

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE
FAKULTA ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ
KATEDRA APLIKOVANÉ EKOLOGIE



**Klíčivost a cytologická variabilita invazních
taxonů rodu *Fallopia* v okolí řeky Sávky**
BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Vedoucí práce: doc. Ing. Kateřina Berchová, Ph.D.

Konzultant: Ing. Martina Kadlecová

Bakalant: Čermák Václav

2023

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta životního prostředí

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Václav Čermák

Územní technická a správní služba v životním prostředí

Název práce

Klíčivost a cytologická variabilita invazních taxonů rodu Fallopia v okolí řeky Sávy

Název anglicky

Germination and cytological variability of invasive Fallopia taxa along the Sava River

Cíle práce

Invazní chování různých cytotypů rodu Fallopia se může navzájem velmi lišit a přítomnost vysoce invazních typů spouští na lokalitách nekontrolovatelnou invazi. Lokalita v okolí řeky Sávy ještě nebyla z tohoto hlediska studována. Hlavními cíly práce proto je

1. Popsat cytologickou variabilitu a klíčivost invazních rostlin rodu Fallopia v okolí řeky Sávy
2. Popsat cytologickou variabilitu semenáčků získaných z naklíčených semen sesbíraných v okolí řeky Sávy.

Metodika

Práce bude experimentálního charakteru, kdy bude z nasbíraných vzorků rostlin (Fallopia xbohemica, F. japonica) zjištěna cytologická variabilita (vyhodnocení pomocí průtokové cytometrie) a testována jejich klíčivost. Naklíčená semena budou zasazena a u získaných semenáčků bude opět stanovena cytologická variabilita.

Doporučený rozsah práce

30 stran, 2 grafy

Klíčová slova

cytometrie, invazní rostliny, ploidie, velikost genomu

Doporučené zdroje informací

- BAILEY J. P., BÍMOVÁ K. et MANDÁK B., 2007: The potential role of polyploidy and hybridisation in the further evolution of the highly invasive *Fallopia taxa* in Europe. – *Ecol. Res.* 22: 920–928.
- Bailey J. P. & Conolly A. P. (2000): Prize-winners to paria hs: A history of Japanese Knotweed s. l. (*Polygonaceae*) in the British Isles. – *Watsonia* 23: 93–110.
- Forman J, Kesseli RV (2003) Sexual reproduction in the invasive species *Fallopia japonica* (*Polygonaceae*). *Am J Bot* 90:586–592

Předběžný termín obhajoby

2022/23 LS – FŽP

Vedoucí práce

doc. Ing. Kateřina Berchová, Ph.D.

Garantující pracoviště

Katedra aplikované ekologie

Konzultant

Ing. Martina Kadlecová

Elektronicky schváleno dne 7. 3. 2023

prof. Ing. Jan Vymazal, CSc.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 7. 3. 2023

prof. RNDr. Vladimír Bejček, CSc.

Děkan

V Praze dne 10. 03. 2023

ČESTNÉ PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma: Klíčivost a cytologická variabilita invazních taxonů rodu *Fallopia* v okolí řeky Sávy vypracoval samostatně a citoval jsem všechny informační zdroje, které jsem v práci použil a které jsem rovněž uvedl na konci práce v seznamu použitých informačních zdrojů.

Jsem si vědom, že na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů, ve znění pozdějších předpisů, především ustanovení § 35 odst. 3 tohoto zákona, tj. o užití tohoto díla.

Jsem si vědom, že odevzdáním bakalářské práce souhlasím s jejím zveřejněním podle zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů, ve znění pozdějších předpisů, a to i bez ohledu na výsledek její obhajoby.

Svým podpisem rovněž prohlašuji, že elektronická verze práce je totožná s verzí tištěnou a že s údaji uvedenými v práci bylo nakládáno v souvislosti s GDPR.

V Praze dne 29. 3. 2023

.....

PODĚKOVÁNÍ

Chtěl bych poděkovat doc. Ing. Kateřině Berchové, Ph.D. za odborné vedení, za pomoc a rady při zpracování této práce. Děkuji také Ing. Martině Kadlecové za podnětné rady a vstřícnost při konzultacích.

Abstrakt

Bakalářská práce se zabývá stanovením cytologické variability a úspěšnosti klíčení invazních taxonů křídlatky japonské (*Fallopia japonica* var. *japonica*) a křídlatky české (*Fallopia* × *bohemica*). Křídlatky se řadí mezi rostliny ohrožující biodiverzitu a jsou schopny kolonizovat prakticky všechna stanoviště, jejich likvidace je velice zdoluhavá a problematická. Hlavní část práce je zaměřena na stanovení ploidních úrovní a velikostí genomů vzorků rostlin nasbíraných v okolí řeky Sávy (Chorvatsko). Cílem práce bylo zjistit, zdali je možný vznik nových hybridů, kteří by se mohli úspěšně šířit na nová stanoviště a ohrožovat biodiverzitu ještě více než mateřské rostliny a vytvořit tak zcela nové hybridní populace. Práce je dále věnována stanovení klíčivosti semen, jakožto důležitého faktoru ovlivňujícího fitness.

Experiment, který byl zaměřen na klíčivost semen ukázal, že křídlatka japonská měla vyšší úspěšnost klíčení (20 %) oproti křídlatce české (6,86 %). Výsledky průtokové cytometrie rostlin odebraných u řeky Sávy nebyly nijak překvapivé, u křídlatek českých byla zjištěna hexaploidie ($2n = 6x = 66$), což je nejčastější ploidní úroveň v Evropě a u křídlatky japonské šlo o běžně se vyskytující oktoploidní variantu ($2n = 8x = 88$). V případě průtokové cytometrie semenáčků se u všech testovaných vzorků jednalo o aneuploidie, což je zapříčiněno nejspíše zpětnou hybridizací nebo křížením s blízce příbuznými taxony. Je možné, že se tyto ploidní úrovně mohou v krajině časem uchytit a vytvořit nové hybridní populace.

Klíčová slova: cytometrie, invazní rostliny, ploidie, velikost genomu

Abstract

The bachelor's thesis deals with the determination of cytological variability and germination success of the invasive taxa Japanese knotweed (*Fallopia japonica* var. *japonica*) and Bohemian knotweed (*Fallopia ×bohemica*). Knotweed are among the plants that threaten biodiversity and are able to colonize practically all habitats, their elimination is very lengthy and problematic. The main part of the work is focused on the determination of ploidy levels and genome sizes of plant samples collected in the vicinity of the Sava River (Croatia). The goal of the work was to find out whether it is possible to create new hybrids that could successfully spread to new habitats and threaten biodiversity even more than the parent plants, thus creating completely new hybrid populations. The work is further devoted to the determination of seed germination, as an important factor affecting fitness.

The experiment, which focused on seed germination, showed that the Japanese knotweed had a higher germination success rate (20 %) compared to the Bohemian knotweed (6,86 %). The results of flow cytometry of the plants taken from the Sava River were not surprising, in the case of Bohemian knotweed was detected hexaploidy ($2n = 6x = 66$), which is the most common ploidy level in Europe, and in the case of Japanese knotweed it was a commonly occurring octoploid variant ($2n = 8x = 88$). In the case of flow cytometry in seedlings, all tested samples were aneuploidy, which is most likely caused by back hybridization or crossing with closely related taxa. It is possible that these ploidy levels can take hold in the landscape over time and create new hybrid populations.

Key words: cytometry, invasive plants, ploidy, genome size

Obsah

1. Úvod	1
2. Cíle práce	1
3. Literární rešerše	2
3.1 Vznik polyplodních rostlin	2
3.1.1 Projevy polyplodních rostlin	3
3.2 Aneuploidie u rostlin	4
3.3 Průtoková cytometrie	4
3.4. Invazní rostliny	5
3.4.1 Charakteristika invazních rostlin	6
3.5 Invazní taxony rodu Fallopia (syn. Reynoutria)	7
3.5.1 Popis a morfologie	9
3.5.2 Rozmnožování	11
3.5.3 Popis ploidních úrovní jednotlivých taxonů	12
3.5.4 Křížení	13
4. Metodika	14
4.1. Sběr a klíčení semen	14
4.2 Statistická analýza	16
4.3 Průtoková cytometrie	16
5 Výsledky	18
5.1 Stanovení klíčení	18
5.2 Průtoková cytometrie semenáčků	19
5.3 Průtoková cytometrie mateřských rostlin	20
6. Diskuse	22
7. Závěr	25
8. Přehled literatury a použitých zdrojů	26
9. Přílohy	30

1. Úvod

Křídlatky z rodu *Fallopia* syn. *Reynoutria* jsou v Evropě zastoupeny čtyřmi taxony, a to křídlatkou japonskou (*F. japonica* var. *japonica*), křídlatkou tuhou (*F. japonica* var. *compacta*), křídlatkou českou (*F. ×bohemica*) a křídlatkou sachalinskou (*F. sachalinesis*) (Bailey et Wisskirchen, 2006). Bakalářská práce se zaměřuje na dva taxony (křídlatku japonskou a křídlatku českou), u kterých byla zkoumána cytologická variabilita a úspěšnost klíčení.

Jedná se o invazní rostliny původem z Asie, které byly zavlečeny do Evropy v polovině 19. století jako okrasné rostliny (Bailey et Conolly, 2000). V současnosti v sekundárním areálu kolonizují především antropogenní stanoviště (parky, podél silnic a železničních tratí, skládky) a vodní toky (Mandák et al., 2004). Jako hlavní způsob reprodukce je považována vegetativní regenerace z oddenků (Bímová et al., 2001). Sexuální reprodukce se vyskytuje jen zřídka a je především omezena nedostatkem pylových zrn u některých taxonů, např. samčí rostlina k. japonské v sekundárním areálu chybí (Bailey et al., 1995). I přesto však sexuální reprodukce hraje důležitou roli, např. hybridizací mezi taxony mohou křídlatky dosahovat vysoké genetické variability a může docházet ke vzniku nových hybridních potomků (Bailey et al., 2007).

