **83**: 887–889.
- Bossdorf O., Auge H., Lafuma L., Rogers W. E., Siemann E., Prati D. 2005.** Phenotypic and genetic differentiation between native and introduced plan populations. *Oecologia* **144**: 1–11.
- Bossdorf O., Prati D., Auge H., Schmid B. 2004.** Reduced competitive ability in an invasive plant. *Ecology Letters* **7**: 346–353.
- Bretagnolle F., Thompson J.D., Lumaret R. 1995.** The influence of seed size variation on seed germination and seedling vigour in diploid and tetraploid *Dactylis glomerata*. *Annals of Botany* **76**: 607–615.
- Brochmann C., Brysting A. K., Alsos I. G., et al. 2004.** Polyploidy in arctic plants. *Biological Journal of the Linnean Society* **82**: 521–536.
- Cavalier-Smith T. 1978.** Nuclear volume control by nucleoskeletal DNA, selection for cell volume and cell growth rate, and the solution of the DNA C-value paradox. *Journal of Cell Science* **34**: 247–278.

- Comai L. 2005.** The advantages and disadvantages of being polyploid. *Nature Reviews. Genetics* **6**: 836–846.
- Ehrendorfer F. 1980.** Polyploidy and distribution. In: te Beest et al. 2011: The more the better? The role of polyploidy in facilitating plant invasions. *Annals of Botany* **109** (1): 19-45
- Ellstrand N. C., Schierenbeck K. A. 2000.** Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants? *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **97**: 7043–7050.
- Fawcett J. A., Maere S., Van de Peer Y. 2008.** Plants with double genomes might have had a better chance to survive the Cretaceous-Tertiary extinction event. *PNAS of the USA* **106** (14): 5737 -5742
- Felber F. 1991.** Establishment of a tetraploid cytotype in a diploid population – effect of relative fitness of the cytotypes. *Journal of Evolutionary Biology* **4**: 195–207.
- Gallagher R. V., Leishman M. R., Miller J. T., et al. 2011.** Invasion success of introduced Australian acacias: the role of species' traits and genome size. *Diversity and Distributions* **17**: 884–897.
- Garcia S., Canela M. A., Garnatje T., et al. 2008.** Evolutionary and ecological implications of genome size in the North American endemic sagebrushes and allies (*Artemisia*, Asteraceae). *Biological Journal of the Linnean Society* **94**: 631–649.
- Goergen E. M., Leger E. A., Espeland E. K. 2011.** Native perennial grasses show evolutionary response to *Bromus tectorum* (cheatgrass) invasion. *Plos One* **6**: e18145.
- Grant V. 1981.** *Plant speciation*. New York: 1971. 10, 345 s.
- Gregory T. R. 2005.** *The evolution of the genome*. Amsterdam: Elsevier Academic Press.
- Hegarty M. J., Barker G. L., Wilson I. D., et al. 2006.** Transcriptome shock after interspecific hybridization in *Senecio* is ameliorated by genome duplication. *Current Biology* **16**: 1652–1659.
- Hegarty M., Hiscock S. 2007.** Polyploidy: doubling up for evolutionary success. *Current Biology* **17**: R927–R929.
- Hull-Sanders H. M., Johnson R. H., Owen H. A., Meyer G. A. 2009.** Effects of polyploidy on secondary chemistry, physiology, and performance of native and invasive genotypes of *Solidago gigantea* (Asteraceae). *American Journal of Botany* **96**: 762–770.
- Husband B. C. 2004.** The role of triploid hybrids in the evolutionary dynamics of mixed-pl. idy populations. *Biological Journal of the Linnean Society* **82**: 537–546.

