

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

FAKULTA LESNICKÁ A DŘEVAŘSKÁ

Katedra ekologie lesa



DIPLOMOVÁ PRÁCE

**Morfometrická analýza populací barvínku menšího
(*Vinca minor*)**

Morphometric analyse of *Vinca minor* populations

Kristýna Adámková

Vedoucí práce: Mgr. Petr Karlík

Praha 2015

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Katedra ekologie lesa

Fakulta lesnická a dřevařská

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Kristýna Adámková

Lesní inženýrství

Název práce

Morfometrická analýza populací barvínku menšího (*Vinca minor*)

Název anglicky

Morphometric analyse of *Vinca minor* populations

Cíle práce

Práce se bude zabývat stálezeleným stíntolerantním polokeřem barvínkem menším, který je významným kulturním reliktem indikujícím zaniklá sídla a který je využíván k fytoindikaci v rámci nedestruktivních metod oboru archeologie.

Cílem je přispět k poznání genetické variability a původu českých populací. Konkrétně bude např. testováno, zda jsou populace pocházející z určitého historického období navzájem podobnější, než lokality vzniklé v různých dobách.

Metodika

V rešeršní části práce bude studentka charakterizovat zkoumaný druh, s ohledem na jeho bioindikační schopnosti, populačně-biologické vlastnosti, obsahové látky a alelopatický vliv na ostatní rostliny.

Praktická část bude spočívat v morfologických měřeních rostlin ve stávající univerzitní sbírce. Budou využity metody jak klasické, tak i geometrické morfometrie, jmenovitě bude provedena obrysová analýza listů.

Doporučený rozsah práce

Minimálně 40 normostran textu bez příloh.

Klíčová slova

barvínek, fytoindikace, kulturní relikv, klonální růst, obrysová analýza

Doporučené zdroje informací

- Darcy A. J., Burkart M. C. (2002): Allelopathic potential of *Vinca minor*, an invasive exotic plant in west Michigan forests. *Bios* 73: 127-132.
- Ešnerová J., Karlík P., Zahradník D., Koňasová T., Stejskal J., Baláš M., Rašáková N., Stacho J., Vítámvás J., Lukášová M., Kuneš I. (2012): Morfologická variabilita rodu bříza (*Betula* L.) v Krkonoších se zaměřením na tetraploidní zástupce. [Morphological variability of birch genus (*Betula* L.) in the Krkonoše mts with focus on the tetraploid taxa.] *Zprávy lesnického výzkumu* 57(2): 112-125.
- Ešnerová J., Vítámvás J., Koňasová T., Kolář F., Baláš M., Karlík P., Zahradník D., Krížová M., Stacho J., Rašáková N., Stejskal J., Kuneš I. (2013): Využití obrysových analýz při sledování morfologické variability listů rodu bříza (*Betula* L.). *Zprávy lesnického výzkumu* 58 (2): 107-114.
- Hejncman M., Karlík P., Ondráček J., Klir T. (2013): Short-term medieval settlement activities irreversibly changed forest soils and vegetation in Central Europe. *Ecosystems* 16: 652-663.
- Nová J., Karlík P. (2010): Vegetace zaniklých středověkých vesnic Kozelského polesí (Plzeňsko). [Vegetation of deserted medieval villages in the Kozel forest district (Pilsen region)] *Zprávy Čes. Bot. Společ., Praha*, 45: 93-117.
- Prange W. (1996): Das Kleine Immergrün (*Vinca minor* L.) in Westdeutschland eine Kulturreliktpflanze aus römischer Zeit. *Schr. Naturwiss. Ver. Schlesw. Holst.* 66: 71-96.
- Slavík B. (2000): Apocynaceae Juss. toješťovité, In: Slavík B. (ed.): *Květena ČR* 6. Academia, Praha: 103-121.

Předběžný termín obhajoby

2015/06 (červen)

Vedoucí práce

Mgr. Petr Karlík

Elektronicky schváleno dne 17. 6. 2014

doc. Ing. Miroslav Svoboda, Ph.D.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 1. 8. 2014

prof. Ing. Marek Turčáni, Ph.D.

Děkan

V Praze dne 24. 03. 2015

"Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma Morfometrická analýza populací barvínku menšího (*Vinca minor*) vypracovala samostatně pod vedením Mgr. Petra Karlíka a použila jen prameny, které uvádím v seznamu použitých zdrojů.

Jsem si vědoma, že zveřejněním diplomové práce souhlasím s jejím zveřejněním dle zákona č. 111 / 1998 Sb. o vysokých školách v platném znění, a to bez ohledu na výsledek její obhajoby."

V Praze dne 18. 4. 2015

.....

Podpis autora

Poděkování:

Touto cestou bych chtěla poděkovat Mgr. Petrovi Karlíkovi za cenné rady a dobrou spolupráci při zpracování diplomové práce a své rodině a přátelům za velkou podporu při studiu na vysoké škole.

ABSTRAKT

Vinca minor neboli barvínek menší je stálezelená rostlina, vyskytující se převážně na území střední Evropy. Běžně se vyskytuje v lesích, parcích a zahradách a pro svou schopnost růstu na lokalitách s různým zastíněním zůstává na těchto stanovištích i po opuštění sídel. Klonální růst jí zajišťuje nepřetržitý růst a díky alelopatickému vlivu na okolní rostliny vytváří pro svůj organismus ideální podmínky. Díky schopnosti přetrvání na původních lokalitách je využíván barvínek v nedestruktivní archeologii jako ukazatel zaniklých středověkých vesnic. Vzhledem k podmínkám, které musí barvínek splňovat, aby se výsledky daly pokládat za směrodatné, se k tomuto bádání přistupuje s určitou rezervou. Pro objasnění významu barvíneku v tomto odvětví se provádí morfometrické měření společně podložené genetickou analýzou u vybraných vzorků ze střední Evropy (32 vzorků), aby se potvrdila nebo vyvrátila příbuznost jednotlivých rostlin na různých lokalitách. Cílem práce bylo zjistit, zdali se jedná o jeden klon, který se množí vegetativně, nebo o rostliny geneticky variabilní. Pomocí ISSR metody byly vylíšeny dva clustry, kdy jeden byl zcela homogenní (klon) a vykazoval menší variabilitu listů. Druhý cluster obsahoval geneticky odlišné rostliny s více protáhlými listy a delšími stonky. Na základě těchto výsledků je zřejmé, že cluster 2 může vykazovat fytoindikační schopnosti v zaniklých vesnicích. Další analýzy, které byly v práci použity, byly zaměřeny na všechny rostliny vyskytující se v experimentální sbírce. Byla provedena prostorová analýza dat rostlin z původního výskytu rostliny, na základě kterých bylo dále provedeno statistické vyhodnocení korelací s růstovými vlastnostmi rostliny. Z těchto výsledků se dalo poté odvodit, jaké prostorové vlastnosti mají vliv na růst rostliny. Dále byla porovnána dvě vegetační období mezi sebou a určeny odchylky ve velikosti listů v jednotlivých obdobích. Důvodem porovnávání těchto dvou hodnot byla eliminace působení mateřské lokality, které se projevilo v květnovém měření. V prosincovém měření už měly rostliny shodné podmínky a listy by měly vykazovat odlišnosti v růstu podmíněné geneticky, ne prostředím.

Klíčová slova: Barvínek, fytoindikace, kulturní relik, klonální růst

ABSTRACT

Vinca minor is a conifer plant, occurring predominantly on the territory of central Europe. Commonly occurs in forests, parks and gardens and for its ability to grow on sites with different shadow remains on these habitats, even after the abandonment of the settlements. Clonal growth it ensures continuous growth and thanks to the allelopathic impact on the surrounding plants creates for your body ideal conditions. Thanks to the ability of a continuation of the original locations is used periwinkle in the non-destructive archaeology as an indicator of the defunct medieval villages. Accesses to this, however, with some caution due to the conditions that must periwinkle comply with in order to have the results be considered as authoritative, such as the current layer of the soil must be as close as possible to the object, in order to maintain the soil properties. For clarification of the meaning of *Vinca minor* in this sector is carried out morphometric measurement jointly supported by the genetic analysis of selected samples from central Europe (32 samples), to confirm or refute the affinity of the individual plants at different locations. The aim then was to find out whether this is a one clone, which is vegetative propagation, or on plants genetically variable. Using ISSR methods have been selected two clusters, when one was completely homogeneous (clone) and showed a less variability of the sheets. The second cluster contained the genetically different plants with more elongated leaves and longer stems. On the basis of these results it is obvious that the cluster of the two may have phytoindication skills on the deaths of the villages. Other analyzes that were used in the work, were focused on all plants occurring in experimental collection. Performed with spatial data analysis from the original plant of the plant on which statistical evaluation was performed correlations with the growth properties of the plants. From these results could then deduce what spatial properties have an effect on plant growth. Furthermore, comparing the two growing seasons among themselves and determine the variation in size of leaves in each period. The reason for comparing these two values was that it eliminated the effect of the parent site, which appeared in the May measurement. In the December measurement plants already had the same conditions and leaves should reflect differences in growth determined genetically, not the environment.

Keywords: *Vinca minor*, cultural relic, phytoindication, clonal growth

OBSAH

1.	SEZNAM TABULEK, OBRÁZKŮ A GRAFŮ.....	10
1.1	Seznam obrázků	10
1.2	Seznam tabulek.....	10
1.3	Seznam grafů	11
2.	ÚVOD A CÍLE PRÁCE	12
3.	LITERÁRNÍ PŘEHLED.....	14
3.1	Taxonomie druhu.....	14
3.2	Morfologie.....	14
3.3	Populačně biologické vlastnosti	15
3.4	Ekologie barvínku menšího	17
3.5	Areál rozšíření	18
3.6	Obsahové látky	19
3.7	Alelopatický vliv na ostatní rostliny	20
3.8	Geobotanická indikace v nedestruktivní archeologii	21
4.	METODIKA	23
4.1	Sběr dat.....	23
4.2	Popis lokalit pomocí ArcGis programu	24
4.3	Morfometrické měření.....	26
4.4	Genetická variabilita.....	27
4.5	Vyhodnocení dat pomocí programu STATISTIKA	28
5.	VÝSLEDKY	31
5.1	Podsoubor 32 vzorků, kde byla provedena genetická analýza ISSR	31
5.1.1	Genetická variabilita v porovnání s morfometrickými daty	33
5.1.2	Analýza v programu STATISTIKA	33
5.1.3	Porovnání morfometrických dat z května a prosince.....	34
5.2	Celý datový soubor tvořený 86 vzorky	37

5.2.1	Analýza dat pomocí programu STATISTIKA.....	37
5.2.2	Porovnání morfometrických dat z května a prosince.....	48
6.	DISKUZE.....	53
6.1	Vliv prostředí na růstové vlastnosti barvínku.....	53
6.2	Rozsah sbírky barvínku v experimentální zahradě.....	54
6.3	Variabilita vzorků a vliv na klasifikaci zaniklých sídel.....	54
6.4	Okrasné kultivary a jejich variabilita	55
6.5	Zaniklé středověké vesnice a jejich výzkum.....	56
7.	ZÁVĚR	57
8.	LITERATURA	59
9.	PŘÍLOHY	62
9.1	Sbírka listů.....	62
9.2	Fotografie rostlin	90
9.3	Tabulky	95

1. SEZNAM TABULEK, OBRÁZKŮ A GRAFŮ

1.1 Seznam obrázků

- Obr. č. 1 Barvínek menší (Vinca minor)
- Obr. č. 2 Evropský areál rozšíření (MEUSEL 1987)
- Obr. č. 3 Kruh o poloměru 1 km, pomocí kterého se odvozovala lesnatost.
- Obr. č. 4 Výskyt rostlin vyznačený pomocí bodů na území ČR (1: 1 250 000) v programu ArcGis.
- Obr. č. 5 Krabicový graf délka listu s vysvětlující proměnnou Popis lokality.
- Obr. č. 6 Krabicový graf šířka listu s vysvětlující proměnnou Popis lokality.
- Obr. č. 7 Krabicový graf délka řapíku s vysvětlující proměnnou Popis lokality.
- Obr. č. 8 Krabicový graf poměr délka / šířka s vysvětlující proměnnou Popis lokality.
- Obr. č. 9 Krabicový graf délka listu s vysvětlující proměnnou Lesnatost.
- Obr. č. 10 Krabicový graf šířka listu s vysvětlující proměnnou Lesnatost.
- Obr. č. 11 Krabicový graf poměr délka / šířka listu s vysvětlující proměnnou Lesnatost.
- Obr. č. 12 Krabicový graf délka řapíku, s vysvětlující proměnnou Lesnatost.
- Obr. č. 13 Krabicový graf délka listu s vysvětlující proměnnou Vzdálenost osídlení.
- Obr. č. 14 Krabicový graf šířka listu s vysvětlující proměnnou Vzdálenost osídlení.
- Obr. č. 15 Krabicový graf poměr délka/šířka listu s vysvětlující proměnnou Vzdálenost osídlení.
- Obr. č. 16 Krabicový graf délka řapíku s vysvětlující proměnnou Vzdálenost osídlení.
- Obr. č. 17 Bodový graf šířka listu s vysvětlující proměnnou Nadmořská výška.

