

## Úvod

K šíření rostlin a výměně genetické informace mezi populacemi dochází skrze tzv. propagule (částice určené pro šíření) a pyl. Propagule mohou být buď vegetativní (např. pacibulky nebo turiony) nebo generativní (semena nebo plody). Různé druhy jsou šířeny různým způsobem, např. větrem (anemochorie), vodou (hydrochorie), zvířaty (zoochorie) nebo díky člověku (antropochorie). Typ a frekvence šíření významně ovlivňuje rozšíření druhu a také distribuci genetické variability uvnitř a mezi populacemi.

Znalost tzv. 'dispersal kernel', což je určení toho, jak jsou šířena semena okolo zdroje, je zásadní pro porozumění ekologickým procesům na krajinné úrovni. Počet šířených semen, ale i vzdálenost a směr jejich transportu je podstatné pro ekologické otázky. Používá se několik různých přístupů ke studiu šíření: (1) sledování šířených propagulí, (2) chytání šířených propagulí, (3) matematické (empirické, mechanistické) modely popisující pohyb propagulí okolo jejich zdrojů a (4) přímé nebo nepřímé genetické metody využívající molekulární informaci (isozymovou, restriční fragmenty, DNA sekvence). Protože genetická podobnost odpovídá příbuznosti mezi jedinci, prostorové pattern genetické variability může být interpretováno jako výměna genetické informace, např. šíření propagulí mezi populacemi.

Studovat šíření rostlin je obzvláště zajímavé v heterogenní krajině, kde jsou potenciální vhodná místa propojena koridory. Pokud tyto koridory slouží jako hlavní migrační cesty, je distribuce genetické variability ovlivněna strukturou těchto koridorů. Příkladem takového systému jsou říční koridory a jejich přítoky. Díky tekoucí vodě slouží řeky jako efektivní cesty pro lineární šíření rostlin. Hydrochorie (šíření rostlin vodou) efektivní způsob šíření, protože řeky spojují všechna vhodná místa pro klíčení a další vývoj nových populací. Několik studií, které použily molekulární markery k výzkumu šíření rostlin v řekách potvrdily existenci dálkového šíření v říčních koridorech a také šíření mezi řekami. Pouze velmi málo studií potvrdilo efekt jednosměrného pohybu tekoucí vody a odhalilo vyšší genetickou diverzitu ve spodních částech řek. Několik studií detekovalo možnost vegetativního šíření mezi vzdálenými populacemi.

## Cíle práce

Stále je málo známo o tom, jak plovatelnost semen ovlivňuje šíření vodních rostlin v rámci a mezi říčními systémy a chybí komparativní studie druhů, které se liší možnostmi a způsoby šíření. Tato práce srovnává několik druhů, které se výrazně liší v možnostech šíření a následně diskutuje tyto aspekty šíření rostlin v řekách:

(1) *Dálkové šíření.* Prostorová autokorelační analýza genetické variability odhalí jestli a na jaké prostorové škále existuje korelace mezi genetickou a geografickou vzdáleností. To může indikovat omezení genového toku. Rozsah prostorové autokorelace může být hrubým odhadem dosahu dálkového šíření.

**Otázka:** Jak silný je vztah mezi geografickou a genetickou vzdáleností? Na jaké vzdálenosti stále existuje pozitivní autokorelace mezi jedinci?

(2) *Vegetativní dálkové šíření.* Skutečná role klonálního dálkového šíření říčních rostlin je stále málo známa. Může být zjištěna nalezením stejného genotypu ve vzdálených populacích.

**Otázka:** Vyskytují se identické genotypy ve vzdálených lokalitách podél toků? Jaký je poměr vegetativního a generativního šíření?

(3) *Jednosměrné šíření.* Většina genotypů by měla být splavena do dolních částí řek pokud by stálé šíření pouze po proudu bylo jedinou možností pro šíření vodních rostlin.

**Otázka:** Je v dolních částech řek vyšší genetická variabilita, která naznačuje převahu jednosměrného transportu po proudu?

(4) *Šíření mezi řekami a jejich přítoky.* Prostorová distribuce genetické variability odráží šíření diaspor v krajině. O aktuálním genovém toku mezi řekami, které nejsou propojeny, je známo málo. Detailní analýza prostorového pattern genetické variability umožní určit, jestli jsou řeky hlavní koridor pro šíření rostlin nebo jestli musí být uvažováno i šíření mezi řekami.