- Husband B. C., and Schemske D. W. 2000.** Ecological mechanisms of reproductive isolation between diploid and tetraploid *Chamerion angustifolium*. - *Journal of ecology* **88**: 689-701
- Chen S. L, Tang P. S. 1945.** Studies on colchicine-induced autotetraploid barley. III. Physiological studies. *American Journal of Botany* **32**: 177–179.
- Chen Z. J. 2007.** Genetic and epigenetic mechanisms for gene expression and phenotypic variation in plant polyploids. *Annual Review in Plant Biology* **58**: 377–406.
- Knight C. A., Molinari NA, Petrov DA. 2005.** The large genome constraint hypothesis: evolution, ecology and phenotype. *Annals of Botany* **95**: 177–190.
- Lafuma L., Balkwill K., Imbert E., Verlaque R., Maurice S. 2003.** Ploidy level and origin of the European invasive weed *Senecio inaequidens* (Asteraceae). *Plant Systematics and Evolution* **243**: 59–72.
- Lachmuth S., Durka W., Schurr F. M. 2010.** The making of a rapid plant invader: genetic diversity and differentiation in the native and invaded range of *Senecio inaequidens*. *Molecular Ecology* **19**: 3952–3967.
- Lavana U. C. 1988.** Enhanced productivity of the essential oil in the artificial autopolyploid of vetiver (*Vetiveria zizanioides* L. Nash.). In: te Beest et al. 2011: The more the better? The role of polyploidy in facilitating plant invasions. *Annals of Botany* 109 (1): 19-45
- Lavergne S., Muenke N. J., Molofsky J. 2010.** Genome size reduction can trigger rapid phenotypic evolution in invasive plants. *Annals of Botany* **105**: 109–116.
- Leger E. A. 2008.** The adaptive value of remnant native plants in invaded communities: an example from the Great Basin. *Ecological Applications* **18**: 1226–1235.
- Leitch A. R., Leitch IJ. 2008.** Genomic plasticity and the diversity of polyploid plants. *Science* **320**: 481–483.
- Leitch I. J., Bennett MD. 2004.** Genome downsizing in polyploid plants. *Biological Journal of the Linnean Society* **82**: 651–663.
- Levin D. A. 1975.** Minority cytotype exclusion in local plant populations. *Taxon* **24**: 35-43.
- Levin D. A. 2000.** *The origin, expansion and demise of plant species*. Oxford: Oxford University Press.
- Levin D. A. 2002.** *The role of chromosomal change in plant evolution*. Oxford: Oxford University Press.
- Liu S. Y., Chen S. M., Chen Y., Guan Z. Y., Yin D. M., Chen F. D. 2011.** *In vitro* induced tetraploid of *Dendranthema nankingense* (Nakai) Tzvel. shows an improved level of abiotic stress tolerance. *Scientia Horticulturae* **127**: 411–419.

- Lowry E., Lester S. E. 2006.** The biogeography of plant reproduction: potential determinants of species' range sizes. *Journal of Biogeography* **33**: 1975–1982.
- Maherali H., Walden A. E., Husband B. C. 2009.** Genome duplication and the evolution of physiological responses to water stress. *New Phytologist* **184**: 721–731.
- Martin S. L., Husband B. C. 2009.** Influence of phylogeny and ploidy on species ranges of North American angiosperms. *Journal of Ecology* **97**: 913–922.
- Masterson J. 1994.** Stomatal size in fossil plants – evidence for polyploidy in majority of angiosperms. *Science* **264**: 421–424.
- McClintock B. 1984.** The significance of responses of the genome to challenge. *Science* **226**: 792–801.
- Meng H. B., Jiang S. S., Hua S. J., et al. 2011.** Comparison between a tetraploid turnip and its diploid progenitor (*Brassica rapa* L.): the adaptation to salinity stress. *Agricultural Sciences in China* **10**: 363–375.
- Meyer G., Clare R., Weber E. 2005.** An experimental test of the evolution of increased competitive ability hypothesis in goldenrod, *Solidago gigantea*. *Oecologia* **144**: 299–307.
- Müller C., Martens N. 2005.** Testing predictions of the 'evolution of increase competitive ability' hypothesis for an invasive crucifer. *Evolutionary Ecology* **19**: 533–550.
- Müller-Schärer H., Schaffner U. 2008.** Classical biological control: exploiting enemy escape to manage plant invasions. *Biological Invasions* **10**: 859–874.
- Müller-Schärer H., Schafner U., Steinger T. 2004.** Evolution in invasive plants: implications for biological control. *Trends in ecology & evolution* **19** (8): 417–422
- Münzbergová Z. 2006.** Ploidy level interacts with population size and habitat conditions to determine the degree of herbivory damage in plant populations. *Oikos* **115**: 443–452.
- Münzbergová Z. 2007.** No effect of ploidy level in plant response to competition in a common garden experiment. *Biological Journal of the Linnean Society* **92**: 211–219.
- Nuismer S. L., Thompson J. N. 2001.** Plant polyploidy and non-uniform effects on insect herbivores. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **268**: 1937–1940.
- Oswald B. P., Nuismer S. L. 2007.** Neopolyploidy and pathogen resistance. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **274**: 2393–2397.
- Otto S. P. 2007.** The evolutionary consequences of polyploidy. *Cell* **131**: 452–462.
- Ozimec, B., Husband B. C. 2011.** Effect of recurrent selfing on inbreeding depression and mating system evolution in an autopolyploid plant. *Evolution*: 1–12