1.2 Seznam tabulek

- Tab. č. 1 Data vyčtená z programu ArcGis kódována v posledních 4 sloupcích.
- Tab. č. 2 Data z květnového měření.
- Tab. č. 3 Geneticky zkoumané vzorky Vinca minor.

- Tab. č. 4 Základní statistika a výsledky testů z morfometriky listů.
- Tab. č. 5 Popisná statistika (délka listu).
- Tab. č. 6 Popisná statistika (šířka listu)
- Tab. č. 7 Popisná statistika (poměr délka / šířka listu).
- Tab. č. 8 Popisná statistika (délka řapíku).

1.3 Seznam grafů

- Graf č. 1 Délka listu.
- Graf č. 2 Poměr délka / šířka listu.
- Graf č. 3 Šířka listu.
- Graf č. 4 Délka řapíku.
- Graf č. 5 Frekvenční histogram délka listu.
- Graf č. 6 Frekvenční histogram šířka listu.
- Graf č. 7 Frekvenční histogram poměru délka/šířka listu.
- Graf č. 8 Frekvenční histogram délky řapíku.

2. ÚVOD A CÍLE PRÁCE

Barvínek menší (*Vinca minor*) patří do čeledi toješťovité a řadí se mezi rostliny stálezelené. Vyniká svou schopností přežít na lokalitách s různým zastíněním a díky vegetativnímu množení přežívá i na opuštěných lokalitách. Jeho alelopatický vliv na okolní prostředí mu vytváří ideální podmínky pro jeho růst. Jak uvádí ve své literatuře O'DRISCOL (2009) jedná se o velmi agresivní druh, který je schopen negativně ovlivnit celé porosty. Díky těmto schopnostem konkurovat a přežít na zaniklých sídlech se barvínek začal zkoumat v nedestruktivní archeologii jako fytoindikátor zaniklých středověkých vesnic (DOLEJŠ 1990). Jako každá nově zjištěná skutečnost, je prozatím barvínek brán s rezervou, ale jak je tomu i v této práci, snaží se vědečtí pracovníci neustále posouvat vědomosti o této rostlině a tuto fytoindikaci zaniklých vesnic podporovat (NOVÁ et KARLÍK 2010). Zatím jedinou rozsáhlejší práci, která se zabývá tímto odvětvím je od PRANGE (1996), který se zabýval rychlostí růstu a šíření od archeologických objektů. Barvínek je velmi vyhledávanou rostlinou v medicíně, kvůli svým obsahovým látkám (vincamin, vinblastin atd.). Vincamin je alkaloid, který se syntetizuje a používá na léčení mozkových onemocnění, má schopnost několikanásobně zvýšit metabolismus mozku a přispět k lepší regeneraci (TANAKA et al 1995). Dalším významným alkaloidem je vinblastin, který se používá při léčbě rakovinových onemocnění, zabraňuje dělení dělicího vřeténka v buňkách a jejich následnému dělení. Tento proces zastavuje rakovinové bujení (UHRÍN 1989). Kromě medicínského výzkumu ale o barvínkou příliš studií není. Jen v české literatuře se můžeme přesvědčit o neúplných informacích o této rostlině, jsou ale rostliny, o kterých je napsáno ještě mnohem méně. Díky malému počtu publikací se nedají s přesností porovnat informace uvedené v těchto publikacích. Barvínek najdeme samozřejmě v každé odbornější publikaci o rostlinách, ale informace jsou velmi všeobecné. U nás jedinou rozsáhlejší studii Květena ČR 6 vytvořil SLAVÍK in SLAVÍK (2000). U barvínkou je ještě mnoho odvětví, které je třeba prozkoumat a do budoucna se bude jednat o velmi perspektivní rostlinu.

Cílem této práce je zaměřit se na morfometrickou analýzu *Vinca minor*, která se provádí na rostlinách z celé České republiky a okolních států (Německo, Slovenská republika). Tato morfometrická analýza u vybraných 32 vzorků byla podložena genetickou analýzou. U ostatních rostlin z experimentální sbírky byla provedena také

morfometrická analýza spolu se zjišťováním prostorových dat z ArcGis programu. Byly zjištěny parametry určující původní lokalitu dané rostliny a určeny vzájemné korelace prostorových proměnných se zařazením do clusterů a identifikace rostliny v jejich přirozeném prostředí.

Hlavní kladené otázky v této diplomové práci:

- Dá se použít fytoindikace zaniklých sídel tohoto významného kulturního reliktu v nedestruktivní archeologii?
- Jaká je závislost morfometrického měření na genetických analýzách?
- Vyskytuje se v experimentální sbírce 1 klon nebo geneticky variabilní rostliny?
- Shoduje se zařazení do clusterů s prostorovými analýzami barvínku?
- Jaký je rozdíl ve dvou měřeních, provedených ve dvou vegetačních obdobích?

3. LITERÁRNÍ PŘEHLED

3.1 Taxonomie druhu

Barvínek menší (*Vinca minor*) neboli Brčál menší spadá do čeledi toješťovitě (Apocynaceae) a spolu se třemi čeleděmi (Loganiaceae, Asclepiadaceae, Gantianaceae) je zařazen do řádu hořcotvarých (Gentianales). Tato čeleď má zhruba přes 160 rodů a více než 2 000 druhů s velmi různými vzhledy. Tyto rostliny se vyskytují převážně v tropech a subtropích a pro tuto čeleď jsou známé snad všechny růstové formy rostlin (NOVÁK 1981). Vytvářejí keře, keříky, polokeře, byliny, stromy i liány. Barvínek menší dále jen jako barvínek je nižší, stále zelená, ozdobná, hustě trsnatá až polokeřovitá rostlina, lidově nazývaná jako zimostráz, zimozelen, zimozel, hruštica, hloštička nebo modránek (HRON et ZEJBRLÍK 1987). Roste ve smíšených lesích, luzích a na lesních světlínách od nížin až do podhůří. Velmi často vytváří kobercovité porosty na čerstvě vlhkých, živinami bohatých půdách. Nesnese kyselou půdu a roste převážně na polostinných až stinných stanovištích. Co se týká podloží, upřednostňuje vápence a opuky, občas se vyskytuje i na pískovcích a živinami neutrálních horninách (SLAVÍK 2000, JELITTO et al. 2002). Je vysazován jako oblíbená rostlina do zahrad, parků a na hřbitovech, roste však i planě. Snáší znečištěné ovzduší a je velmi rezistentní vůči chorobám a škůdcům. Části rostlin barvínku se používají v lékařství pro své obsahové látky, jako jsou alkaloidy, saponiny, třísloviny a pektiny (LHOTSKÁ et al. 1985). Léčba barvínkem napomáhá dobrému prokrvení srdečního svalu a krev zároveň i regeneruje, snižuje krevní tlak a v současné době se zkoumají jeho obsahové látky jako v hodné při léčbě rakoviny (JANČA et ZENTRICH 1994).

3.2 Morfologie

Barvínek je vytrvalá bylina, která má lodyhy oblé, listnaté a při bázi dřevnaté. Pro tyto vlastnosti je někdy nazýván polokeřem (ÚRADNÍČEK et al. 2009). Oddenek má tenký, z něhož vyrůstají výhony květované krátké, které jsou vystoupavé nebo přímé, někdy poléhavé až 30 cm dlouhé, nebo výhony nekvetoucí, jež jsou většinou poléhavé, plazivé a kořenující, které dorůstají až 80 cm. Výhony jsou zdánlivě lysé, pod mikroskopem je však znatelné drobné ochlupení. Listy jsou vstřícné, krátce řapíkaté až přisedlé, jsou kožovité a na líci lesklé. Listy mají podlouhle kopinatou až

elipsovitou čepel, tupě až špičatě zakončenou, na bázi klínovitou, se slabě podvinutým okrajem (HRON et ZEJBRLÍK 1987). Mají barvu na svrchní straně tmavě zelenou a lesklou, na spodní straně světle zelenou a matnou s výraznou střední žilkou a méně výraznými postranními žilkami (SLAVÍK 2000). Z úžlabí listů vyrůstají jednotlivé, velké, dlouze stopkaté pětičetné květy, které jsou oboupohlavní a dvouobalné. Skládají se z malého pěticípého kalichu, který je na okraji cípů lysý, pěticípá nálevkovitá koruna má cípy šikmo obvejčité klínovité a doleva stočené. Ústí koruny je uzavřeno pěti řasnatými záhyby. Květ má pět tyčinek, které jsou kolénkovitě zakřivené a jejich nitky jsou přirostlé ke koruně a střídají se s jejími cípy. Tyčinky jsou na konci zploštělé a nesou žlutý prašník, z vnější strany chlupatý. Pestík má dva semeníky, které nesou jednoduchou čnělku. Ta je rozšířená v terčovitou a lepkavou bliznu, která má pod sebou chomáček chloupků, aby se zabránilo samoopylení. Vespod semeníků se nachází dvě žluté žlázy, které vylučují medovici (HRON et ZEJBRLÍK 1987). Dva srostlé měchýřky rostoucí na bázi tvoří plod, který má podlouhlý, kuželovitý tvar a častokrát je prohnutý. Plody dosahují délky 15 – 21 (30) mm a šířky 4 mm. Osemení je lysé a hnědé, poseté několika podélnými žilkami. Praská v břišním švu ještě v zeleném stavu a semena vypuzuje smrskáváním při vysychání (DOSTÁL 1989, LHOTSKÁ et al. 1985). Barvíněk společně s ostatními zástupci tohoto rodu slabě vylučuje latex z nečláňkovaných nerozvětvených mléčnic (NOVÁK et SKALICKÝ 2009).

3.3 Populačně biologické vlastnosti

Barvíněk je vytrvalý, stále zelený druh, který se rozmnožuje převážně vegetativně z důvodu obtížného rozmnožování generativním způsobem. Nicméně tvorba semen probíhá, avšak ne v hojné míře. Plody jsou nenápadné, zakryté v hustých listech, takže je lze snadno přehlédnout. Dozrávají na konci srpna a ihned odpadávají. Jedná se však o dormantní semena, proto musí být uloženy v půdě (hibernace), dokud nenastanou vhodné podmínky pro klíčení, což je na jaře (LHOTSKÁ et al. 1985). Když dojde k opylení, přemění se semeníky v měchýřky a pod tíhou se květní stopky obrací směrem k zemi. Měchýřky jsou na konci stopky po dvou a každý zvlášť obsahuje dvě semena. Někdy se stává, že je jeden z měchýřků menší, potom obsahuje jen jedno semeno. Měchýřky jsou prohnuté a úzce elipsoidní, jejich povrch je hladký, lysý a má hnědou barvu. Na povrchu jsou znatelné podélné žilky. Celý

měchýřek měří až 3 cm a je 0,4 cm široký. K pukání měchýřků dochází, ještě když jsou zelené a při sesychání dochází teprve k uvolňování semen. Semena jsou podlouhlá a na hřbetní straně vypouklá. Povrch semen je hladký, matný s podlouhlými valy. Na břišní straně semene se nachází trojúhelníkový pupek, od kterého vede směrem nahoru dlouhý semenný šev. Osemení má barvu středně hnědou až tmavě hnědou a semena jsou dlouhá v průměru 8 mm a široká 0,2 mm (LHOTSKÁ et al. 1985).