**Otázka:** Můžeme nalézt geneticky podobné jedince v různých řekách, což by naznačovalo šíření mezi řekami? Jsou jedinci z různých řek geneticky odlišní?

Čtyři druhy rostlin byly vybrány ke studiu šíření ve třech sousedních říčních povodích v České Republice. Vybrané druhy se liší ve svých možnostech šíření (Tabulka 1). Dva druhy (*Spartanium erectum* a *Nuphar lutea*) se mohou dobře šířit tekoucí vodou (hydrochorie), zatímco *Phragmites australis* a *Typha latifolia* se šíří hlavně větrem (anemochorie). Diaspory *S. erectum* dobře plavou narozdíl od diaspor *N. lutea*.

## Metodika

Studované území se nachází ve středních a východních Čechách, zahrnuje povodí dvou menších řek, Cidlina a Mrlina. Obě jsou přítoky Labe. V této oblasti se všechny čtyři studované druhy hojně vyskytují. Kvůli komplikované definici jednotlivých populací studovaných druhů byly jedinci sbíráni na tzv. odběrných místech, které byly definovány jako jeden nebo několik porostů daného druhu rostoucích podél obou břehů řeky v úseku několika stovek metrů. Na každém místě bylo sebráno jeden až šest jedinců, podle hojnosti druhu na daném místě.

Metoda AFLP byla použita pro studium *S. erectum*, ostatní tři druhy byly studovány pomocí jaderných mikrosatelitových markerů. Použité molekulární techniky umožnily odlišení jednotlivých genet a rozpoznání klonálního původu vzorků. Detekce identického genotypu v různých populacích byla použita jako důkaz dálkového vegetativního šíření (otázka 2). Genetická diverzita v rámci populace byla korelována s pozicí populace na toku ke zjištění, zda dochází k akumulaci genetické diverzity v dolních částech řek (jako důsledek převládajícího jednosměrného šíření; otázka 3). Výsledky Bayesovské shlukování jedinců byly vyneseny do mapy říční krajiny a jejich interpretace umožnila odpovědět na otázky 1 a 4. Procento z celkové variability, které bylo dáno oddělením jedinců z různých říčních systémů (spočítáno pomocí AMOVA) bylo interpretováno jako známka šíření mezi řekami (otázka 4). Vztah mezi párovými genetickými a geografickými vzdálenostmi mezi jedinci byl testován Mantelovým testem a autokorelačními technikami. Rozsah prostorové autokorelace byl použit jako indikace dosahu dálkového šíření (otázka 1).

## Výsledky a diskuze

### Dálkové šíření

Vyšší Mantelova korelace mezi maticí genetických a geografických vzdáleností mezi jedinci indikovala omezení dálkového transportu semen a pylu. U druhů adaptovaných na šíření větrem byla korelace nízká (0.09 pro *P. australis*; 0.01 pro *T. latifolia*; Tabulka 2) a nesignifikantní. Zbývající dva druhy s diasporami šířenými vodou vykazovaly vyšší a signifikantní korelace (0.23 pro *S. erectum*; 0.36 pro *N. lutea*). Výsledky souhlasí s hypotézou, že plovatelná semena *S. erectum* jsou šířena na větší vzdálenost než neplovatelná semena *N. lutea*. Podobné výsledky poskytla analýza prostorové autokorelace. Pro *S. erectum* a *N. lutea* genetická podobnost stále klesala se stoupající geografickou vzdáleností. Signifikantní pozitivní autokorelace existovala do 30 km (*S. erectum*) nebo do 25 km (*N. lutea*). Pro *P. australis* tato pozitivní korelace zasahovala do 5 km a korelace pro další distanční třídy nebyla signifikantní. To ukazuje na náhodné rozšíření jedinců a může být interpretováno jako prostorově neomezené dálkové šíření. Pro *T. latifolia* signifikantní prostorová autokorelace existovala pouze v rámci populací.

K dálkovému šíření dochází jak podél řek, tak mezi řekami, jak bylo ukázáno geografickým rozšířením jedinců s podobným multilokusovým genotypem (tj. skupin definovaných pomocí Bayesovského shlukování). Některé skupiny genotypů byly dalece rozšířeny podél toků.