Křídlatky mimo své původní stanoviště Asii, kolonizují Evropu, Austrálii a Ameriku. Vzhledem k jejich vysoké konkurenční schopnosti, vysoké produkci biomasy a efektivní vegetativní reprodukci (Bímová et al., 2003), jsou křídlatky považovány za agresivní invazní rostliny, které ohrožují nejen biodiverzitu (úplným vytěsněním původních rostlin) napadených stanovišť, ale také mohou způsobit změny v hydrologických procesech. Přestože taxony křídlatek nemají negativní vliv na lidské zdraví, mají nežádoucí dopad na dopravní infrastrukturu tím, že poškozují silnice a železniční tratě, dále negativně ovlivňují protipovodňové stavby, čímž zvyšují riziko povodní (Pyšek et al., 2012).

2. Cíle práce

Cílem práce je popsat cytologickou variabilitu a klíčivost invazních rostlin rodu *Fallopia* v okolí řeky Sávya a popsat cytologickou variabilitu jejich semenáčků získaných z naklíčených semen.

3. Literární rešerše

3.1 Vznik polyplodních rostlin

Polyploidní organismy, mají více sad chromozomů a mohou být překvapivě stabilní. Polyploidie, také označovaná jako duplikace celého genomu (WGD), je běžná záležitost u určitých rostlinných druhů taxonů rostlin. Odhaduje se, že 47 % až 70 % všech krytosemenných druhů rostlin jsou polyploidní. Polyploidie je významným faktorem v evoluci a diverzifikaci rostlin v časovém měřítku od starověku po současnost (Keith et Wendel, 2005). Předpokládá se, že mnoho druhů, které jsou dnes diploidní, byly odvozeny z polyploidních předků. To naznačuje, že polyploidie může poskytnout dlouhodobou evoluční flexibilitu (Comai, 2005).

Polyploidie znamená mnohem víc než jen pouhé spojení dvou genomů, nebo duplikace téhož genomu. S nástupem polyploidizace vznikají často rozsáhlé genomové přestavby, včetně výměn mezi genomy a ztráty genů. Při vzniku polyploidie dochází ke genetickým a epigenetickým změnám. Mezi genetické změny se řadí reorganizace genomu, duplikace, ztráta genů a reciproké výměny. Mezi epigenetické změny patří změny ve fenotypu a genové expresi, jedná se o dědičné změny, které nejsou způsobeny změnami v sekvenci DNA (Woodhouse et al., 2009).

Polyploidie lze klasifikovat do dvou hlavních kategorií podle toho, zda se jedná o polyploidy, které vznikají jak v rámci druhu, tak v rámci téhož jedince nebo pomocí hybridizace mezi dvěma odlišnými druhy. První z nich jsou autopolyploidie, které vznikly v populacích jednoho druhu nebo mezi nimi, kde dochází k zdvojení strukturně podobných, homologních chromozomových sad. Druhé jsou allopolyploidie, které vznikají hybridizací mezi druhy a následovným zdvojením nehomologních chromozomových sad (Tayalé et Parisod, 2013). Autopolyploidie typicky trpí sníženou plodností, zatímco allopolyploidie mají potenciál pro heterózu nebo hybridní vitalitu. Tyto dva typy polyploidů lze od sebe rozeznat pomocí párového chování chromozomů v meióze.

3.1.1 Projevy polyplodních rostlin

Polyploidie je důležitá u zemědělských rostlin, které jsou významné pro přežití člověka. Především se jedná o rostliny určené pro výživu, jako je například pšenice (*Triticum aestivum*), oves (*Avena sativa*), brambory (*Solanum tuberosum*) (Kyriakidou et al. 2018). Šlechtění polyploidie u zemědělských rostlin může nabídnout vyšší výnosovou úroveň, zlepšit kvalitu produktu a zvýšit toleranci k biotickému a abiotickému stresu (Sattler et al., 2016). Mimo zemědělské rostliny má polyploidie velký význam také u invazních rostlin, může docházet k vývoji nové adaptivní variability, která může umožnit rychlé obsazení nových prostředí v sekundárním areálu (Bailey et al., 2007).

Polyploidizace u rostlin má řadu následků jak negativních, tak i pozitivních. Běžný příklad pozitivních projevů je hybridní vitalita neboli heteróza, kdy polyploidní potomstvo je oproti diploidním předkům vitálnější a zdravější. Po polyploidizace také vznikají nové fenotypy, včetně některých s vysokou viditelností, jako je velikost orgánů a doba květu (Keith et Wendel, 2005). Dále také dochází ke genové redundanci, která chrání polyploidy před škodlivými účinky mutací. Polyploidům je také umožněno rozmnožovat se v nepřítomnosti sexuálních partnerů. Rostliny, které se asexuálně rozmnožují mají větší konkurenceschopnost, protože tento typ rozmnožování je relativně rychlé a efektivní (Comai, 2005).

Negativními následky u polyploidních rostlin pak může být problematické normální dokončení mitózy a meiózy. Také může potencionálně docházet ke změnám v genové expresi. Další z nevýhod se týká relativních změn mezi velikostí genomu a objemu buňky. Očekává se, že při zdvojnásobení genomu buňky dojde také k zdvojnásobení objemu prostoru obsazeného chromozomy v jádře, což se nestane a dochází pouze k 1,6 násobnému zvětšení povrchu jaderného obalu. Tento problém může narušit rovnováhu interakce mezi chromozomy a jadernými složkami. U autopolyploidů může představovat další výzvu epigenetická nestabilita, která má za výsledek změny ve fenotypu a genové expresi. Naopak u allopolyploidů může docházet k epigenetické remodelaci, kdy dochází ke strukturální změně genomu. (Woodhouse et al., 2009).

3.2 Aneuploidie u rostlin

Změny počtu chromozomů z diploidní sady lze rozdělit na dva typy: aneuploidní a polyploidní. Rozdíl mezi polyploidii a aneuploidii spočívá v tom, že polyploidie označuje duplikaci celého genomu a aneuploidie označují nevyváženou ztrátu nebo zisk jednotlivých chromozomů. Oproti polyploidii má aneuploidie také větší vliv na fenotypové abnormality (Huettel et al., 2008). Vznik aneuploidních jedinců je nejspíš zapříčiněna selháním rovnoměrného rozdělení sady více chromozomů v meióze. Rostliny jsou v porovnání se zvířaty mnohem tolerantnější vůči aneuploidii. Rostliny nesoucí více než jeden chromozom mohou být životaschopné a také jsou schopné produkovat životaschopné potomky (Henry et al., 2010). Aneuploidie je běžně pozorována u mnoha rostlin, jako je například křídlatka, banánovník (*Musa*) nebo huseníček rolní (*Arabidopsis thaliana*) (Roux et al., 2003; Henry et al., 2010; Bailey et al., 2009). Ztráta nebo zisk chromozomu, je běžným výsledkem hybridizace (Bendixsen et al. 2021).

Aneuploidie je považována za vývojově škodlivý účinek (Huettel et al., 2008). Negativním účinkem aneuploidie může být dysregulace genové exprese, která je často pro buňky škodlivá. Avšak u některých buněk jsou aneuploidie dobře tolerovány a mohou poskytnout rychlé adaptivní fenotypy za různých stresových podmínek, jako jsou například vysoké teploty (Bendixsen et al. 2021).

3.3 Průtoková cytometrie

Průtoková cytometrie (Flow cytometry, FCM) je moderní a perspektivní metoda používaná v mnoho biologických oborech. Průtoková cytometrie nabízí spoustu výstupů jako je například stanovení obsahu jaderné DNA, určení ploidie, studium genomové exprese, počítání a určení typu krevních buněk, detekci a charakteristiku mikroorganismů, analýzu buněčného cyklu atd. Veškeré měření probíhá v pohybu a zaznamenávají jsou vybrané optické vlastnosti jednotlivých částic, z nichž nejčastěji bývá intenzita fluorescence. Před vlastním měřením se zvolí správné fluorescenční barvivo, u kterého je nutné, aby se zvolená látka vážala specificky a kvantitativně, poté se na dvoušroubovice DNA toto barvivo naváže. Pakliže se fluorescenční barvivo ozáří světlem vhodné vlnové délky, dojde k excitaci.

Samotný excitovaný stav je pak nestabilní a elektrony se vrací zpět do původního, základního stavu. Tento přechod bývá doprovázen uvolněním tepelné a světelné energie, část energie se ztrácí v podobě tepla, vyzářené světlo má delší vlnovou délku než původní excitační záření. Z tohoto důvodu musí být zvolena správná kombinace filtrů, který obě záření oddělí a následně je možné fluorescenci pomocí průtokové cytometrie měřit. Základní součásti průtokového cytometru jsou průtokové komůrky, zdroj excitačního světla, optická soustava, soubor fotonásobičů a zesilovačů a část počítačová. Jádrem přístroje je vybaveno průtokovou komůrkou, jejímž cílem je vyrovnat a seřadit analyzované částice tak aby šla jedna za druhou. V průtokové cytometrie se využívají dva zdroje světla: lasery a vysokotlaké rtuťové výbojky. Výstup průtokové cytometrie je histogram zobrazující relativní intenzitu fluorescence jednotlivých izolovaných částic (Suda, 2005).

3.4. Invazní rostliny

Biologickou invazi lze definovat jako překonávání bariér při šíření druhů, od geografických přes environmentální až po reprodukční (Pyšek et al., 2008). Historicky první zmínka o nepůvodních rostlinách je datována roku 1855 Alphonsem de Candolle, který ve svém fytografickém díle uvedl, že zavlečené druhy často patří do rodů, které se v původní floře nevyskytují. Zásadním rozlišovacím faktorem, zda se jedná o původní či cizí druhy je, že daný taxon je přítomen kvůli lidské činnosti. Za původní druhy se považují ty taxony, které osídlují danou oblast bez pomoci člověka, pomocí přirozených prostředků, například migrace, expanze areálu nebo rozšíření areálu. Oproti tomu za cizí druhy se považují ty, které se nachází v dané oblasti pomocí lidské činnosti, a to jak úmyslným, tak neúmyslným zásahem člověka (Pyšek et Richardsdon, 2006). Nejčastěji byly nepůvodní druhy na nová stanoviště zavlečeny za účelem hospodářského využití nebo jako okrasné rostliny (Marková et Hejda, 2011).