Vegetativní rozmnožování probíhá z plazivých až 60 cm dlouhých kořenujících oddenků. HAVLÍČEK (2009) uvádí, že všechny části rostliny jsou vzájemně vázány a tvoří neodlučitelný celek. Je-li celistvost rostliny narušena poškozením nebo odumřením nějaké části, nastává regenerace rostliny, která se snaží nahradit poškozenou část a utvořit tak zase celek. Jestliže dojde posléze k přerušení vazeb mezi jednotlivými rostlinami, mladé oddenky se, po odumření starých zdřevnatělých částí, stávají samostatnými rostlinami. Jedná se o klonální množení a tudíž je genetická informace v dceřiných rostlinách stejná (NĚMEC et PASTÝRIK 1956). KLIMEŠ et al (1997) vytvořili klasifikaci klonálních rostlin, která rozděluje rostliny do 21 skupin podle architektury jejich růstu. Barvínek jsme mohli zařadit do skupiny 11 (*Fragaria vesca*). Tato skupina je charakteristická těsně při povrchu rostoucími a krátkověkými stonky s monopodiálním růstem. Vzniklé dceřiné ramety mohou být dlouhověké. Orgány klonálního růstu (lodyha) dosáhnou stáří dva až tři roky, během kterých vznikne alespoň jedna dceřiná lodyha. Za vegetační období může být přírůstek jednotlivých lodyh až 25 cm (KLIMEŠOVÁ et DE BELLO 2009).

Je možné, že se barvínek dostal na naše území v období, kdy česká šlechta jezdila do teplých krajin (Itálie). Pro jeho nenáročnost na podmínky, půdu a pěstování se stal velmi oblíbeným a vegetativním množením (otrháváním a zasazováním) se rozšířil mezi lidmi. Je tedy možné, že je místní druh barvíneku klonem původního druhu z jihu.



Obr. č. 1 Barvínek menší (*Vinca minor*)

Autor: Kristýna Adámková, 2014.

3.4 Ekologie barvíčku menšího

Barvínek menší je stálezelená, vytrvalá rostlina považovaná za polykarpický druh. Vytváří většinou husté porosty, vyskytující se na vlhkých půdách bohatých na živiny, snáší dobře úplné i částečné zastínění a vyhledává převážně stanoviště na zásaditých horninách. Nemá však problém růst i na horninách neutrálních a slabě kyselých. Životní strategií se řadí mezi stres strategý charakterizované v Grimově klasifikace a růstovou formou se řadí mezi hemikryptofyty. Podle Ellenbergovy indikační hodnoty charakterizuje Ellenberg barvínek jako sciotypní až hemisciotypní rostlinu, která roste na intermediálních až teplých lokalitách. Dále je barvínek charakterizován jako oceánický druh indikující čerstvé neutrální půdy se středně bohatým až bohatým obsahem živin (ELLENBERG et al. 1992, KRIŽO et al. 1997).

Z hlediska geobotaniky se barvínek přirozeně vyskytuje v listnatých lesích, teplých, nižších, suboceánských bučinách a dubohabřinách např. ve svazích *Quercion petraeae*, *Carpinion* a *Fagion* (MORAVEC 1995). Jakožto hojně využívaný druh, původně se nacházející v Jižní Evropě, nemusí patřit do naší květeny jako původní druh, ale může se jednat o druh zavlečený z jižní Evropy (NOVÁ et KARLÍK 2010).

3.5 Areál rozšíření

Primární areál je hlavně v Evropě s těžištěm výskytu v submeridionálním pásu. Rozprostírá se od severozápadní části Pyrenejského poloostrova, Francie a jihu Velké Británie na západě. Na východě se areál rozprostírá až ke střednímu Podněpří a navazuje dále na jihu k jižní Francii, Apeninskému poloostrovu a severu bývalé Jugoslávie. Na severu je areál rozšíření ve středním Německu a v České republice. Dále se vyskytuje na Krymu, v Malé Asii, Severní Amerika, Pobaltí a v jižní Skandinávii. Výskyt v těchto státech má pouze synantropní charakter (SLAVÍK 2000).

V České republice je rozšířen skoro na celém území od nížin až do podhůří v bukových lesích a dubohabřinách. (SLAVÍK 2000). Vyhledává polozastíněná až zastíněná stanoviště v lesích a křovinách, na zarostlých skalách, pomístně i na loukách a pastvinách (HRON et ZEJBRLÍK 1987).



Obr. č. 2 Evropský areál rozšíření (MEUSEL 1987)

3.6 Obsahové látky

Barvíněk je jako léčivá rostlina používán již od pradávna. Dnes je zkoumán mnohem podrobněji pro své obsahové látky, jako jsou saponiny, třísloviny, pektin, amorfni hořčinu vincin, deriváty kyseliny flavonové a ursolové a alkaloidy. Alkaloidy jsou jedna z nejvýznamnějších skupin rostlinných sekundárních metabolitů z hlediska chemotaxonomie a biologických účinků. Z rodu *Vinca L.* je izolovaných více jak 160 alkaloidů (vincamin, vincamidin, vincaminorein, vincaleukoblastin, isovincamin, pervincin), které mohou být při větších dávkách jedovaté. S výzkumem tohoto rodu na alkaloidy se začalo v padesátých letech, kdy se zavedli sedativně působící indologové alkaloidy reserpínu do klinické praxe. Dnes je velmi atraktivním alkaloidem vincaleukoblastin lépe jako vinblastin, který se izoluje z *Vinca rosea* a jeho biologickou vlastností je vázanost na mikrotubuliny. Mikrotubuliny jsou tvořeny mikrotrubičkami a tvoří stavební prvek v dělicím vřeténku. Po působení vinblastinu je zamezeno dělení vřeténka a dochází k volnému pohybu chromozomů, které způsobuje zastavení dělení buněk a nádorového bujení (UHRÍN 1989). Dalším zkoumaným alkaloidem je vincamin, který se dnes vyrábí i umělou syntézou. Jak uvádí TANAKA et al (1995) ve své studii, je pěstování *Vinca L.* a získávání vincaminu metodou *in vitro* 2,5 lepší než normálním způsobem. Předností tohoto způsobu množení je získání velkého množství rostlin, které bychom obtížně získávali přirozenou cestou. Dceřiné rostliny si ponechávají vlastnosti jako rostliny mateční. Dále je tato metoda pěstování převratná v tom, že se jedná o jedinou metodu vegetativního množení, při níž nedochází k přenosu chorob, zejména virového původu. Během celého růstu v tomto prostředí lze rostliny ozdravovat a zbavovat chorob (www.zivotnistyl.cz, 2011) Díky rychlému růstu asimilačního aparátu se zvětšuje i podíl materiálu k extrahování vincaminu. Vincamin je alkaloid používaný při onemocnění mozkových buněk a jeho metabolismu. TESSERIS et al (1975) testovaly 60 vzorků, z toho 36 vzorků obsahovalo vincamin, 12 aminophillin a 12 žádné léčivé látky. Prokazatelně se ukázalo, že pacientům užívající vincamin se oproti uživatelům aminophillinu zvýšil metabolismus mozku.

Sbírá se nať barvínku, z které jsou alkaloidy izolovány (až 0,7%). Nať se sbírá v červnu až červenci a suší se v co možná nejkratší době ve stínu nebo umělým sušením při teplotě 45° C. Snižuje krevní tlak, napomáhá při dráždivém kašli díky sedativním účinkům, používá se při léčbě krvácivých onemocnění, prokrvuje srdeční

sval a zároveň krev regeneruje. Dobře se osvědčil také při zánětech dutiny ústní, střevní, zánětu průdušek nebo plic (JANČA et ZENTRICH 1994).

3.7 Alelopatický vliv na ostatní rostliny

Alelopatie je proces mezi dvěma populacemi, kdy jedna z populací (amenzá) je ovlivňována v růstu druhou populací, která vypouští do prostředí chemické látky (inhibitor). Koncentrace chemických látek se mění v čase (během dne i roku), závisí na věku rostliny a na stanovištních podmínkách. Barvínek je také považován za velmi silného inhibitora, který může změnit výrazně dynamiku celého lesa. Máme tři způsoby, jak se chemické látky dostávají do prostředí. Barvínek spadá do prvního způsobu, kdy se látky dostávají do půdy za pomoci kořenů. Látky jsou poté rozpuštěny v půdním roztoku a přijímány kořenovým systémem ostatních rostlin. Druhým způsobem jsou výluhy z nadzemních částí rostlin (větve, plody, květy, listy) nebo odumřelých částí rostlin, které se rozloží a opět se za pomoci půdního roztoku dostanou kořenovými systémy rostlin do oběhu. Třetím způsobem jsou aromatické těkavé látky, které se uvolňují do prostředí (vzduchu) a ovlivňují rostliny přímo, nebo se pomocí srážek dostanou do půdního roztoku a jsou opět nasávány kořenovými systémy. Základními znaky inhibice potom jsou, že se zpomalí, někdy až zastaví klíčení semen a růst rostlin. Často dochází k úplné degeneraci růstu a rostlina umírá. Takto si inhibitor vytváří prostor již ve vzniklém společenstvu rostlin a připravuje si vhodné podmínky pro svůj růst. Taková oblast se pozná, že je většinou chudší na rozmanitost rostlin, zůstanou pouze rostliny, které jsou rezistentní vůči působení chemických látek nebo si vytvoří během vývoje adaptaci. Příkladem mohou být akátové porosty (POLENO, VACEK et al 2011). Například studie v západním Michiganu zkoumala jak je *Vinca minor* schopná konkurovat sazenicím stromů *Acer saccharum* (DARCY et BURKART 2002). Po sečtení sazenic dřeviny se ukázalo, že plochy s hustým zastoupením *Vinca minor* měly výrazně nižší sazenice než plochy s řídkým nebo žádným krytem barvínku. Laboratorní zkoušky semen prokázaly alelopatický vliv barvínku na kořenový systém stromů (zpomalené klíčení nebo úplné zastavení) s ohledem na to, zda byly odstraněny kořenové systémy barvínku nebo ne. Přežití sazenic *Acer saccharum* na kontrolních pozemcích bylo 80% za 11 měsíců s porušeným kořenovým systémem oproti tomu žádný živý exemplář na pozemcích s neporušeným kořenovým systémem barvínku. Celkovými výsledky

doporučovali DARCY et BUKART (2002) předcházet zastínění sazenic, aby nedocházelo k hustému zápoji barvínku, který může posléze sazenice udusit. Pokud je to možné, tak barvínku úplně odstranit. O'DRISCOLL (2009) uvádí ve své studii, že je barvínku silně invazivní druh, který může mít negativní dopad na produktivitu, biodiverzitu a ekosystémové funkce v dané přírodní oblasti. Výzkum se prováděl v 18 parcích na exotických rostlinách s ohledem na konkrétní podmínky stanovišť každé rostliny (biologické/ekologické). Vytvořil se pěstební plán, kde se kontroloval vliv invazivní rostliny a vytvářely se doporučení pro prevenci a monitoring těchto druhů. Na základě těchto výsledků se vytvořily analýzy dat a doporučení, která doplňovala již známá fakta o těchto exotických rostlinách.