### Vegetativní dálkové šíření

Jasný důkaz vegetativního šíření mezi populacemi byla přítomnost identického multilokusového genotypu v různých populacích. U *S. erectum* bylo šest genotypů nalezeno ve více než jedné populaci, u *N. lutea* pouze jeden. To naznačuje překvapivě nízký podíl tohoto typu šíření. Čtyři identické

multilokusové genotypy rozšířené ve dvou populacích byly nalezeny u *P. australis*. U *T. latifolia* nebylo rozlišení použitého markeru dostatečné k odlišení všech potenciálních genotypů.

Přestože vegetativní části obvykle dobře plavou, není úspěšné dálkové vegetativní šíření časté ani u jednoho ze studovaných druhů. Následující vysvětlení mohou být diskutována: (1) šířené úlomky oddenků nejsou zaneseny na vhodná místa pro další vývoj, (2) vyšší frekvence vegetativního šíření by mohla být nalezena kdyby bylo analyzováno více vzorků, (3) klonální variabilita byla nadhodnocena díky somatickým mutacím.

#### *Diverzita podél toků a jednosměrné šíření*

Byla nalezena tendence k vyšší vnitropopulační genetické diverzitě v dolních částech obou studovaných řek u *S. erectum* a v řece Cidlině u *N. lutea*. U těchto druhů převládá jednosměrné šíření po proudu nad občasným šířením proti proudu. Naopak u větrem šířitelných druhů (*P. australis*, *T. latifolia*) nebyla nalezena žádná korelace. Existuje jasný vztah mezi typem šíření (vodou nebo větrem) a výskytem lineárního gradientu vnitropopulační genetické diverzity způsobeného pohybem vody.

#### *Šíření mezi řekami a jejich přítoky*

Intenzita šíření mezi říčními povodími byla definována jako počet Bayesovských shluků geneticky podobných jedinců s jedinci pocházejícími z různých povodí. Šest z osmi shluků definovaných pro *S. erectum* bylo nalezeno v systému Cidliny i Mrliny. Současné pattern genetické variability tak může být vysvětleno přenosem nejméně šesti různých diaspor mezi oběma systémy. Pro interpretaci pattern genetické variability u *N. lutea* je potřeba předpokládat také šest vyměňovaných diaspor a 15 u *P. australis*.

Procento z celkové variability, které bylo dáno oddělením jedinců z různých říčních systémů (spočítáno pomocí AMOVA) také odpovídá intenzitě šíření diaspor mezi řekami. Analýza *S. erectum* a *T. latifolia* odhalila nevýznamnou diferenciaci mezi říčními systémy, zatímco analýza *N. lutea* a *P. australis* detekovala 7,5%, resp. 6% rozdíl mezi řekami. Otázkou zůstává do jaké míry je současná genetická struktura výsledkem intenzivního šíření mezi říčními systémy (v minulosti nebo současného) nebo výsledkem pouze omezeného šíření genotypů, které se následně široce rozšířily i v jiných říčních systémech. Nevýznamné rozdíly mezi řekami mohou být také důsledkem společné kolonizace celé oblasti.

## **Závěr**

Molekulární markery použité ve studiích prezentovaných v této práci (AFLP, mikrosatelity) přispěly k porozumění zákonitostí šíření rostlin v říčních systémech. Byla jednoznačně potvrzena role řek v dálkovém šíření diaspor (např. přítomnosti geneticky podobných jedinců na vzdálených lokalitách podél řek nebo pozitivní autokorelací mezi jedinci vzdálenými až 30 km). Typ šíření (anemochorie, hydrochorie) hraje roli při migraci vodních a litorálních druhů rostlin a má podstatný vliv na prostorovou distribuci genetické variability v krajině. Druhy adaptované k hydrochornímu způsobu šíření migrují primárně jednosměrně podél toků, což bylo ukázáno vyšší genetickou diverzitou v dolních částech řek. Druhy s plovatelnými diasporami jsou šířeny na vzdálenost desítek kilometrů, druhy s neplovatelnými diasporami jsou šířeny na kratší vzdálenosti. Druhy adaptované také k šíření větrem migrují jak podél říčních koridorů, tak mezi povodími.

Kromě toho, co je již obecně známo o vlivu typu šíření na distribuci genetické variability v krajině s říčním systémem, byla s použitím molekulárních markerů zjištěna fakta, která lze jen obtížně vyzkoumat použitím jiných metod. Za prvé, byl kvantifikován rozsah dálkového šíření a intenzita šíření mezi toky a říčními systémy. Dále bylo ukázáno, že role vegetativního šíření mezi populacemi nepřevládá u studovaných druhů a je spíše minoritní.