Invazní rostliny se velice dobře šíří a často produkují vysoká množství biomasy, čímž vytváří monotónní porosty s minimální biodiverzitou (Richardson et al., 2000). Typická vlastnost je silná kompetiční schopnost, čímž dochází k vytlačování původních druhů a tím i na tato společenstva vázaných organismů (Pyšek et all., 2008). Invazní nepůvodní rostliny ohrožují nejen diverzitu původních druhů a degradují společenstva na

velkých plochách, ale mají také dopad na hospodářský průmysl (Hejda et Pyšek, 2018). Invazní rostliny mají velice nepříznivý dopad na původní ekosystém, mění vlastnosti celých ekosystémů, ohrožují biodiverzitu a také mohou mít vliv na ekonomické ztráty. Negativním dopadem na hospodářský průmysl je plošná invaze eurasijských trnitých nebo jinak nepoživatelných druhů, které znehodnocují pastviny a celou biodiverzitu (Hejda et Pyšek, 2018). Veškeré tyto negativní následky invazních rostlin lze zmírnit kontrolou, omezováním a likvidací. Odhaduje se, že ve státech Evropské unie se ročně vynaloží zhruba 60 miliard korun na náklady spojené pouze s likvidací křídlatek (Avex, 2021).

Předpokládá se, že do budoucna bude mít velký vliv na invazi rostlin globální oteplování. Klimatické změny ovlivňují fyziologické procesy a růst rostlin, proto lze předpokládat, že změna klimatu bude mít vliv na to, které invazní rostliny budou úspěšné (Pyšek et al., 2008).

3.4.1 Charakteristika invazních rostlin

Proto, aby se rostliny staly potenciálně úspěšným invazním druhem a mohly kolonizovat nové stanoviště, musí sdílet jednu nebo více stejných vlastností. Mezi tyto vlastnosti patří rychlý růst, vysoká reprodukce semen a jejich šíření, odolnost vůči široké škále prostředí, agresivní a plodné vegetativní rozmnožování, spojení s lidmi nebo lidskou činností (Rangelands gateway, 2023).

První přichozí rostlina musí iniciovat vznik nové populace. Například druhy, u kterých se izolovaní jedinci mohou samooplodit, jsou obecně dobrými kolonisty. Další fáze invaze je specifikována vytvořením životaschopné soběstačné populace. Teorie životních dějin předpokládá, že by měl být určitý kompromis mezi rychlou reprodukcí a konkurenceschopností, ačkoli tato teorie nemusí platit pro všechny invazní druhy. Konkurenční schopnost je další vlastnost, která poskytuje výhodu pro invazi druhů během šíření. Pro úspěšné osídlení nového území je potřeba dostatečné šíření semen, čemuž napomáhají rozptylovací činitele. Mezi nejčastější rozptylovací činitele semen patří vítr, voda a zvířata, nejčastěji ptáci. Tato disperzní činidla nejen odsunují semena od rodičovských rostlin, ale také mohou semena šířit na podobná místa, čímž zvyšují pravděpodobnost přežití semenáčků (Sakai et al., 2001). Introdukovaný druh často nemá na nově kolonizovaném stanovišti

přirozené predátory, proto je schopen se rychleji a agresivněji šířit (Marková et Hejda, 2011). Invazním rostlinám také prospívá disturbance, která poskytuje vhodná místa pro klíčení a usazování rostlin, zvyšuje přísun světla a dostupnost živin, které zvyšují přežití a růst. Disturbance též zvyšuje možnosti vegetativního šíření rostlin (Harrington et al., 2003).

Invazní rostliny jsou ukázkovým příkladem rychlé evoluce. K rychlé evoluci dochází pravděpodobně kvůli genetickým procesům během invaze, které zvyšují genetickou variabilitu nebo směrovou selekci vyvíjenou abiotickými nebo biotickými faktory. Rychlost adaptivní evoluce je určena selekcí a dědičností (Muller-Scharer et al., 2004)

3.5 Invazní taxony rodu *Fallopia* (syn. *Reynoutria*)

Taxonomické zařazení skupiny je poměrně nejasné. Především zahraniční autoři častěji preferují zařazení mezi opletky (*Fallopia*), naopak v České republice se autoři dříve přikláněli víc k rodu křídlatka (*Reynoutria*) (Holub, 1971). Nicméně tento trend se mění, v poslední době se u nás autoři přiklání spíše k rodu opletky (Berchová-Bímová et Mandák, 2008). V minulosti taxonomické zařazení skupiny procházelo značným vývojem (Bailey et al. 2007), díky tomuto vývoji se dospělo k závěru, že křídlatky spadají do rodu *Fallopia*, sekce *Reynoutria*, což může být jeden z aspektů proč se i u nás začalo preferovat zařazení do rodu *Fallopia*.

Křídlatky jsou v Evropě zastoupeny čtyřmi taxony, včetně dvou variet křídlatky japonské: křídlatka japonská (*F. japonica* var. *japonica*) a křídlatka tuhá (*F. japonica* var. *compacta*), dále se zde vyskytuje křídlatka česká (*F. ×bohemica*) a křídlatka sachalinská (*F. sachalinesis*). Křídlatka česká vznikla jako kříženec křídlatky japonské var. japonské (dále jen jako křídlatka japonská) a křídlatky sachalinské. Křídlatky pocházejí z východní Asie a do Evropy byly zavlečeny v polovině devatenáctého století jako okrasné rostliny. V současné době křídlatky kolonizují široké škály stanovišť od urbánních po přírodní, nalezneme je zejména podél břehů řek (Mandák et al. 2003). Zatímco křídlatka tuhá a rdesno mnohokvěté (*F. multiflora*) nepředstavují pro ekosystém v Evropě velkou hrozbu, ostatní taxony jsou považovány za extrémně problematické invazní nepůvodní druhy (Mereďa et al. 2019). Například křídlatka česká, která má s největší pravděpodobností původ v Evropě (datum i místo vzniku tohoto křížence zůstává stále

neznámé), se řadí mezi křídlatky s nejvyšší rychlostí šíření semen a nejvyšší schopností regenerace. Křídlatka česká je konkurenčně zdatnější než rodičovské druhy a díky tomu je považována za nejagresivnější taxon mezi křídlatkami (Cvachová et al., 2002). Hybrid křídlatka česká má ze všech křídlatek nejvyšší genetickou variabilitu, což je pravděpodobně zapříčiněno sexuální reprodukcí s rodičovskými druhy generující nové genotypy (Bailey et al., 2009).

Křídlatka česká, křídlatka japonská i křídlatka sachalinská jsou schopny osídlivat rozmanitou škálu půdních typů, a to ve výších i nižších nadmořských výškách. Každý z těchto tří taxonů však více či méně preferuje odlišná stanoviště. Porovnání těchto tří taxonů v České republice (Mandák et al., 2004) ukázalo, že nejběžnější výskyt křídlatky české a křídlatky japonské je podél silnic a vodních toků, přitom ale křídlatka česká roste častěji v okolí silnic a křídlatka japonská v okolí vodních toků. Křídlatka sachalinská se také často vyskytuje kolem silnic, s porovnáním s předchozími dvěma taxony však mnohem více kolonizuje stanoviště, na kterých byla původně vysazována, jako jsou zahrady a parky, kde plnila funkci okrasné rostliny.

Křídlatka česká byla poprvé popsána v roce 1983 v Československu (Chrtěk a Chrtková). Tento hybrid byl dlouho přehlížen. Ačkoli první záznam byl doložen už v roce 1872 v Manchestery v Anglii, tento vzorek byl původně mylně označen jako *Primula sieboldii*, později byl však identifikován jako křídlatka česká. V roce 1911 byl jeden z exemplářů ze zahrady Charlese Baileyho v Cleeve Hill poblíž Cheltenhamu identifikován jako křídlatka česká, tento exemplář pochází původně ze Smith's pěstitelské školky. To je důkazem že tato pěstitelská školka dodávala hybrid již velice brzy (Bailey et Conoly, 2000). K hybridizaci mohlo dojít v pěstitelských školách, botanických či soukromých zahradách nebo i spontánně z naturalizovaných rostlin.

Historie křídlatky japonské začíná v osmnáctém století, kde byla v roce 1777 popsána jako *Reynoutria japonica* (Houtt.). Jako jeden z hlavních faktorů rozšíření křídlatky japonské do celé Evropy je považována Sieboldova pěstitelská školka v Liedenu, kde byla křídlatka aktivně prodávána a propagována botanickým zahradám (Bailey et Conoly, 2000). Ve svém původním areálu v Japonsku, roste křídlatka japonská na sopečném popelu a lávovém příkrovu (Bailey et al., 2008).

Křídlatka sachalinská je původem z Japonska a ostrova Sachalin. Přes to že křídlatka sachalinská není tak invazní jako předchozí zmíněné dva taxony, stále se jedná o invazní rostlinu skopnou klonální i sexuální reprodukce. Mimo své invazní hrozby, také poskytuje pyl pro samčí křídlatku japonskou tvořící hybrida křídlatku českou (Pashley et al., 2007). Stále častěji se vyskytuje v břehových koridorech po celé Severní Americe a Evropě, tvoří vysoké, husté porosty, které lze jen velice obtížně vymýtit (Urgenson et al. 2009). Křídlatka sachalinská byla poprvé popsána a pojmenována F. Schmidtem v Maximowicz Primitiae Florae Amurensis (1859) (Bailey et Conoly, 2000).

3.5.1 Popis a morfologie

Pro identifikaci taxonů křídlatek je nejspolehlivějším faktorem tvar, velikost listu a povrch kutikuly. Křídlatka sachalinská má oproti ostatním taxonům největší listy a to až 40 cm dlouhé (obr. 1), jsou zelené až tmavozelené, měkké s hluboce srdcovitým základem a s velmi vrásčitým povrchem kutikuly. Lodyhy dorůstají až 4 m (obr. 2), jsou duté, přímé a v horní části větvené. V květenství mají husté lichoklasy až 6 cm dlouhé, květy jsou malé, zelenobílé, výjimečně žlutavé (Chrtek, 1990).



Obr. 1. List křídlatky sachalinské (Foto: Dana Michalcová, Pladius).