3.8 Geobotanická indikace v nedestruktivní archeologii

Geobotanické indikace v nedestruktivní archeologii je používána zatím pouze okrajově, přesto že vegetace nabízí zajímavý pohled na daných lokalitách. Problémem zůstává, že se k fytoindikaci používají živé rostliny, které mohou archeologickou historii lokality podat pouze zprostředkovaně (KUNA et al. 2004). Nicméně se jedná o jednu z cest, jak pochopit zkoumanou lokalitu. Každým rokem přichází nové poznatky o rostlinách, díky kterým lze rostliny používat z praktického hlediska. Je jisté, že základy poznatků o rostlinách a fytoindikaci byly položeny již v historických dobách (těžba rud, drahých kovů, ale i vody), a jejichž poznatky se staly základem, na něž navázali badatelé dalších generací, působící nejen v klasických disciplínách, ale i v dalších oborech např. nedestruktivní archeologii (DOLEJŠ 1990). Aby mohla být geobotanická indikace v archeologii vůbec využita, musí splňovat jedno zásadní kritérium. Hledaný archeologický objekt musí být co nejbližší současnému povrchu, protože kdyby byla vrstva půdy příliš silná, vážali by se rostliny na podmínky vrchních vrstev. Geobotanickou indikace lze rozdělit do dvou skupin a to na přímou a nepřímou. Přímá indikace nám umožňuje sledovat možný výskyt archeologických objektů a nepřímá nám určuje pouze míru působení člověka na přírodní prostředí v určitých historických obdobích. Nepřímá indikace nám umožňuje společně s geobotanickými mapami rekonstruovat krajinný rámeček, ve kterém se archeologicky doložené aktivity odehrávaly (KUNA et al. 2004). Podobná studie nepřímé indikace byla provedena v Kozelském polesí (NOVÁ et KARLÍK 2010), kde se porovnával nynější rostlinný kryt na plochách s někdejší zástavbou.

Tyto plochy byly hojně zemědělsky využívány a jednalo se o dvě zaniklé středověké vesnice. Výsledkem práce byla velká rozlišnost ve výskytu barvínku menšího (*Vinca minor*) na jednotlivých lokalitách. V intravilánu a extravilánu na území rezervace se barvíněk vyskytoval takřka souvisle, kdežto v extravilánu mimo rezervaci se vyskytoval spíše izolovaně. Tento výsledek může jasně naznačovat významnost *Vinca minor* při metodách nedestruktivní archeologie.

4. METODIKA

4.1 Sběr dat

Barvínek menší je v současné době považován za původní druh, tedy autochtonní (SLAVÍK 2000), ale je velmi pravděpodobné, že se jedná o druh zavlečený a to nejpozději ve vrcholném středověku ze Středomoří (NOVÁ et KARLÍK 2010). Díky schopnosti barvínků vytvářet dlouho vytrvávající a vegetativně množící se populace, lze tuto rostlinu využívat jako fytoindikátor bývalých lidských sídel. V dnešní nedestruktivní archeologii je často využíván jako indikátor zaniklých středověkých vesnic (PRANGE 1996). Mnoho vlastností barvínků a věcí spojených s fytoindikací je ale neobjasněno a bylo by dobré na nich bádát, proto vznikl projekt CIGA 2014 s názvem *Vinca minor* jako klíč k poznání minulosti středoevropské krajiny, který se zaměřil na řešení mnoha otázek. Stěžejní potom bylo, zdali je barvínek původním nebo zavlečeným druhem, jaká je genetická struktura populací, jestli tvoří barvínek v přírodě semena (generativní množení), jak se liší přírůst biomasy terminálních prýtů za různých podmínek prostředí a jestli by bylo možné v rámci vesnic predikovat pomocí barvínků určitá specifická místa (např. zaniklý kostel). Sběr dat byl prováděn na vybraných lokalitách převážně v České republice, ale i v jiných zemích střední Evropy (Slovensko, Německo). Všechny sebrané rostliny byly neporušené převezeny do experimentální sbírky (Botanická zahrada Fakulty tropického zemědělství, ČZU v Praze), kde byly zasazeny, aby se eliminovaly vlastnosti rostliny dané mateřskou lokalitou. Každá rostlina byla štítkem s přiřazeným kódem. Sběrka byla na přelomu května a června 2014 tvořena 92 rostlinami a postupně se rozšiřovala. Při sběru dat v listopadu 2014 už tvořilo sbírku 110 rostlin a v prosinci 2014 již 125 rostlin. Na sběru se podílela většina členů tohoto projektu a zaměřili se na místa zaniklých středověkých vesnic, starých hřbitovů a křížků na rozcestí. Po adaptaci rostlin na prostředí a podmínky začal výzkum a měření. Stěžejním byl sběr vzorků pro genetickou analýzu. Izolace DNA byla provedena metodou CTAB a s ohledem na téměř nulovou informaci o genomu této rostliny byla ke stanovení genetické diverzity použita metoda ISSR (Inter Simple Sequence Repeats). Nakonec bylo vyhodnoceno 32 rostlin, pro které jsou detailně vypracované všechny analýzy a statistické výstupy.

4.2 Popis lokalit pomocí ArcGis programu

ArcMap 10.2 je program použitelný pro všechny prostorově orientované úlohy, včetně prostorových analýz, editace dat a tvorby kartografických výstupů. Tento program byl použit pro odvození prostorových parametrů každé odebrané rostliny zvlášť. Byla vytvořena vrstva, kam byly zaneseny body s přesným určením místa, kde byly vzorky sebrány. Do programu ArcGis byla nahrána vrstva mapy s názvem Základní mapa ČR (ZABAGED) v původním měřítku 1:10 000. Na tuto vrstvu se nahrála již vytvořená vrstva s body jednotlivých rostlin. Každý bod se pomocí atributové tabulky označil přiřazenými kódy, aby se v mapě lépe orientovalo. Dále se vyznačil kolem každého bodu kruh o poloměru 1km kvůli dobrému odečtu lesnatosti kolem každého bodu. Když byla takto připravená mapa, otevřela se atributová tabulka a každý bod jednotlivě se v tabulce označil. Na mapě se daný bod zvýraznil modře. Takto se dal bod dobře najít a zvětšit. Mezitím byla v programu Excel 2013 připravena tabulka s 5 sloupci. Sloupec jedna obsahoval kódy rostlin, sloupec dva se nazýval popis lokalit, kdy každá lokalita zvlášť měla svůj číselný kód. Lokalitou (1) byly označeny hřbitovy, kostely nebo křížky, lokalitou (2) zahrady a parky a lokalitou (3) lesy a přírodní oblasti (tabulka č. 1). Sloupec tři označoval lesnatost daného území a číselné kódy byly rozděleny podle procentuálního zastoupení lesa. Lesnatost (1) byla v rozmezí 71 – 100%, lesnatost (2) 41 – 70% a lesnatost (3) 0 – 40%. Sloupec čtyři obsahoval nadmořské výšky odečtené pomocí vrstevnic na mapě a sloupec pět označoval vzdálenost lokality od nejbližší zástavby. Tyto vzdálenosti byly označeny číselným kódem v závislosti na vzdálenosti. Vzdálenost (1) byla 0 – 200 m od první zástavby, vzdálenost (2) 201 – 1 000 m a vzdálenost (3) byla více jak 1 000 m. Do takto připravené tabulky se zanašely odečtené atributy z mapy. Popis lokality byl určen buď z atributové tabulky, v které byly některé rostliny určeny nebo při velkém přiblížení se na mapě zobrazil hřbitov nebo kostel, jestliže tomu tak nebylo, odvozovala se lokalita podle toho, jestli se nacházela v lese nebo v zástavbě. Lesnatost byla určena pomocí kruhu s poloměrem 1 km a procentuálního zastoupení lesa v tomto kruhu. Toto odvození probíhalo subjektivním posouzením. Nadmořská výška byla odečtena pomocí vrstevnic na mapě a vzdálenost nejbližší zástavby byla určena pomocí ikony Measure od bodu rostliny k nejbližšímu domu. Takto připravená data v tabulce byla připojena k tabulce s naměřenými hodnotami listů z jarního a podzimního měření. Vše muselo správně sedět podle kódů rostlin, aby data

mohla být považována za pravá opakování. Nedělilo se to tedy podle listu 1 - 3, ale vše bylo v jednom sloupci pod sebou.

Takto to bylo s délkou a šířkou listu, poměrem délky a šířky, délkou řapíku, žilnatinou, tvarem listu a barvou listu. Tato tabulka byla dále používána do programu STATISTIKA.

Tab. č. 1 Data vyčtená z programu ArcGis kódována v posledních 4 sloupcích. Kódování: barva listu (1 – světle zelená, 2 – tmavě zelená, 3 – světle až tmavě zelená, 4 – panašovaná), žilnatina (1 – výrazná, 2 – výraznější, 3 – nevýrazná), tvář (1 – vejčitý), popis lokality (1 – hřbitov, křížek, 2 – zahrady, parky, 3 – les), lesnatost (1 – silná 71 – 100%, 2 – střední 41 – 70%, 3 – slabá 0 – 40%), vzdálenost osídlení (1 – 0 – 200m, 2 – 201 – 1000m, 3 – >1000m).

kód	délka listu	šířka listu	poměr d/š	délka řapíku	barva listu	žilnatina	tvář	květ	popis lokality	lesnatost	nadmořská výška	vzdálenost osídlení
C1	1,60	0,90	1,78	0,2	2	1	1	1	1	3	297	1
C2	2,40	1,50	1,60	0,2	2	1	1	1	1	1	284	2
C3	1,70	1,20	1,42	0,4	1	3	1	1	2	3	257	1
C4	2,10	1,10	1,91	0,3	3	1	1	1	2	2	275	1
C5 (m)	2,30	1,00	2,30	0,2	4	3	1	1	1	3	436	1
C6	2,00	1,10	1,82	0,4	2	1	1	1	2	3	242	1
C8	1,70	0,90	1,89	0,4	1	1	1	1	1	3	270	1
C9	1,70	0,70	2,43	0,2	2	2	1	1	1	3	224	1
C10	2,00	1,00	2,00	0,2	3	1	1	1	1	2	223	1
C11 (m)	1,70	0,90	1,89	0,1	1	3	1	1	3	1	473	3



Obr. č. 3 Kruh o poloměru 1 km, pomocí kterého se odvozovala lesnatost.



Obr. č. 4 Výskyt rostlin vyznačený pomocí bodů na území ČR (1: 1 250 000) v programu ArcGis.

4.3 Morfometrické měření

Morfometrické měření bylo prováděno na všech rostlinách vyskytujících se ve školní sbírce. Byla prováděna ve třech měsících (květen, listopad a prosinec) a dvou vegetačních obdobích. Ve skutečnosti byl sběr proveden pouze v jednom roce, ale dvě vegetační období byly zastoupeny prýty z roku 2013 (prýty reprezentující původní lokalitu) a prýty z roku 2014, které už reprezentovali podmínky v experimentální sbírce. V tomto období (listopad, prosinec) byla data sloučena a počet opakování na období, souhrnně označované jako podzimní, se zvýšilo na 5 listů pro každou rostlinu. V tomto měření již byly eliminovány podmínky z původního prostředí. Mohly se tedy pozorovat morfometrické vlastnosti podmíněné genetickými vlastnostmi rostliny. Měření probíhalo na těchto morfometrických znacích: délka listu, šířka listu, a délka řapíku. Okulárními znaky, které byly pozorovány, byly výraznost žilnatiny, barva listu, tvar listu a doba kvetení. První sběr listů byl prováděn na přelomu května a června, viz tabulka č. 2, kdy se vzorky braly z loňských prýtů (tmavé listy), a sbíraly se dva největší terminální listy ze dvou různých prýtů. Sebrané listy byly uloženy do igelitového sáčku, který byl popsán kódem rostliny, popřípadě dobou kvetení. Takto se postupovalo, dokud nebyly sebrány vzorky od všech rostlin. Následně probíhalo měření morfometrických znaků pomocí pravítka a zjištěné údaje byly zaneseny do tabulky. Listy byly poté uloženy do novin, aby nezplesnivěly a daly se dále použít. Ve sbírce bylo také na začátku

června uskutečněno focení vzorků pro zpětnou kontrolu a konfrontaci s výsledky. U každé rostliny muselo být měřítko, v našem případě pravítko a štítek s kódem rostliny. Focení se provádělo ze stativu, který byl vždy ve výšce 1 metru. Sběr dat v listopadu a prosinci probíhal stejným způsobem, akorát že nebyly listy brány z loňských prýtů, ale z prýtů nových (světle zelené). U prosincového sběru byly odebírány 3 reprezentativní listy z každé rostliny. Měření probíhalo také stejným způsobem a data byla zaznamenána do nových tabulek.