- Pandit M. K., Pockock M. J. O., Kunin W. E. 2011.** Ploidy influences rarity and invasiveness in plants. *Journal of Ecology* **99**: 1108–1115.
- Ramsey J., Schemske D. W. 1998.** Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* **29**: 467–501.
- Richardson D. M., Pyšek P. 2006.** Plant invasions: merging the concepts of species invasiveness and community invasibility. *Progress in Physical Geography* **30**: 409–431.
- Segraves K. A., Thompson J. N. 1999.** Plant polyploidy and pollination: floral traits and insect visits to diploid and tetraploid *Heuchera grossularifolia*. *Evolution* **53**: 1114–1127.
- Schlaepfer D. R., Edwards P., Billeter R. 2010.** Why only tetraploid *Solidago gigantea* (Asteraceae) became invasive: a common garden comparison of ploidy levels. *Oecologia* **163**: 661–673.
- Soltis D. E., Soltis P. S. 1999.** Polyploidy: recurrent formation and genome evolution. *Trends in Ecology and Evolution* **14**: 348–352.
- Soltis, D. E., Soltis P. S. and Tate J. A. 2003.** Advances in the study of polyploidy since plant speciation. *New phytologist* **161**: 173–191
- Soltis, P. S. and Soltis D. E. 2000.** The role of genetic and genomic attributes in the success of polyploids. *PNAS* **97**: 7051- 7057
- Stebbins G. L. 1950.** *Variation and evolution in plants*. New York: Columbia University Press.
- Stebbins G. L. 1971.** *Chromosomal evolution in higher plants*. London: Addison-Wesley.
- Sudová R., Rydlová J., Münzbergová Z., Suda J. 2010.** Ploidy-specific interactions of three host plants with arbuscular mycorrhizal fungi: does genome copy number matter? *American Journal of Botany* **97**: 1798–1807.
- te Beest M., Le Roux J. J., Richardson D. M. et al. 2011.** The more the better? The role of polyploidy in facilitating plant invasions. *Annals of Botany* **109** (1): 19-45
- Thompson J. N., Nuismer S. L., Merg K. 2004.** Plant polyploidy and the evolutionary ecology of plant/animal interactions. *Biological Journal of the Linnean Society* **82**: 511–519.
- Trávníček P., Eliášová A., Suda J. 2010.** The distribution of cytotypes of *Vicia cracca* in Central Europe: the changes that have occurred over the last four decades. *Preslia* **82**: 149–163.
- Treier U. A., Broennimann O., Normand S., et al. 2009.** Shift in cytotype frequency and niche space in the invasive plant *Centaurea maculosa*. *Ecology* **90**: 1366–1377.

- Tyler B., Borrill M., Chorlton K. 1978.** Studies in *Festuca* X. Observations on germination and seedling cold tolerance in diploid *Festuca pratensis* and tetraploid *F. pratensis* var. *apennina* in relation to altitude distribution. *Journal of Applied Ecology* **15**: 219–226.
- Van de Peer, Y., Maere S. and Meyer A. 2009.** The evolutionary significance of ancient genome duplications. *Nature*: 725-732
- Verlaque R., Aboucaya A., Fridlender A. 2002.** Invasive alien flora of France: ecology, life-forms and polyploidy. *Botanica Helvetica* **112**: 121–136.
- Vilà M., Maron J. L., Marco L. 2004.** Evidence for the enemy release hypothesis in *Hypericum perforatum*. *Oecologia* **142**: 474-479.
- Vinogradov A. E. 2003.** Selfish DNA is maladaptive: evidence from the plant Red List. *Trends in Genetics* **19**: 609–614.
- Wang J., Tian L., Lee H. S., et al. 2006.** Genome-wide nonadditive gene regulation in *Arabidopsis* allotetraploids. *Genetics* **172**: 507–517.
- Williamson M. 1996.** Biological invasions. Chapman et Hall, London.
- Williamson M., Fitter A. 1996.** The varying success of invaders. In te Beest M., Le Roux J. J., Richardson D. M. et al. 2011. The more the better? The role of polyploidy in facilitating plant invasions. *Annals of Botany* **109** (1): 19-45
- Wood T. E., Takebayashi N., Barker M. S., et al. 2009.** The frequency of polyploid speciation in vascular plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **106**: 13875–13979.
- Zou J., Rogers W. E., Siemann E. 2008.** Increased competitive ability and herbivory tolerance in the invasive plant *Sapindum sebiferum*. *Biological Invasions* **10** (3): 291–302.

12. Seznam použitých webových zdrojů

- Web 1:** Plant Diversity Website, staženo dne 21. 8. 2012, <http://www-personal.umich.edu/~rburnham/SpeciesAccountspdfs/ViciracFABAFINAL.pdf>
- Web 2:** Co se skrývá za rostlinnou průtokovou cytometrií, staženo dne 21. 8. 2012, <http://www.ibot.cas.cz/fcm/suda/>