Obr. 2. Nadzemní výhony křídlatky sachalinské (Foto: Milan Chytrý, Pladius).

Křídlatky japonské jsou mnohem menší, listy jsou dlouhé jen 15 cm a maximálně 10 cm široké s hladkým povrchem (obr. 3), jsou zelené až světlezelené, tvar je zúžený v dlouhou špičku. Lodyhy jsou duté a dorůstají až do výšky 2,5 m (obr. 4). Květenstvím je lata mnohokvětých lichoklasů složených z malých bílých květů, vzácně slabě narůžovělých (Chrtek, 1990).



Obr. 3. Část stonku s listy a květy křídlatky japonské (Foto: Pavel Veselý, Pladius).
 Obr. 4. Nadzemní výhony křídlatky japonské (Foto: Dana Michalčová, Pladius).

Tím, že se u křídlatky české jedná o křížence dvou výše zmíněných druhů, lze ji snadno omylem zaměnit s rodičovskými druhy. Listy křídlatky české jsou střední velikosti (obr. 5), středně vrásčité a dorůstají délky až 23 cm o šířce až 20 cm, jsou zelené až světlzelené. Tvar listu je široce srdčitý a zašpičatělý nebo vybíhající v ostrou špičku. Lodyhy dosahují výšky 3 m, jsou duté a červeně skvrnité (obr. 6). Květy jsou malé, bílé, v latě mnohokvětých lichoklasů (Chrtek et Chrtková, 1983).



Obr. 5. Část stonku s listy a květy křídlatky české (Foto: Pavel Veselý, Pladius).
 Obr. 6. Nadzemní výhony křídlatky české (Foto: Jan Lukavský, Pladius).

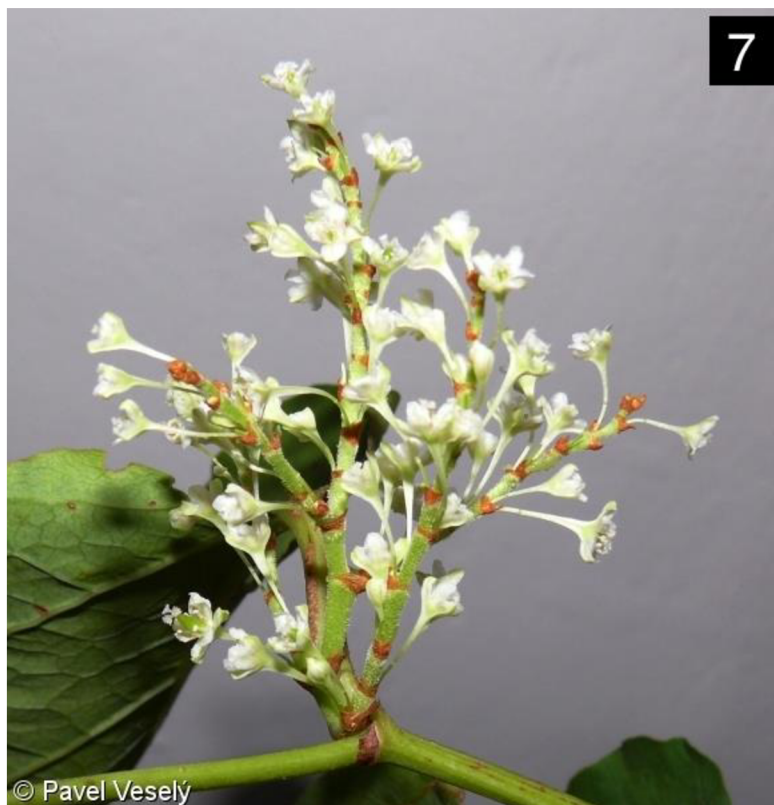
Pro zkoumání determinačních znaků se využívají stonkové listy, které jsou největší a plně vyvinuté, protože listy v květenství jsou u všech taxonů podobné jak tvarem, tak velikostí a stejně tak odění nemusí být dobře vyvinuté. Pro spolehlivé rozlišení se pozorují listové abaxiální trichomy. Křídlatka japonská má pouze jednobuněčné štětiny podél svých žil. Oproti

tomu křídlatka sachalinská má dlouhé štětiny tvořené až 14 buňkami. Křídlatka česká dosahuje středně dlouhých štětín s dvěma až čtyřmi buňkami (Bailey et al., 2009).

3.5.2 Rozmnožování

Křídlatka japonská je známa pro svou schopnost se agresivně šířit vegetativním rozmnožováním. Při vegetativním rozmnožování dochází k regeneraci oddenků a stonků, tím vznikají klony mateřské rostliny. Pro šíření křídlatek prostřednictvím fragmentace a klonování jsou důležitější oddenky než stonky. Nejvyšší regenerační potenciál má křídlatka česká a to 61 %. Za nejméně úspěšnou je považována křídlatka sachalinská s pouze 21 % regenerační úspěšností (Bimová et al., 2003). Klonálního množení má potenciál rychle kolonizovat nová stanoviště.

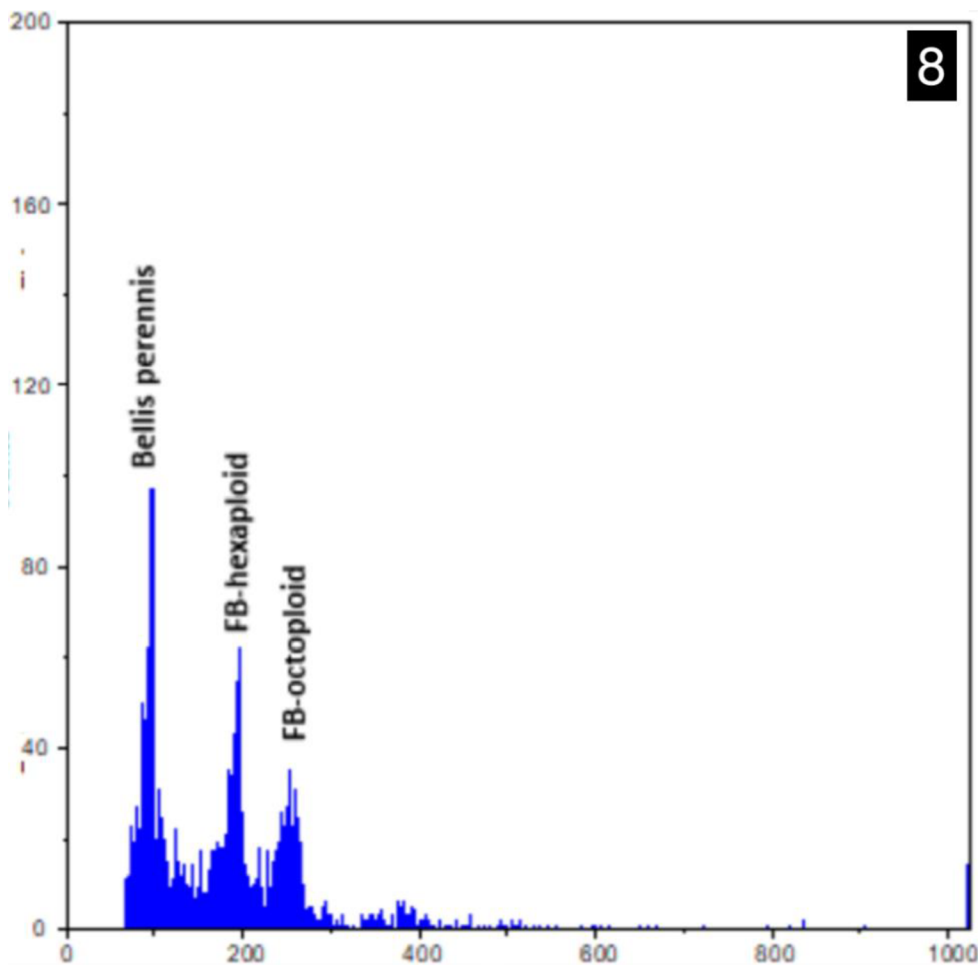
Tento druh se může také rozšiřovat semeny, ale v současnosti se nejedná o významný způsob reprodukce (obr. 7). Samotné pohlavní rozmnožování má výhodu vytvářet genotypovou diverzitu a zvyšuje schopnost druhů adaptovat se v nepřírodném prostředí (Tiébré et al., 2007). Semena křídlatky jsou charakterizována jako velice robustní semena, jsou životaschopná za různých nepříznivých podmínek (Forman et Kesseli, 2003). Prokázalo se, že úspěšnost klíčení je závislá na zralosti semene (Bailey et al. 2009). U křídlatky japonské nemůže docházet v sekundárním areálu k sexuální reprodukci v rámci variety druhu, zavlečena byla pouze samičí rostlina, k úspěšnému rozmnožování tak chybí donor pylu, proto se předpokládá, že se v nepůvodním vyskytuje pouze jeden klon (Hollingsworth at Bailey 2000). V roce 2016 bylo u křídlatky japonské v Polsku identifikováno až pět různých genotypů (Bzdęga et al. 2016). Taková variace může být způsobena vícenásobnou introdukcí a postintrodukčními mutacemi (Holm et al. 2017). Zanesením dalších blízce příbuzných druhů (samčí rostlina *F. sachalinensis*) se však mezi taxony umožnilo pohlavní rozmnožování a tím také vznik nových hybridů, jako je křídlatka česká (Bailey et al., 2009). Křídlatka česká je schopna zpětného křížení s oběma rodiči, díky tomuto procesu hybrid vytváří vysokou genetickou diverzitu (Bailey et al., 2009).



Obr. 7. Květ křídlatky české (Foto: Pavel Veselý, Pladias).

3.5.3 Popis ploidních úrovní jednotlivých taxonů

Křídlatka česká se v Evropě nachází na třech ploidních úrovních: hexaploidní ($2n = 6x = 66$) (obr. 8), tetraploidní ($2n = 4x = 44$) a oktoploidní ($2n = 8x = 88$) (obr. 8). V kontinentální Evropě se vyskytuje nejčastěji jako hexaploidní, v Británii však dominuje tetraploidní typ. Tetraploidní hybrid je zcela plodný, zatímco hexaploidní hybrid má většinou nepravidelnou meiózu (Bailey et al., 2007).