Tab. č. 2 Data z květnového měření. Kódování: barva listu (1 – světle zelená, 2 – tmavě zelená, 3 – světle až tmavě zelená, 4 – panašovaná), žilnatina (1- výrazná, 2 – výraznější, 3 – nevýrazná), tvar (1 – vejčitý).

KOD	DÉLKA 1. listu	DÉLKA 2. listu	ŠÍŘKA 1. listu	ŠÍŘKA 2. listu	POMĚR délka/šířka (1.list)	POMĚR délka/šířka (2.list)	DÉLKA ŘAPIKU 1. listu	DÉLKA ŘAPIKU 2. listu	BARVA LISTU	ŽILNATINA	TVAR 1.listu	TVAR 2.listu	KVĚT
C1	4,6	5,3	2,8	3	1,64	1,77	0,1	0,3	3 (prosvětlení)	1	1	1	
C2	3,9	4,1	2,1	2,1	1,86	1,95	0,2	0,4	3 (prosvětlení)	1	1	1	
C3	4,6	3,4	2,6	2,3	1,77	1,48	0,5	0,3	2	1	1	1	
C4	4,1	5,2	2,3	2,4	1,78	2,17	0,5	0,3	2	1	1	1	17.6.2014(fialový), 25.6.2014
C5 (m)	4,3	4,7	1,7	2,5	2,53	1,88	0,4	0,5	4	1	1	1	
C6	4,8	4,6	2,1	2	2,29	2,30	0,3	0,3	3	1	1	1	17.6.2014(fialový), 25.6.2014
C8	4,7	4,8	2,3	2,3	2,04	2,09	0,7	0,5	2	1	1	1	17.6.2014(fialový)
C9	4	4,5	1,7	1,6	2,35	2,81	0,4	0,4	2	2	1	1	25.6.2014(fialový)
C10	4,5	4,8	2	2,1	2,25	2,29	0,4	0,4	2	1	1	1	17.6.2014(fialový), 25.6.2014
C11 (m)	2,7	3,3	1,6	1,5	1,69	2,20	0,3	0,2	3	3	1	1	
D1	3,1	2,9	1,5	1,2	2,07	2,42	0,4	0,2	2	3	1	1	

4.4 Genetická variabilita

Na základě využití barvínku v nedestruktivní archeologii se v programu CIGA 2014 pracovníci rozhodli zjistit, jakou genetickou variabilitu barvínků ve školní sbírce nabídnou, popřípadě co se z těchto výsledků bude dát zjistit. Zdáli může, poskytnou odpověď na to, jak důležité bylo vegetativní a generativní rozmnožování v minulosti a jestli se na zaniklých středověkých vesnicích nachází pouze jeden klon nebo ne. Lze předpokládat, že genetická variabilita na nedávno vzniklých lokalitách bude větší než na lokalitách zaniklých středověkých vesnic. Výskyt větší variability rostlin na nedávno vzniklých plochách může být dán snazší přepravou a prodejem rozličných genotypů *Vinca minor*, případně specifických okrasných kultivarů. Abychom dostali odpověď na tyto otázky, byla provedena analýza na vzorcích, které byly shromážděny převážně ze zaniklých středověkých vesnic a nedávno vzniklých lokalit na území České republiky. Kompletace 32 vzorků z 27 různých lokalit v České republice a střední Evropě (Německo, Slovensko), byla provedena v průběhu roku 2013, aby se rostliny adaptovali na nové prostředí a eliminovali znaky z původních stanovišť. Sjednotila se tak sbírka podle jedné půdní podmínky. Byly

preferovány lokality zaniklých vesnic, starých hřbitovů nebo zřícenin hradů. Analyzovány byly také některé vzorky *Vinca minor* z Botanického ústavu Akademie věd České republiky v Průhonicích. Všechny vzorky byly umístěny do školní sbírky Fakulty tropického zemědělství ČZU v Praze. Čerstvý rostlinný materiál byl použit pro genetické analýzy. Tyto data vyhodnocovala Petra Čepková se svojí pracovní skupinou a výsledky které z těchto analýz u 32 vzorků vyšly, byly použity i do této práce. Hlavním výstupem z genetické analýzy byly dva clustery, které označují genetickou variabilitu rostlin. Cluster 2 sjednotil 21 rostlin do jedné skupiny, která se vyznačuje stejnou genetickou informací, jedná se tedy pravděpodobně o jeden jediný klon. Cluster 1 obsahuje rostliny celkově větší genetické variability. Do této skupiny spadal zbytek 11 rostlin. U některých rostlin z klastru 1 se vyskytla užší příbuznost, můžeme se tedy domnívat, že se jedná a příbuzné jedince, kteří se v průběhu let vylíčili.

4.5 Vyhodnocení dat pomocí programu STATISTIKA

K vyhodnocení těchto dat byly použity všechny změřené vzorky barvínku včetně 32 vzorků podložených genetickou analýzou. Vzorky, které v období mezi sběry odumřely, byly z tabulky vyřazeny společně se vzorky, které byly navíc (nově odebrané rostliny) v prosincovém měření. Neseděl by počet rostlin s listopadovým měřením. Takto očištěná data byla převedena do tabulky a zpracována tak, aby nebylo rozdělení podle listů ve sloupcích jednotlivě, ale aby každý list např. v délce šel postupně pod sebou. To znamená, že při počtu 5 opakování po 100 rostlinách, bylo ve sloupci délka 500 naměřených hodnot. Stejným způsobem byl uspořádán sloupec s názvem šířka listu, poměr délka / šířka, délka řapíku, barva listu, žilnatina a tvar listu. Takto připravená data mohla být exportována do programu STATISTIKA. V programu se postupovalo pomocí algoritmu:

Grafy – 2D Grafy – krabicové grafy – spustit novou analýzu – detaily (zaškrtnout dva testy) – ok – výběr parametrů – ok. Po zadání proměnných do grafu se zobrazil krabicový graf pro každou změřenou hodnotu zvlášť. Proměnná prostředí zůstávala stejná, nacházela se na ose x a změřená data na ose y se s každým grafem měnila. Z grafu a vypočítaných hodnot se stanovilo, zda jsou jednotlivé znaky signifikantní s danou proměnnou prostředí. Bylo-li tomu tak, určilo se, jak moc je daný znak

signifikantní a co to může v praxi vyjadřovat. Každý vzniklý graf byl upraven, uložen a následně použit v práci.

Další metodou, která byla použita v programu statistika, se nazývá popisná statistika a frekvenční histogramy. Tyto analýzy byly použity k porovnání dat z května a prosince, jelikož se díky velkému počtu opakování nedal provést graf v programu Excel, jako tomu bylo u vybraných 32 vzorků. Popisná statistika nám uvádí pomocí čísel, jaké jsou maxima a minima v daných obdobích a jaká je směrodatná odchylka. Do programu STATISTIKA se znovu nahrála data z Excelu, která byla očištěna a byly vytvořeny průměrné hodnoty v období prosinec a květen, takže bylo pouze 86 opakování u každého období pro danou proměnnou. Byly vytvořeny 4 listy v Excelu podle proměnných délka listu, šířka listu, poměr délka/šířka listu a délka řapíku. Algoritmus postupu nahrávání dat a provedení popisné statistiky bylo následující: Domů → Otevřít → dokument → importovat vybraný list → parametr → ok → 1. řádek jako název proměnné → Statistika → základní statistiky → popisné statistiky → výpočet → proměnné (květen, prosinec) → tabulka. Další analýza byla provedena pomocí histogramů, které ukazovaly rozdělení podle naměřených hodnot v období květen a prosinec najednou. Graf byl vytvořen pomocí postupu: Grafy → histogram → základní → vícenásobný → proměnné → ok → vlastnosti nadpisu → uložit → uložit jako položky → název souboru → uložit typ jako (PDF, JPG). Tyto výstupy byly následně použity do kapitoly výsledky.

Data zjištěná z morfometrického měření byla také zpracována pomocí T testu v programu STATISTIKA. Jedná se o matematickou statistiku, která může ověřit jednu ze dvou hypotéz. První hypotéza se zabývá normálním rozdělením, z něhož pochází nějaký náhodný výběr, ten musí mít nějakou střední hodnotu, přičemž je rozptyl neznámý. Tento T test se nazývá jednofaktorový. Náhodný výběr je tvořen pouze jednotlivými hodnotami. Druhá hypotéza se ptá, zdali dvě normální rozdělení mající stejný rozptyl, z nichž pocházejí dva nezávislé náhodné výběry, mají stejné střední hodnoty, tedy hodnoty, které se rovnají nějakému číslu. Tenhle test se nazývá párovým testem, kde vystupuje dvojice hodnot, u nichž se zkoumají jejich rozdíly. Principem T testu je potom zjistit zdali náhodný výběr pochází z normálního rozdělení, tedy že má výběrový průměr normálního rozdělení se stejnou střední hodnotou. Rozdíl výběrového průměru a střední hodnoty normovaný pomocí skutečného rozptylu by měl mít normální rozdělení s nulovou střední hodnotou a jednotkovým rozptylem. Skutečný rozptyl je ale neznámý, a když je nahrazen

odhadem pomocí výběrového rozptylu, je získáno T rozdělení, které je podobné normálnímu rozdělení. T test slouží k porovnávání výsledků z měření. Zdali se hodnoty jedné skupiny výrazně liší s hodnotami druhé skupiny. Získání hodnot z tohoto testu je velmi rychlé v programu STATISTIKA. Jednofaktorový T test se provádí pomocí záložky Statistika → Základní statistiky / tabulky → T test, samostatný vzorek → výpočet. Vytvoří se tabulka s výchozími hodnotami, které se odečítají a jsou vytvářeny hypotézy (www.statsoft.cz 2013).

5. VÝSLEDKY

5.1 Podsoubor 32 vzorků, kde byla provedena genetická analýza ISSR

Tyto výsledky byly vytvořeny na vybraných vzorcích ze školní sbírky, viz tabulka č. 2, které byly morfometricky změřeny a geneticky analyzovány. Pomocí ISSR metody byly vylíšeny dvě hlavní skupiny. Cluster 1 a cluster 2. Cluster 2 byl složen z 21 vzorků odebraných na lokalitách České republiky kromě jednoho vzorku, který byl odebrán v severní části Německa. Všechny tyto vzorky se seskupily na základě fragmentací primerů DNA. Jedná se o jednu geneticky příbuznou rostlinu (klon), množící se vegetativně v období středověku. Těchto 21 vzorků se vyskytovalo na lesních plochách na bývalých zaniklých vesnicích, zříceninách hradů v českém vnitrozemí a v okrajových částech České republiky, které byly osídleny Němci (Houska, Hvězda). Do této skupiny vzorků spadaly také oblasti nejstarších hřbitovů v okolí kostelů, vzorek C5 ze starého hřbitovu a K28 z přírodního hřbitovu. Cluster 1 obsahoval zbylých 11 vzorků, které vykazovali genetickou odlišnost, ale u některých rostlin byla naznačena možná příbuznost např. Vzorek D16 se shlucoval se vzorkem K26. Tento cluster byl tvořen rostlinami odebranými na území České republiky, ale také vzorky ze zemí střední Evropy. Žádný vzorek v tomto clusteru nepocházel ze starých oblastí. Největší genetická odlišnost se v clusteru 1 ukázala mezi vzorkem H14(0,333) sebraným v Košicích (Slovensko) a mezi vzorkem H12 (0,321) z Trieru (Německo). Vzorek z Valče K15 byl také odlišný oproti Clusteru 2, což může být dáno vojenským prostorem a velkým přívalem lidí, kteří sem mohli barvínek zavléci. Podobně na tom byl vzorek z druhého nejstaršího židovského hřbitova (D31), který byl také zařazen do clusteru 1, ačkoli by se dalo předpokládat, že bude patřit do clusteru 2. Ostatní vzorky byly také geneticky variabilní, proto spadaly do tohoto clusteru (K18, K19, D2, D17).

Tab. č. 3 Geneticky zkoumané vzorky *Vinca minor*: CZ – Česká republika, DE - Německo, SK – Slovensko.

Kód	Lokalita	Zeměpisná délka (WGS84)	Zeměpisná šířka (WGS84)	Popis lokality
C5	Třeboň, CZ	14°45'52"	49°00'25"	Starý hrob v kostele svatého Jiří ze 13. století; rostlina s panašovanými listy
C11	Cervené Blato, CZ	14°48'13"	48°51'59"	Opuštěná vesnice v lese
D2	Dobříš, CZ	14°10'50"	49°47'39"	Zidovský hřbitov
D12	Hrádecký důl, CZ	14°23'44"	50°34'49"	Zalesněná rokle 1 km vedle zříceniny hradu (14.-16. století)
D13	Houska, CZ	14°37'11"	50°29'16"	Zalesněný vrch 0,5 km od hradu, který byl postaven ve 13. století
D14	Ostrý, CZ	13°56'57"	50°31'51"	Zřícenina hradu z 15- 16. století
D16	Louzek, CZ	14°28'41"	48°42'12"	Zřícenina hradu z 14- 15. století
D17	Hradišský vrch, CZ	14°32'13"	48°44'46"	Budova vodovodu v lese
D28	Chýšť, CZ	15°34'00"	50°08'04"	Les
D29	Prácheň, CZ	15°34'10"	50°07'34"	Opuštěná středověká osada osídlená od 10. do 16. století, dnes zřícenina hradu a hřbitov v lese
D31	Kolín, CZ	15°07'10"	50°06'44"	Zidovský hřbitov
H1	Falkenstein, DE	12°07'54"	47°42'58"	Zřícenina hradu, která byla založena ve 13. století, zapálená 1784
H8	Svidná, CZ	13°57'03"	50°12'15"	Opuštěná středověká vesnice v lese; z 13-16. století
H10	Schierke, DE	10°39'53"	51°45'52"	Hřbitov
H11	Kersko, CZ	14°55'19"	50°08'39"	Opuštěná středověká vesnice v lese; od 1357 do cca 1420
H12	Triet, DE	06°39'15"	49°46'04"	Hřbitov
H14	Košice, SK	21°11'37"	48°44'14"	Opuštěná vesnice v lese
K2	Aldašín, CZ	14°49'57"	49°58'07"	Intravilán opuštěné vesnice v lese, první zmínka 1344, opuštěná v roce 1645
K4	Lažany, CZ	14°47'32"	49°59'45"	Opuštěná středověká vesnice v lese; první zmínka je uvedena roku 1358; opuštění na počátku 15. století
K6	Mydlná, CZ	13°36'40"	49°40'30"	Opuštěná středověká tvrz a vesnice, které existovaly od konce 14. století až do poloviny 15. století
K7	Javor, CZ	13°35'35"	49°40'24"	Opuštěná středověká vesnice, která existovala v průběhu 14. a 15. století
K10	Hvězda, CZ	14°26'13"	50°36'10"	V okolí obce, která byla založena v roce 1676, osídlená českými Němci, nedaleko zříceniny zámku z 13. století
K14	Roudnička, CZ	14°00'15"	49°48'14"	Opuštěná středověká vesnice v lese; byla založena ve 14. století a v roce 1547 již byla opuštěná
K15	Valeč, CZ	13°15'00"	50°10'35"	Zámecký park založený v 18. a 19. století
K18	Průhonice, CZ	14°33'35"	49°59'47"	Alpská skalka, kultivar 'Verino'
K19	Průhonice, CZ	14°33'38"	49°59'47"	Alpská skalka, kultivar 'Panta'
K21	Průhonice, CZ	14°33'35"	49°59'45"	Alpská skalka, kultivar 'Argenteomarginata'
K22	Průhonice, CZ	14°33'39"	49°59'45"	Alpské skalka, kultivar 'Nummularifolia'
K23	Průhonice, CZ	14°33'36"	49°59'43"	Alpská skalka, kultivar 'Clara'
K26	Třemšín, CZ	13°46'51"	49°34'09"	V lese u kaple postavené v 19. století
K27	Dolánky, CZ	14°48'28"	50°01'07"	Opuštěná středověká vesnice, existující od 14. do 16. století
K28	Dolánky, CZ	14°48'27"	50°01'07"	Stejně jako vzorek K27 ale má panašované listy

5.1.1 Genetická variabilita v porovnání s morfometrickými daty

Pro morfometrickou analýzu pomocí programu STATISTIKA byla použita analýza ANOVA ve které vystupovalo 5 proměnných (délka listu, šířka listu, poměr délka/šířka listu, délka řapíku a žilnatina). Výsledky na základě těchto proměnných byly vylišeny podle clusteru 1 a 2 analyzovaných pomocí ISSR metody. V jednotlivých sloupcích byly zastoupeny hodnoty průměru (Mean), míra rozptylu neboli směrodatná odchylka (SD), test results hodnoty t a p. Hodnota p udává míru pravděpodobnosti výskytu dané proměnné v závislosti na clusteru. Tyto hodnoty byly odečteny v programu ANOVA a zaneseny do tabulky (Tab. č. 4), kde byly navzájem porovnány mezi jednotlivými proměnnými. Výrazné rozdíly se projevily u třech proměnných (šířka, poměr a délka řapíku). Šířka listu měla hodnotu $p = 0,0000$, která vykazuje 100% signifikantní znak jak v T testu, tak v analýze ANOVA. Tyto proměnné vykazovaly v hodnotě p rozptyl od 0,0000 do 0,0080 u délky řapíku. Tyto hodnoty byly téměř stoprocentně signifikantní, lze je brát jako směrodatné. Obecně se po morfometrické analýze ukázalo, že cluster 1 má protáhlejší listy s delšími řapíky. Toto tvrzení se potvrdilo i v analýze prostorových dat, vyčtených z programu ArcGis.

Tab. č. 4 Základní statistika a výsledky testů z morfometricky listů. Bylo použito pět změřených listů a vzorky byly seskupeny podle vztahu rostliny ke skupině cluster 1 nebo cluster 2.

Proměnné	Cluster2 - starobylý (n=105)		Cluster1 - nedávný (n=55)		T-test results		One-way ANOVA	
	Mean	SD	Mean	SD	t	p	F	p
Délka listu	2,10	0,38	2,13	0,64	-0,40	0,6932	0,16	0,6932
Šířka listu	1,38	0,31	1,11	0,39	4,71	0,0000	22,23	0,0000
Poměr délka/šířka listu	1,55	0,21	2,02	0,45	-9,11	0,0000	82,91	0,0000
Délka řapíku	0,28	0,10	0,33	0,14	-2,69	0,0080	7,21	0,0080
Intenzita žilnatiny	1,92	0,83	2,02	0,87	-0,73	0,4664	0,53	0,4664

5.1.2 Analýza v programu STATISTIKA

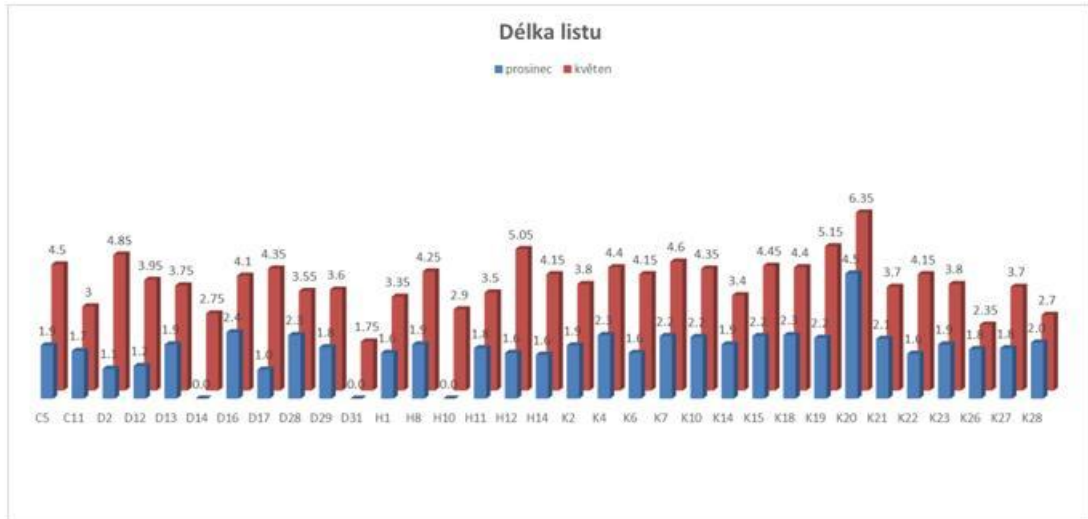
Analýza dat v programu STATISTIKA byla provedena hromadně pro všechny rostliny měřené v listopadu a prosinci. Tato analýza se neprováděla pro geneticky ověřené rostliny zvlášť, protože by výsledky nebyly podloženy velkým množstvím opakování, které je pro analýzu ANOVA potřebné. Nicméně se z celkového výsledku tohoto testu potvrdily výsledky zmíněné v předchozí kapitole, která se zabývá jen těmito 32 reprezentativními vzorky. Potvrdilo se, že délka řapíku společně s šířkou

listu a poměrovými znaky se jedná o signifikantní závislé proměnné v závislosti na lesnatosti území, vzdálenosti od nejbližší zástavby a typu lokality. Podle těchto výsledků se dá s velkou určitostí říct, že podle výskytu barvínku v přírodě a jeho morfologickým znakům lze odvodit, o jaký se jedná genotyp a z jakého období se nachází. Vzorky zařazené do clusteru 2 měly výrazněji širší listy, se silnější žilnatinou a kratším řapíkem. Podle clusteru 2 byly zařazené do jedné skupiny o stejné genetické informaci a byly zároveň podloženy výsledky z morfometrického měření, které členilo rostliny také do dvou skupin. Na skupinu s přibližně stejně širokými listy s krátkým řapíkem a do skupiny s dlouhými úzkými listy a delším řapíkem. V této skupině byly rostliny podle ArcGis odvezených dat z lokalit nacházejících se blízko obydlí a na relativně nových lokalitách. Tyto geneticky odlišné rostliny se na tato místa mohla dostat různě. Buď vysazováním nových kultivarů dovezených z jiných zemí, nebo vegetativním množением rostlin z celé české republiky. Rostliny charakteristické pro cluster 2 byly klony jedné rostliny z období středověku, kdy nebylo vysazování nových kultivarů jednoduché. Lze se domnívat, že šlo o rostlinu dovezenou z nějaké jižní oblasti do okrasné zahrady, kde byla pro své růstové vlastnosti velmi kladně přijata a díky vegetativnímu růstu se začala šířit dál od člověka k člověku.

5.1.3 Porovnání morfometrických dat z května a prosince

Hodnoty změřené v květnu se lišily od těch prosincových tím, že se sbírali 2 listy z každé rostliny a to každý z jiného výhonu rostliny. Velký důraz se kladl na to, aby byly listy sebrány z loňských tmavých prýtů, které reprezentovali původní lokalitu dané rostliny, ze které byly sebrány. V grafech byly použity průměrné hodnoty jednotlivých změřených hodnot. U květnového měření to byl průměr ze dvou listů a u prosincového měření to byl průměr ze tří listů. V prosincovém měření se odebírali 3 listy z každé rostliny, každý z jiného výhonu a v tomto období už probíhal sběr z nově vyrostlých prýtů ve školní sbírce (světle zelené).

Na základě tohoto porovnání se ukáže, jestli jsou dané naměřené hodnoty v různých časových obdobích různé. Přesnější výsledky by se získaly, kdyby probíhal sběr alespoň ve dvou vegetačních obdobích.