Obr. 8. Ukázka ploidních úrovní taxonu křídlatky české v České republice (FB =křídlatka česká).

Křídlatka japonská se v Evropě vyskytuje pouze jako oktoploidní ($2n = 8x = 88$) cytotyp a dosud byly zaznamenány pouze samičí klony. Ačkoli ve svých původních oblastech se nachází také jako tetraploidní, hexaploidní a dekaploidní. Křídlatka tuhá je cytologicky jednotná, a to pouze v tetraploidní ($2n = 4x = 44$) podobě (Mandák et al., 2003). Oproti tomu křídlatka sachalinská vykazuje vysokou cytologickou variabilitu, nejčastěji se v Evropě vyskytuje na tetraploidní chromozomové úrovni ($2n = 4x = 44$), ale zřídka ji lze pozorovat také jako hexaploidní a oktoploidní, v přírodě se nacházejí obě aktivní pohlaví, a to samičí i hermafroditní (Mandák et al., 2004).

3.5.4 Křížení

Křídlatky jsou schopny úspěšného křížení mezi taxony, což může mít značný vliv na jejich genetickou a cytologickou variabilitu a také umožňuje vznik nových hybridních jedinců. Ve srovnání se svými rodiči mohou mít hybridní

jedinci různé úrovně zdatnosti. První hybrid, křídlatka česká, byl poprvé popsán v České republice (Chrtěk et Chrtková, 1983). Jedná se o křížence mezi křídlatkou sachalinskou a křídlatkou japonskou. Křídlatka japonská byla do Evropy zavlečena jako samičí sterilní klon, takže je zřejmé, že jakékoliv semeno muselo být nevyhnutelně hybridního původu. Křídlatka česká se vyskytuje ve třech ploidních úrovních. Nejběžnější, hexaploidní, křídlatka česká vznikla křížením mezi oktoploidní křídlatkou japonskou a tetraploidní křídlatkou sachalinskou. Tetraploidní křídlatka česká, která je již méně běžnou ploidní úrovní, je nejpravděpodobněji potomkem tetraploidní křídlatky sachalinské a tetraploidní křídlatky tuhé. Přesný původ oktoploidní křídlatky české je však nejasný. Pravděpodobně je produktem fúze neredukovaných gamet. Další možností vzniku oktoploidní křídlatky české je autopolyploidizace tetraploidní křídlatky české (Mandák et al., 2003). Křídlatka česká se také může zpětně křížit s rodičovskými taxony. Přestože výsledek tohoto křížení většinou nemá vliv na životaschopnost potomků, jsou tyto kříženci obecně aneuploidní (Bailey 2013).

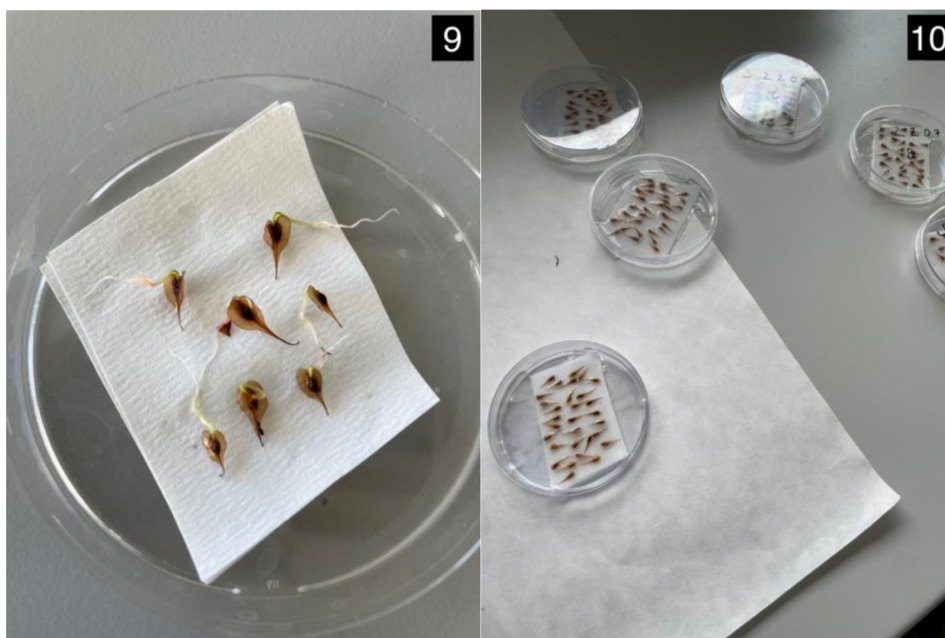
Mimo to, se křídlatky mohou křížit s příbuznými rostlinami z rodu *Fallopia* sekce *Pleuropterus*. Křídlatka japonská je schopná se křížit s opletkou čínskou (*Fallopia aubertii*, syn. *Fallopia baldschuanica*), čímž vzniká hybrid *Fallopia ×conollyana* ($2n = 54$). Hybrid *F. ×conollyana* však zatím nepředstavuje žádnou hrozbu, protože dosud vyklíčila a usadila se jen nepatrná část potomstva (Bailey 2001). Kříženec křídlatky sachalinské a opletky čínské ($2n = 32$) má dlouhé, převislé a neurčité výhonky, které však kvetou jen zřídka. Pouze kříženec tetraploidní křídlatky české a opletky čínské je jediným hybridem, který pravidelně kvete (Bailey 2013).

4. Metodika

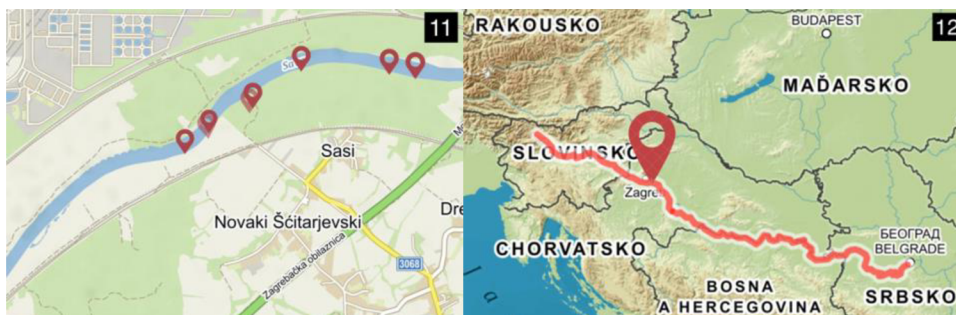
4.1. Sběr a klíčení semen

Na stanovení klíčivosti byla použita semena, která byla nasbírána v listopadu 2021 u povodí řeky Sávy (obr. 11, obr. 12). Semena byla odebrána ze tří křídlatek českých (jednalo se o všechny samičí rostliny, které se na lokalitách vyskytovaly, ostatní porosty byli samci bez semen) a jedné křídlatky japonské (na lokalitě byl nalezen pouze jeden porost), celkem bylo v experimentu použito 360 semen křídlatky české a 90 semen křídlatky japonské.

Pro simulaci zimního období byla semena skladována při 5 °C po dobu 6 týdnů. Semena byla poté inkubována v Petriho miskách na třívrstevném filtračním papíře, pravidelně vlhčeném destilovanou vodou (obr. 10). Semena byla udržována v simulovaném denním světelném režimu při teplotě 22 °C po 14 hodinách a poté 10 hodinách tmy při 15 °C. V každé Petriho misce bylo 30 semen ve třech opakováních (tzn. 90 semen z každé odebrané rostliny). Petriho misky se semeny byly náhodně rozmístěny v klimaboxu tak, aby nebyla ovlivněna různou dostupností světla. Všechna vyklíčená semena byla počítána, zaznamenávána a případně zavlažována každý druhý den po dobu 30 dní. Vyklíčená semena (obr. 9) byla odebrána z Petriho misky, zasazena do plastového květináče a uchována ve skleníku, po třech týdnech byla použita na stanovení velikosti genomu.



Obr. 9. Naklíčená semena v Petriho miskách na třívrstevném filtračním papíru.
Obr. 10. Průběh přípravy k experimentu s klíčením – semena v Petriho miskách na třívrstevném filtračním papíru.



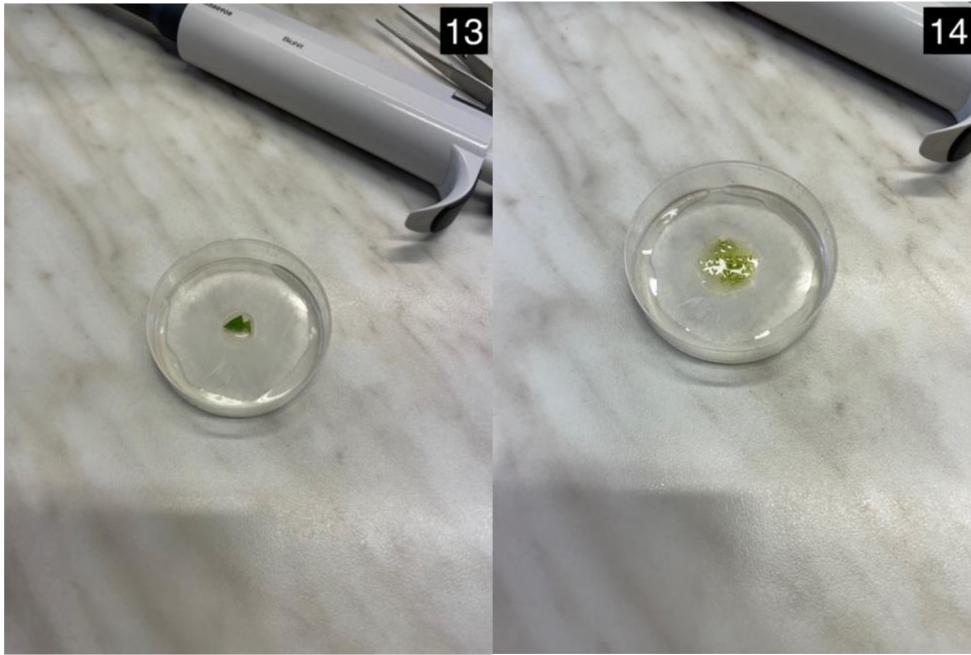
Obr. 11. Mapa části řeky Sávy poblíž Záhřebu s body ukazujícími místa odběru vzorků.
Obr. 12. Zařazení odběrových míst do kontextu celé řeky Sávy.