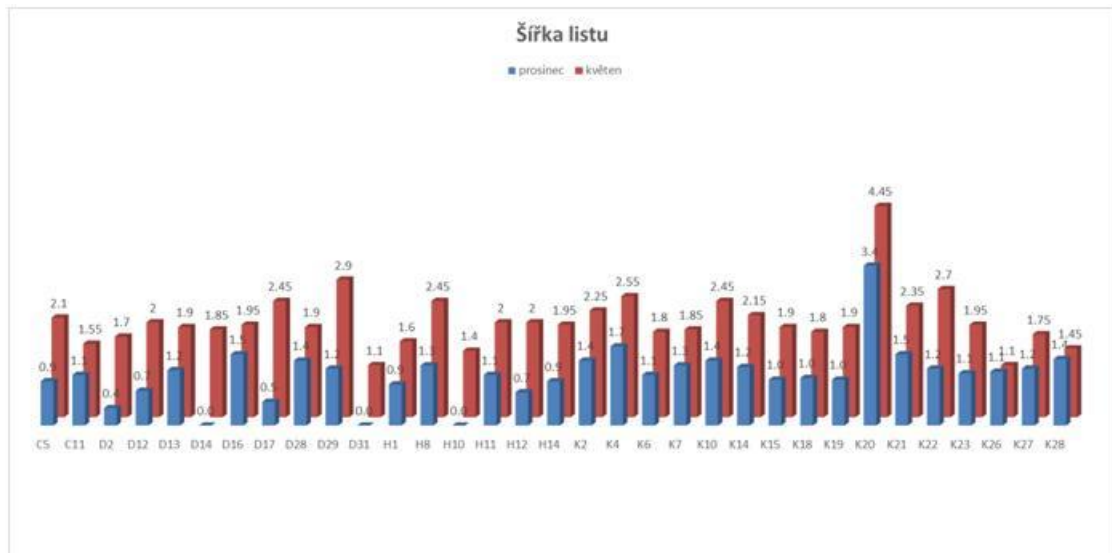


Graf č. 1 Délka listu.

První porovnání bylo provedeno u hodnoty délky listů (viz graf č. 1), kde značně přesahují hodnoty květnové nad hodnotami prosincovými. Nelze však z tohoto srovnání dělat nějaké závěry, protože staré prýty jsou z fyziologického hlediska o mnoho větší než listy nové. V grafu lze také vidět, že původní křivka je v některých oblastech grafu narušena a hodnoty se výrazně liší např. u vzorků D2, D17, H12, K22. Růstová forma u některých rostlin mohla být narušena, proto vykazují relativně nižší hodnoty (poškození rostliny) nebo u některých rostlin došlo k úplnému úhynu (D14, D31, H10).



Graf č. 2 Poměr délka / šířka listu.

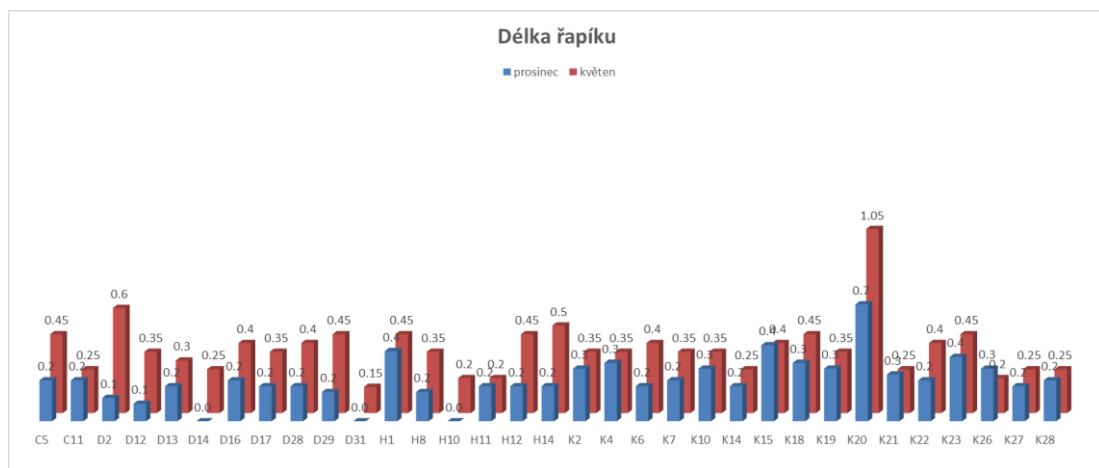


Graf č. 3 Šířka listu.

Jako u znaku délka listu (graf č. 3) tomu bylo i u hodnot šířka listu, kdy byly opět hodnoty z května mnohem větší, než z prosince.

Opět se jedná o růstový znak, který nám dokládá, že se v prosinci jednalo o mladé listy, které nedosáhly svého růstového maxima. Křivka v grafu je ale konstantnější než u délky listu. Může se tedy jednat o znak, který je stálejší a není tak variabilní, což ale nelze na základě zařazení do clusterů a pomocí programu STATISTIKA potvrdit.

Délka řapíku (graf č. 4), jako růstový znak vykazoval stejné hodnoty jako délka listu a šířka listu, opět převyšovali květnové hodnoty nad hodnotami prosincovými a křivka grafu zůstala relativně zachována. Tedy mezi hodnotami v květnu a prosinci není viditelný rozdíl.



Graf č. 4 Délka řapíku.

5.2 Celý datový soubor tvořený 86 vzorky

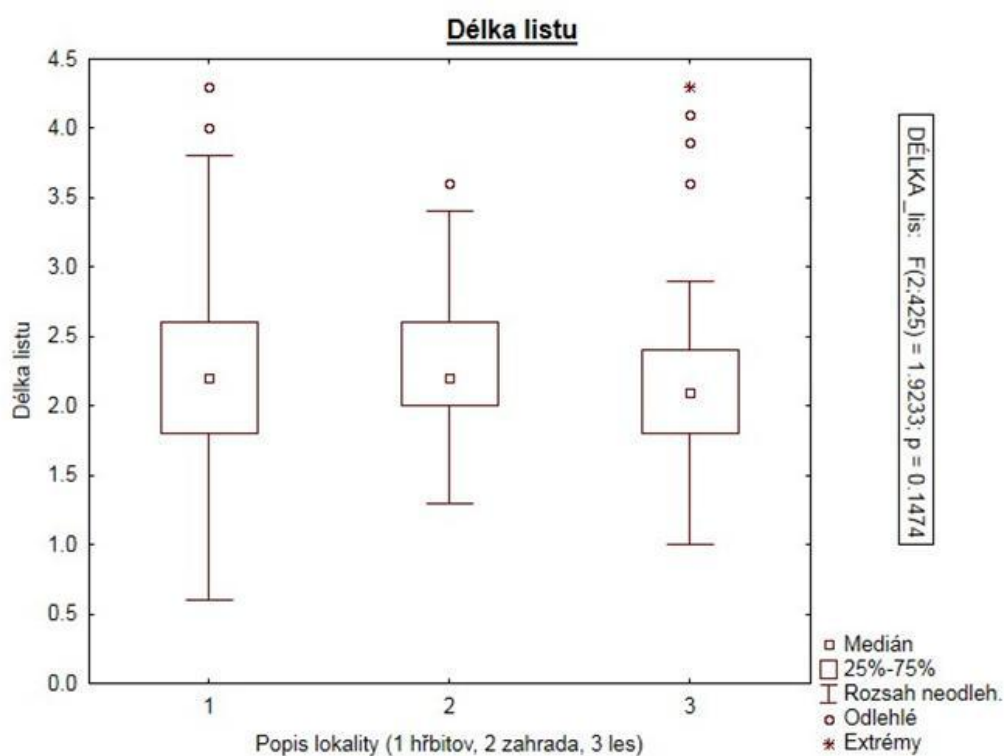
Sbírka obsahovala 86 rostlin, které mohly být použity do analýz. Jednalo se o rostliny, nacházející se ve sbírce od května 2014 a i když se sbírka rozrůstala a v prosinci tam bylo již přes 120 rostlin, mohlo být použito kvůli shodě pouze počátečních 86 rostlin.

5.2.1 Analýza dat pomocí programu STATISTIKA

Tato analýza měla ukázat, jestli proměnné prostředí ovlivňují morfometrické znaky. Data se importovala z Excelové tabulky do programu a použila se jednofaktorová analýza ANOVA. Zadaly se závislé proměnné, na které se ptáme (délka, šířka atd.) a budeme to vysvětlovat pro jednu proměnnou (lesnatost, popis lokality atd.). Tvar listu musel být vyřazen kvůli nulovému rozptylu (pouze tvar 1).

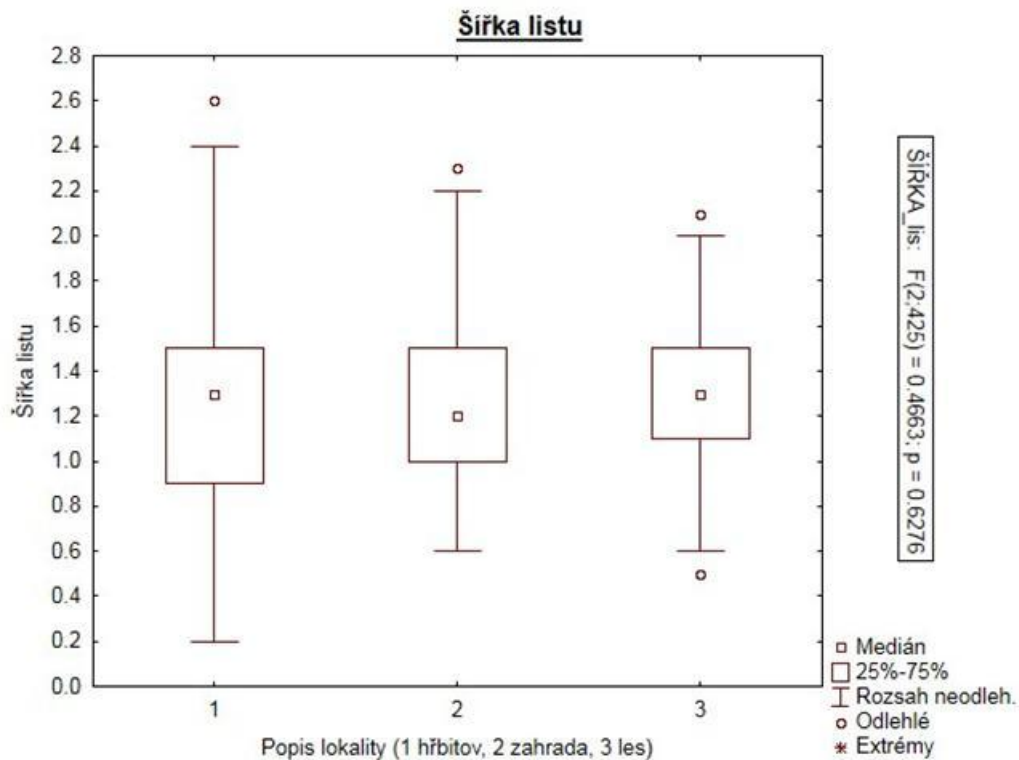
POPIS LOKALITY

V této kapitole byla vysvětlující proměnou popis lokality. Proměnná popis lokality byla rozdělena do tří kategorií, (1) byly kostely, křížky, hřbitovy, (2) byla zahrady a parky a (3) byla les nebo lesní oblast. V prvním krabicovém grafu jsme měli zadanou jako závislou proměnou délku listu a vysvětlující proměnnou popis lokality. Tento první graf vyšel nesignifikantní, viz obr. č. 5. Hodnota $p = 0,1474$ je příliš vysoká, hraniční hodnota signifikance je $p = 0,0500$. Znamená to, že délka listu není závislá na druhu lokality.