4.2 Statistická analýza

Pro testování rozdílů v klíčivosti semen byl použit Chí-kvadrát test (χ^2 test) na homogenitu kontingenční tabulky a vyhodnocen v matematickém softwaru R Studio. Test byl hodnocen na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. Výstupní grafy byly vytvořeny v programu excel.

4.3 Průtoková cytometrie

Pomocí průtokové cytometrie byla provedena analýza genomu v laboratoři botanického úřadu AV ČR. Na průtokovou cytometrii byly odebrány vzorky z devíti porostů křídlatek českých a jednoho porostu křídlatky japonské. Průtoková cytometrie byla založena na dvoustupňovém postupu s použitím pufrů Otto I a II (Otto 1990). Hodnoty velikosti genomu studovaného druhu byly porovnány s hodnotami rostlin se známým počtem chromozomů. Jako vnitřní referenční standard byla použita sedmikráska chudobka (*Bellis perennis*) a to z toho důvodu, že velikost genomu sedmikrásky (2C DNA = 33,38 pq) se blíží velikosti genomu studovaného druhu. FCM analýza byla provedena na čerstvých částech listu, 1 cm² listové tkáně ze studovaného druhu společně s 1 cm² listové tkáně sedmikrásky byl umístěn do Petriho misky obsahující 0,1 ml ledově vychlazeného Otto I pufru (0,1 monohydrát kyseliny citronové, 0,5% v/v Tween 20) (obr. 13) a následně rozsekán ostrou žiletkou a ponechán cca 90s (obr. 14, obr. 15). Následně byla suspenze přefiltrována pomocí nylonové sítky (42 μ m). Jádra ve filtrované suspenzi byla poté obarvena 1 ml pufru Otto II (0,4 M Na₂HPO₄ 0,12 H₂O) doplněného 1 ml zásobního roztoku DAPI (DAPI 10 mg rozpuštěného ve 100 ml H₂O) + 50 μ l β -merkapt ethanolu (2 μ L/ml). Každý ze vzorků byl inkubován při pokojové teplotě po dobu 10 minut a analyzován pomocí Sysmex-Partec CyFlow SL vybaveného zeleným pevnolátkovým laserovým průtokovým citometrem (532 nm, 100 mW výstupní výkon).



Obr. 13. Průběh zpracování vzorků na průtokovou cytometrii – listová tkáň sedmikrásky a křídlatky v Petriho misce s Otto I pufrem.

Obr. 14. Průběh zpracování vzorků na průtokovou cytometrii –nasekaná listová tkáň sedmikrásky a křídlatky v Petriho misce s Otto I pufrem.



Obr. 15. Průběh zpracování vzorků na průtokovou cytometrii – jádra v přefiltrované suspenzi.

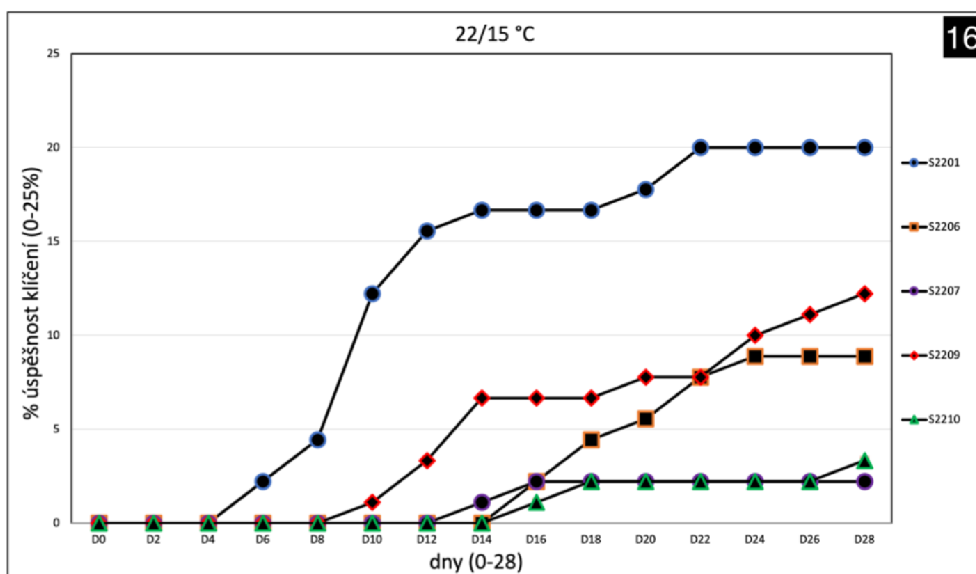
5 Výsledky

5.1 Stanovení klíčení

Výsledky prokázaly statisticky významný rozdíl (Chí-kvadrát test, X-squared = 13.591, df = 1, p-value = 0.0002272) v úspěšnosti klíčení studovaných taxonů. Výsledky ukazují výrazně úspěšnější klíčení u křídlatky japonské oproti křídlatce české. U křídlatky japonské z 90 semen vyklíčilo 18 semen, což je 20 % a v případě křídlatky české z 360 semen vyklíčilo pouhých 24 semen, tedy 6,86 % (obr. 16). U křídlatky japonské začala první semena klíčit již 6 den od zahájení experimentu, semena aktivně klíčila do 22. dne. Od 23. dne až do 28. dne, kdy byl experiment klíčení ukončen, nebyla již zaznamenána žádná naklíčená semena. Semena křídlatky české, oproti semenům křídlatky japonské, začala klíčit později, první naklíčená semena byla zaznamenána 10. den a aktivně klíčila až do ukončení experimentu, tedy do 28. dne. Pro přehlednost jsou data z experimentu klíčení prezentována níže v tabulce (tabulka 1).

Taxon	Počet rostlin, ze kterých byla odebrána semena	Počet testovaných semen	Počet vyklíčených semen	Výsledná klíčivost v %
Křídlatka česká	4	90	8	8,8
		90	11	12,2
		90	3	3,3
		90	2	2,2
Křídlatka japonská	1	90	18	20

Tabulka 1. Úspěšnost klíčení semen křídlatky české a křídlatky japonské nasbíraných v povodí řeky Sávy.



Obr. 16. Procentuální úspěšnost klíčení semen (S2201 = křídlatka japonská, S2206, S2207, S2209, S2210 = křídlatka česká).

5.2 Průtoková cytometrie semenáčků

Výsledky průtokové cytometrie ukázaly, že u všech testovaných semenáčků se jedná o aneuploidní hybridy (obr. 17). Výsledky velikosti genomu u křídlatky české nejsou tak významně odlišné, pohybují se v rozmezí velikostí od 9,9 pg do 11,42 pg. Oproti tomu výsledky velikosti genomu u křídlatky japonské se již lišily více a to od 7,46 pg až po 11,33 pg. Výsledky velikostí genomů u testovaných semenáčků jsou pro přehlednost uvedeny níže v tabulce (tabulka 2).

Taxon	Počet vzorků	Ploidie	Velikost genomu [pg]
Křídlatka česká	5	Aneuploidie	9,9
			10,43
			10,02
			10,91
			11,42
Křídlatka japonská	7	Aneuploidie	11,33
			11,22
			8,03
			8,55
			11,14
			8,51
			7,46

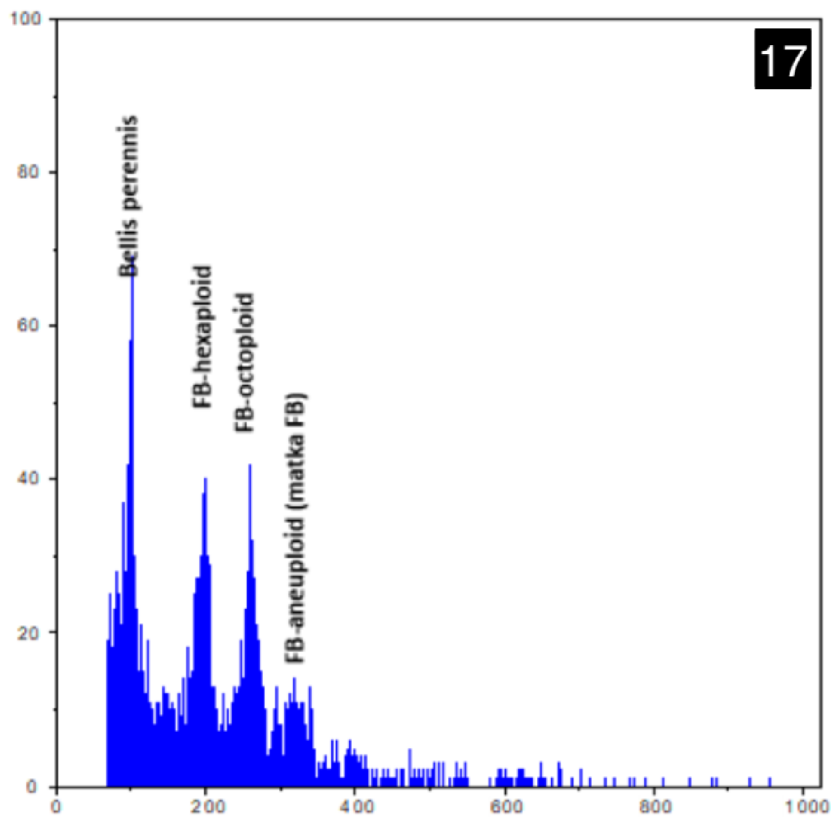
Tabulka 2. Velikost genomu vzorků semenáčků křídlatky české a křídlatky japonské z povodí řeky Sávý stanovené průtokovou cytometrií.

5.3 Průtoková cytometrie mateřských rostlin

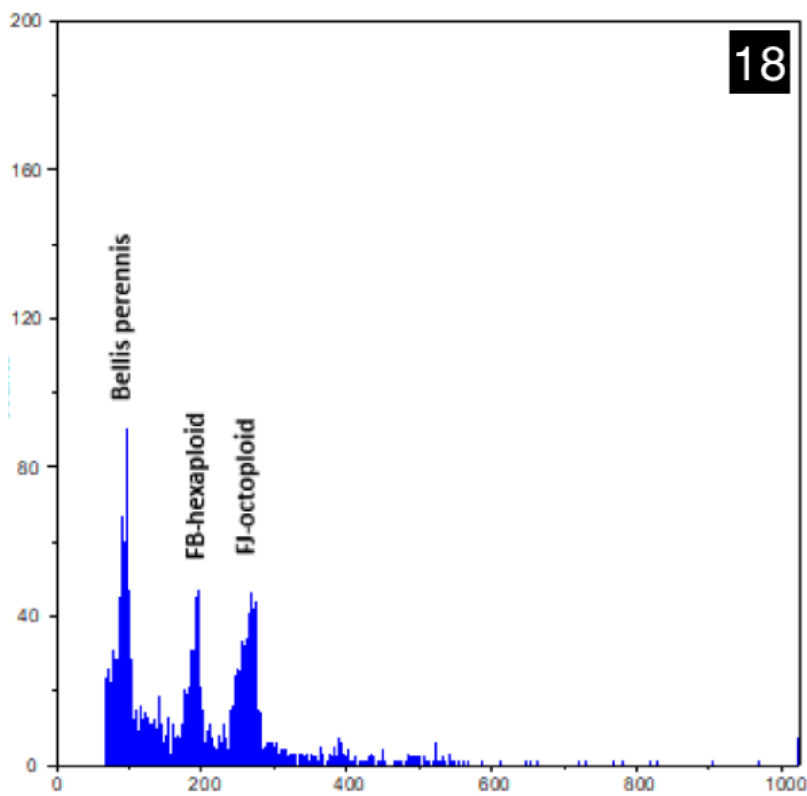
Výsledky průtokové cytometrie ukázaly, že se jedná o běžně se vyskytující typy ploidii (obr. 18). U jediné testované křídlatky japonské se jedná o oktoploid s velikostí genomu 9,25. V případě devíti studovaných vzorků křídlatky české, výsledky velikosti genomu nebyly významně odlišné, velikost genomu je v rozptylu od 6,61 do 6,89, jedná se tedy pouze o hexaploidy. Výsledky velikostí genomů u testovaných křídlatek jsou pro přehlednost uvedeny níže v tabulce (tabulka 3).

Taxon	Počet vzorků	Lokalita	Ploidie	Velikost genomu
Křídlatka česká	10	Chorvatsko	Hexaploid	6,89
				6,77
				6,77
				6,74
				6,88
				6,69
				6,61
				6,66
				6,73
Křídlatka japonská	1	Chorvatsko	Oktoploid	9,25

Tabulka 3. Velikost genomu vzorků křídlatky české a křídlatky japonské z povodí řeky Sávy stanovené průtokovou cytometrií.



Obr 17. Ukázka výsledků průtokové cytometrie křídlatky české – aneuploidie s porovnáním křídlatky české – hexaploid a křídlatky české oktoploid (FB = křídlatka česká).



Obr 18. Ukázka výsledků průtokové cytometrie křídlatky japonské – oktoploid a křídlatky české – hexaploid (FB = křídlatka česká, FJ = křídlatka japonské).

6. Diskuse

Hlavním cílem této bakalářské práce je popsat cytologickou variabilitu a klíčivost invazních rostlin rodu *Fallopia* včetně cytologické variability semenáčků, získaných ze semen sesbíraných v okolí řeky Sávy.

Přestože křídlatka česká i křídlatka japonská jsou známé především tím, že se dokážou agresivně šířit vegetativním rozmnožováním, je nutné zmínit i důležitou roli sexuální reprodukce, která může přispívat k vyšší genetické a cytologické variabilitě a tím i ke vzniku nových odolnějších genotypů, proto se tato práce kromě cytologické variability zaměřila i na stanovení úspěšnosti klíčení. Výsledky ukázaly, že větší míru úspěšnosti klíčení dosahuje křídlatka japonská než křídlatka česká. U křídlatky japonské byla zaznamenána 20% úspěšnost klíčení, zatímco u křídlatky české vyklíčilo pouze 6,86 % semen. K podobnému závěru došli také ve Slovinsku (Strgulc et Dolenc, 2015), kde ve svých výsledcích zaznamenali, že křídlatka japonská má vyšší úspěšnost klíčení v porovnání s křídlatkou českou. Oproti tomu při vegetativním rozmnožování je tomu naopak, úspěšnější regenerační potenciál má křídlatka česká (Bímová et al., 2003).

Je však nutné podotknout, že klíčení může být podmíněno více faktory, jako je například zralost semen (Bailey et al. 2009). Také je potřeba zmínit, že při umělém klíčení mají rostliny znatelně příznivější podmínky než ve volné přírodě.

Nejběžněji se vyskytující křídlatka česká v Evropě je hexaploid ($2n = 6x = 66$) (Bailey et al., 2007), což potvrzují i výsledky z průtokové cytometrie, kdy u všech 9 studovaných vzorků se prokázalo, že jde o hexaploidní rostliny. Hybrid křídlatky české se tedy nachází v Evropě převážně na hexaploidní úrovni, ale také byly pozorovány v menším počtu na oktaploidní a tetraploidní úrovni (Tiébré et al., 2007; Mandák et al., 2003). Zatímco hexaploidní křídlatka česká je nejběžnější v celé Evropě, tetraploidní křídlatka česká je mnohem běžnější v Británii než v Evropě (Bailey et Wisskirchen 2006). Důvodem, proč se v Evropě nenachází tetraploidní křídlatka česká tak běžně jako v Británii, může být způsobeno vyšším výskytem křídlatky tuhé na ostrovech (Bailey et al., 2007).

Křídlatka japonská je v Evropě cytologicky jednotná tzn. vyskytuje se jen jako oktaploid (Mandák et al., 2003), což také potvrzují výsledky průtokové cytometrie, kdy byla u vzorku k. japonské zjištěna pouze oktaploidní úroveň

($2n = 8x = 88$). To, že je křídlatka japonská cytologicky jednotná, potvrzují například výsledky ze Slovenska, Belgie nebo České republiky (Meredá et al., 2019; Tiébré et al., 2007; Mandák et al., 2003).

Výsledky průtokové cytometrie u semenáčků křídlatky české a křídlatky japonské ukázaly, že u všech studovaných vzorků se jedná o aneuploidní jedince. Tyto ploidie byly u křídlatek identifikovány již dříve (Bailey et al., 2009; Tiébré et al., 2007). Tiébré et al. v Belgii (2007) stanovili ploidní úroveň u 34 vzorků křídlatky české a došli k závěru, že většina je hexaploidních, tři oktoploidní a jeden ze vzorků má aneuploidní počet chromozomů (44-67). Aneuploidie vzniká hybridizací pomocí zpětného křížení, má minimální dopad na životaschopnost rostlin a pokud by se úspěšně uchytili ve volné přírodě, mohly by se vegetativně šířit (Bailey et al., 2009). Vzhledem k tomu, že na stanovišti, kde byly studované vzorky odebírány, nebyla žádná opletka čínská zaznamenána, naznačuje to, že by se mohlo jednat o nové hybridní křížence.

Aneuploidie, zaznamenané pomocí průtokové cytometrie, by v případě vzniku nových hybridních kříženců, kteří by byli schopni se uchytili ve volné přírodě, mohly pro celosvětovou biodiverzitu představovat velkou hrozbu, jak se již v minulosti ukázalo u hybridního křížence křídlatky české. Hybridní jedinci mohou být vitálnější, rychleji se šířit a více odolávat ochranným prostředkům než jejich mateřské taxony. Této problematice by měla být věnována větší pozornost a křídlatky by měly být podrobeny větší kontrole.

Tato bakalářská práce hodnotí menší počet vzorků, proto neumožňuje zobecňovat ve vyšší míře. Studované vzorky byly zkoumány pouze z perspektivy jednoho stanoviště (oblast v okolí řeky Sávy), ale zjištění blízce korelují s mnoha dalšími výsledky z jiných lokalit (např. všechny testované rostliny měly běžné ploidní úrovně). Oproti tomu však semenáčky těchto rostlin vykazovaly nové ploidní varianty, což naznačuje, že ve volné přírodě semenáčky s největší pravděpodobností nepřežijí. Nicméně pro toto potvrzení, je třeba nasbírat více vzorků z více lokalit. V České republice byly například v povodí řeky Bečvy a Morávky nalezeny známky úspěšného generativního šíření křídlatky české, úspěšně uchycené semenáčky byly zaznamenány i ve Francii u řeky Isère (vysoká genetická variabilita porostu; Berchová et al., 2022).

Stejně tak by bylo potřebné, zaměřit se na to, jaký vliv by měly různé hodnoty teplot na úspěšnost klíčení semen. Dále se více věnovat příčině, z jakého důvodu hybridní kříženci zanikají.

7. Závěr

Z výsledků průtokové cytometrie u mateřských rostlin, odebraných na řece Sávě je zřejmé, že jak v případě křídlatky české, tak i v případě křídlatky japonské se jedná o nejběžněji se vyskytující ploidní úrovně těchto dvou křídlatek na území Evropy. Experiment, který se zabýval úspěšností klíčení semen křídlatky české a křídlatky japonské ukázal, že křídlatka česká oproti křídlatce japonské má nižší úspěšnost klíčení, což koreluje s jinými výsledky experimentů, které se zabývaly úspěšností klíčení těchto dvou křídlatek. Výsledky průtokové cytometrie u semenáčků ukázaly, že u všech studovaných rostlin křídlatky japonské a křídlatky české se jedná o aneuploidie. Vzhledem k tomu, že opletka čínská (*Fallopia aubertii*) nebyla pozorována na lokalitě, přikláním k domněnce, že semena mohou být výsledkem zpětného křížení na lokalitách. Pomocí tohoto procesu by mohlo dojít k vytvoření nových hybridních kříženců, odolnějších než mateřské taxony, kteří by se mohli dále šířit na nové lokality. Tyto nově vzniklé hybridní kombinace by mohly lépe odolávat managementu a mohly by představovat větší hrozbu pro biodiverzitu, proto je důležité se této problematice dále věnovat a provádět rozборы dalších porostů.

8. Přehled literatury a použitých zdrojů

Odborné publikace:

AVEX 1/2021: invazní druhy: riziko pro krajinu i kvalitu života lidí, květen 2021.

Bailey J.P., 2001: *Fallopia x conollyana*, the railway-yard knotweed. *Watsonia* 23: 539–541.

Bailey J.P., 2013: The Japanese knotweed invasion viewed as a vast unintentional hybridisation experiment. *Heredity* 110:105–110.

Bailey J.P., Bímová K., Mandák B., 2007: The potential role of polyploidy and hybridisation in the further evolution of the highly invasive *Fallopia taxa* in Europe. – *Ecol. Res.* 22: 920–928.

Bailey J.P., Bímová K., Mandák B., 2009: Asexual spread versus sexual reproduction and evolution in Japanese Knotweed s.l. sets the stage for the 'Battle of the Clones'. *Biol Invasions*. 11: 1189–1203.

Bailey J.P., Conolly A. P., 2000: Prize-winners to pariahs: A history of Japanese Knotweed s. l. (*Polygonaceae*) in the British Isles. – *Watsonia* 23: 93–110.

Bailey J.P., Child L. E., Wade M., 1995: Assessment of the genetic variation of British populations of *Fallopia japonica* and its hybrid *Fallopia xbohemica*. – In: Pyšek P., Prach K., Rejmánek M. & Wade M. (eds), *Plant invasions: general aspects and special problems*, p. 141–150, SPB Academic Publishing, Amsterdam.

Bailey J.P., Wisskirchen R., 2006: The distribution and origins of *Fallopia x bohemica* (*Polygonaceae*) in Europe. *Nordic Journal of Botany*, 24, 173-200.

Bailey, J.P., Bímová, K., Mandák, B., 2008: Asexual spread versus sexual reproduction and evolution in Japanese knotweed s.l. sets the stage for the "battle of the clones." *Biol Invasions* 11:1189–1203.

Bendixsen D. P., Peris D., Stelkens R., 2021: Patterns of genomic instability in interspecific yeast hybrids with diverse ancestries. *Front. Fungal Biol.* 2, 52.

Berchová Bímová K., Kadlecová M., Vojík M., Evette A., Dommanget F., Martin F.M., Kutlvašr J. et Pergl J., 2022: Should reproduction mode in

knotweeds change the management approach? Poster presentation: Neobiota 2022 – 12th International Conference on Biological Invasions. - Kadlecová M., doktorandka České zemědělské univerzity, Fakulta životního prostředí, [ústní sdělení]. Praha, 28. 3. 2023.

Bímová K., Mandák B., Pyšek P., 2003: "Experimental Study of Vegetative Regeneration in Four Invasive Reynoutria Taxa (Polygonaceae)." *Plant Ecology*, 166.1, 1-11.

Bzdęga K., Janiak A., Książczyk T., Lewandowska A., Gancarek M., 2016: A survey of genetic variation and genome evolution within the invasive *Fallopia* complex. *PLoS ONE* 11: 1–23.

Comai Luca, 2005: The advantages and disadvantages of being polyploid. *Nature Reviews Genetics* 6, 838-845.

Crow K. D., Wagner, G. P., 2005: What is the role of genome duplication in the evolution of complexity and diversity? *Mol. Biol. Evol.* 23, 887–892.

Cvachová A., Chromý P., Gojdičová M., Lekovjanská A., Pietorová E., Šimková A., Zaliberov M., 2002: Příručka pro určování vybraných invazních druhů rostlin, ŠOP SR, Banská Bystrica, 62 s.

Doyle J. J., Flagel L. E., Paterson A. H., Rapp R. A., Soltis D. E., Soltis P. S., et al., 2008: Evolutionary genetics of genome merger and doubling in plants. *Annu. Rev. Genet.* 42, 443–461.

Forman J., Kesseli R.V., 2003: Sexual reproduction in the invasive species *Fallopia japonica* (Polygonaceae). *Am J Bot* 90:586–592.

Harrington R.A, Kujawski R., Ryan H.D.P., 2003: Invasive plants and the green industry *J. Arboric.*, 29 (2003), pp. 42-48.

Hejda M., Pyšek P., 2018: Environmentální a hospodářské důsledky rostlinných invazí. *Časopis ŽIVA* 5/2018: 220-225.

Henry, I. M., Dilkes, B. P., Miller, E. S., Burkart-Waco, D., Comai, L. 2010: Phenotypic consequences of aneuploidy in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics* 186, 1231–1245.

Hollingsworth M. L., Bailey J. P., 2000: Evidence for massive clonal growth in the invasive weed *Fallopia japonica* (Japanese Knotweed). *Bot J Linn Soc* 133:463–472.

- Holm A-K., Elameen A., Oliver B. W., Brandsæter L. O., Fløistad I. S., Brurberg M. B., 2017: Low genetic variation of invasive *Fallopia* spp. in their northernmost European distribution range. *Ecology and Evolution* 8: 755–764.
- Huettel, B., Kreil, D. P., Matzke, M. & Matzke, A. J. M., 2008: Effects of aneuploidy on genome structure, expression, and interphase organization in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genet.* 4, e1000226.
- Chrtek J., 1990: *Reynoutria Houtt.*, křídlatka. In: Hejný S., Slavík B., Hrouda L. & Skalický V. (eds.): *Květena ČR 2.* – Academia, Praha: 362–366.
- Kyriakidou M., Tai H. H., Anglin N. L., Ellis D., Stromvik M. V., 2018: Current strategies of polyploid plant genome sequence assembly. *Front. Plant. Sci.* 9 (2018), p. 1660.
- Mandák B., Pyšek P., Bímová K., 2004: History of the invasion and distribution of *Reynoutria taxa* in the Czech Republic: a hybrid spreading faster than its parents. – *Preslia*, Praha, 76: 15–64.
- Mandák B., Pyšek P., Lysák M., Suda J., Krachulcová A., Bímová K., 2003: Variation in DNA-ploidy levels of *Reynoutria taxa* in the Czech Republic – *Ann. Bot.* 92: 265-273.
- Marková Z., Hejda M., 2011: Invaze nepůvodních druhů rostlin jako environmentální problém. *Živa* 1/2011, 10-14.
- Mereďa, P., Koláriková, Z., Hodálová, I., 2019: Cytological and morphological variation of *Fallopia* sect. *Reynoutria taxa* (Polygonaceae) in the Krivánska Malá Fatra Mountains (Slovakia). *Biologia* 74, 215–236.
- Muller-Scharer, H., Schaffner, U., Steinger, T., 2004: Evolution in invasive plants: implications for biological control. *Trends Ecol. Evol.*, 19, 417–422.
- Pashley C.H., Bailey J.P., Ferris C., 2007: Clonal diversity in British populations of the alien invasive giant Knotweed, *Fallopia sachalinensis* (F. Schmidt) Ronse Decraene, in the context of European and Japanese plants. *Watsonia* 26:359–371.
- Pyšek P., Chytrý M., Pach K., 2008: Dvanáct let výzkumu rostlinných invazí v České republice a ve světě. Zpráva české botanické společnosti, rostlinné

invaze v České republice: situace výzkum a management. Česká botanická společnost, 3-15.

Pyšek P., Chytrý M., Pergl J., Sádlo J., Wild J., 2012: Plant invasions in the Czech Republic: current state, introduction dynamics, invasive species and invaded habitats. *Preslia* 84:575–629.

Pyšek, P., Richardson, D.M., 2006: The biogeography of naturalization in alien plants. *J. Biogeogr.*, 33, 2040–2050.

Richardson D. M., Pyšek P., Rejmánek M., Barbour M. G., Panetta F. D. & West C. J., 2000: Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions. – *Diversity Distrib.* 6: 93–107.

Sakai A.K., Allendorf F.W., Holt J.S., Lodge D.M., Molofsky J., With K.A., Baughman S., Cabin R. J., Cohen J.E., Ellstrand N.C., McCauley D. E., O'Neil P., Parker I.M., Thompson J.N., Weller S.G., 2001: The population biology of invasive species *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 32 (2001), pp. 305-332.

Sattler M.C., Carvalho C.R., Clarindo W.R., 2016: The polyploidy and its key role in plant breeding. *Planta* 243: 281–296.

Strgulc Krajšek S., Dolenc Koce J., 2015: Sexual reproduction of knotweed (*Fallopia* sect. *Reynoutria*) in Slovenia. *Preslia* 87:17–30.

Suda J., Trávníček P., Mandák B., Berchová-Bímová K., 2010: Genome size as a marker for identifying the invasive alien taxa in *Fallopia* section *Reynoutria*. *Preslia* 82:97–106.

Suda, J., 2005: Co se skrývá za rostlinnou průtokovou cytometrií. *Živa*, 53(1), 46-48.

Tayalé A., Parisod C., 2013: Natural pathways to polyploidy in plants and consequences for genome reorganization. *Cytogenet Genome Res* 140:79–96.

Tiébré M.S., Vanderhoeven S., Saad L., Mahy G., 2007: Hybridization and sexual reproduction in the invasive alien *Fallopia* (*Polygonaceae*) complex in Belgium. *Ann Bot* 99:193–203.

Urgenson L.S., Reichard S.H., Halpern C.B., 2009: Community and ecosystem consequences of giant knotweed (*Polygonum sachalinense*)

invasion into riparian forests of western Washington, USA. *Biological Conservation* 142: 1536–1541.

Internetové zdroje:

Pladias, ©2023: Databáze české flóry a vegetace (online) [cit.2023.02.02], dostupné z <https://pladias.cz>.

Rangelands gateway, ©2023: INVASIVE PLANTS Basics of Invasive Species (online) [cit.2023.02.15], dostupné z <https://rangelandsgateway.org/>.

Woodhouse M., Burkart-Waco D., Comai L., 2009: Polyploidy: Polyploids are common among plants, as well as among certain groups of fish and amphibians. How does this interesting condition crop up, and what advantages and disadvantages does it impart? (online) [cit.2022.12.11], dostupné z <https://www.nature.com/scitable/>.

9. Přílohy