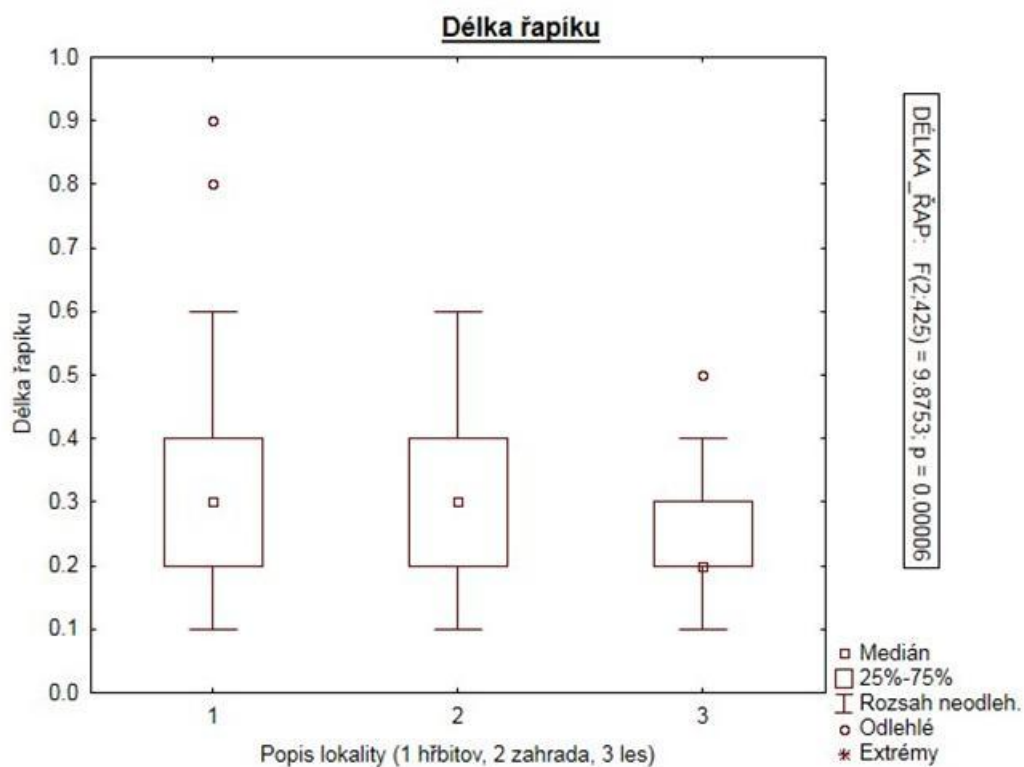
Obr. č. 5 Krabicový graf délka listu s vysvětlující proměnnou Popis lokality.

Druhý graf se závislou proměnou šířka listu byl také nesignifikantní. Opět hodnota $p = 0,6276$ byla příliš vysoká a pravděpodobnost, že by tento znak mohl být signifikantní je 6 %, viz obr. č. 6. Šířka listu není závislá na druhu lokality.



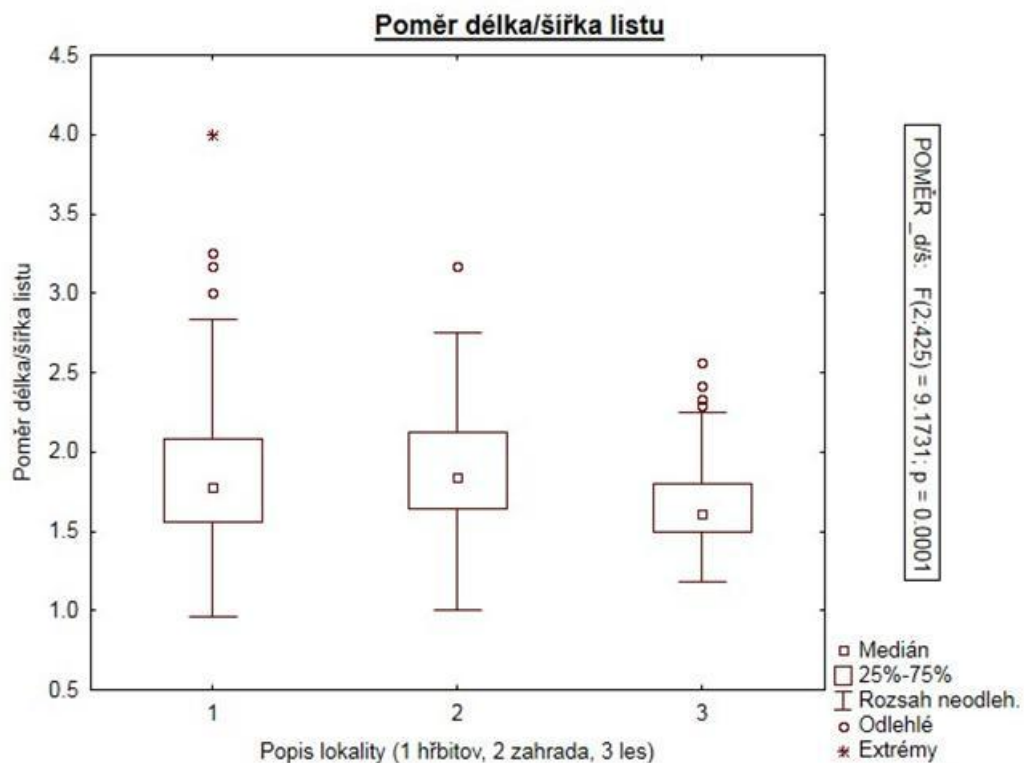
Obr. č. 6 Krabicový graf šířka listu s vysvětlující proměnnou Popis lokality.

Třetí graf se závislou proměnnou délka řapíku naopak vyšla velmi signifikantně. Hodnota $p = 0,00006$ nám vyjadřuje téměř stoprocentní pravděpodobnost signifikance tohoto znaku viz Obr. č. 7 a výsledek tohoto grafu nám říká, že délka řapíku je velmi závislá na lokalitě. V tomto případě se ukázalo, že v lesích a přírodních oblastech (3) je délka řapíku výrazně nižší. Tento znak koreluje i s výsledky podloženými genetickou analýzou.



Obr. č. 7 Krabicový graf délka řapíku s vysvětlující proměnnou Popis lokality.

Čtvrtý graf, se závislou proměnnou poměr délka/šířka listu, vyšel taktéž signifikantně, viz obr. č. 8 s hodnotou $p = 0,0001$ a vyjadřuje nám, že poměrové znaky jsou závislé na prostředí. Neplatí to ale u každé proměnné zvláště (délka, šířka). Konkrétně tato proměnná ukázala, že listy rostoucí v lesích jsou širší než na lokalitách blíže osídlení. Tuto skutečnost nám potvrzuje fakt, že listy v lesích musí mít širší listovou plochu kvůli absorpci světla. Tento výsledek také potvrdil korelaci s genetickou analýzou, která rozdělila rostliny do dvou clusterů, z toho jeden (cluster 2) tvoří stejný taxon, charakteristický širšími listy a kratším řapíkem. Jedná se o starobylé formy barvínku nacházející se na zaniklých sídlech. Další závislé proměnné (žilnatina, barva listu) nevykazovali signifikanci.

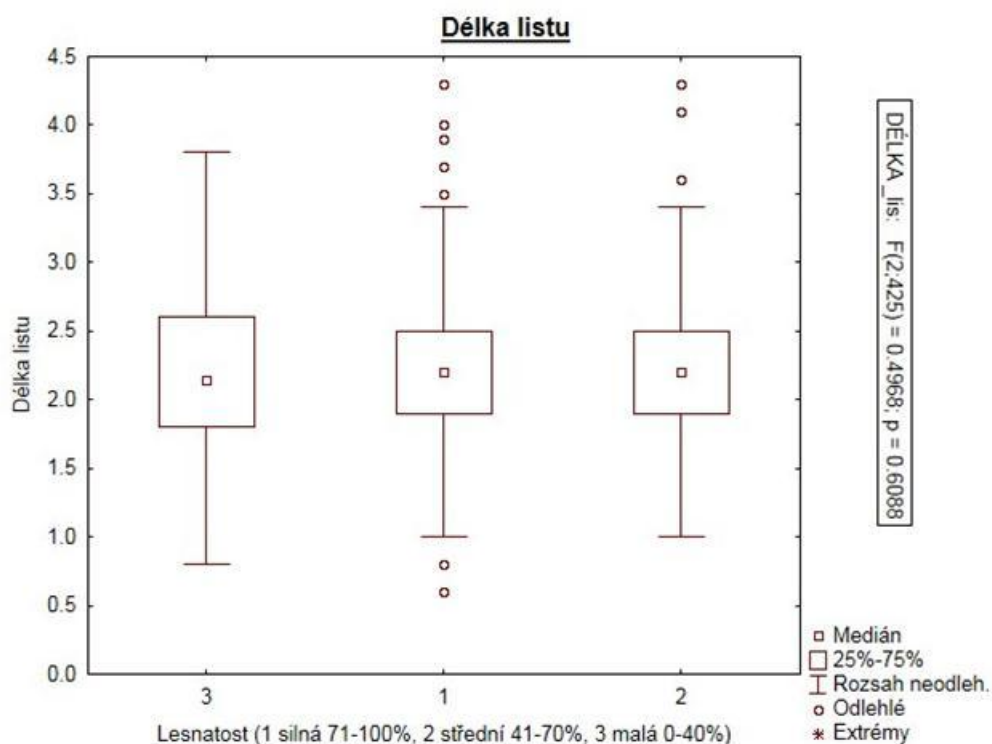


Obr. č. 8 Krabicový graf poměr délka / šířka s vysvětlující proměnnou Popis lokality.

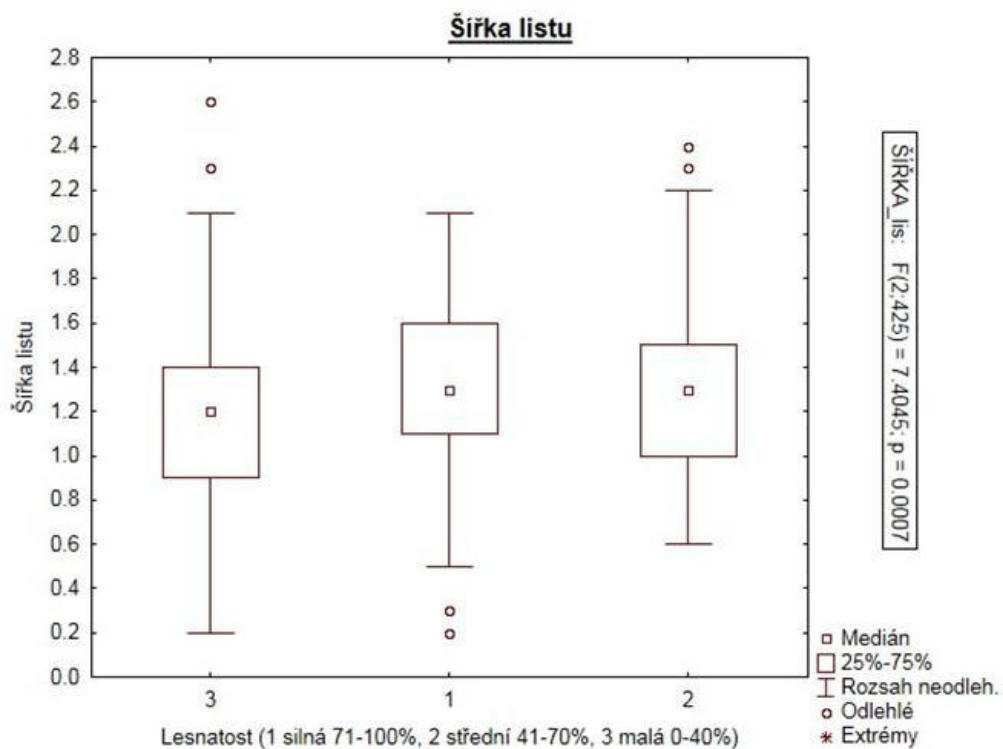
LESNATOST

Vysvětlující proměnou je lesnatost. Tato proměnná byla rozdělena také do tří skupin podle procentuálního zastoupení lesa kolem místa sběru rostliny v okruhu 1 km². Skupina (1) silná lesnatost je od 71% do 100%, skupina (2) střední lesnatost je v rozmezí 41 – 70% a skupina (3) se nachází v rozmezí 0 – 40%.

V prvním grafu je závislou proměnou délka listu (obr. č. 9) a projevila se opět nesignifikantně s hodnotou $p = 0,6088$. Naopak tomu bylo v grafu druhém, kde závislou proměnou byla šířka listu a vyšla signifikantně s hodnotou $p = 0,0007$ (obr. č. 10). Tato hodnota ukazuje, že v nejméně lesnatých lokalitách (3) se vyskytují rostliny s nejužší formou listů. Taxony vyskytující se ve městech mimo les jsou charakteristické touto formou listů.

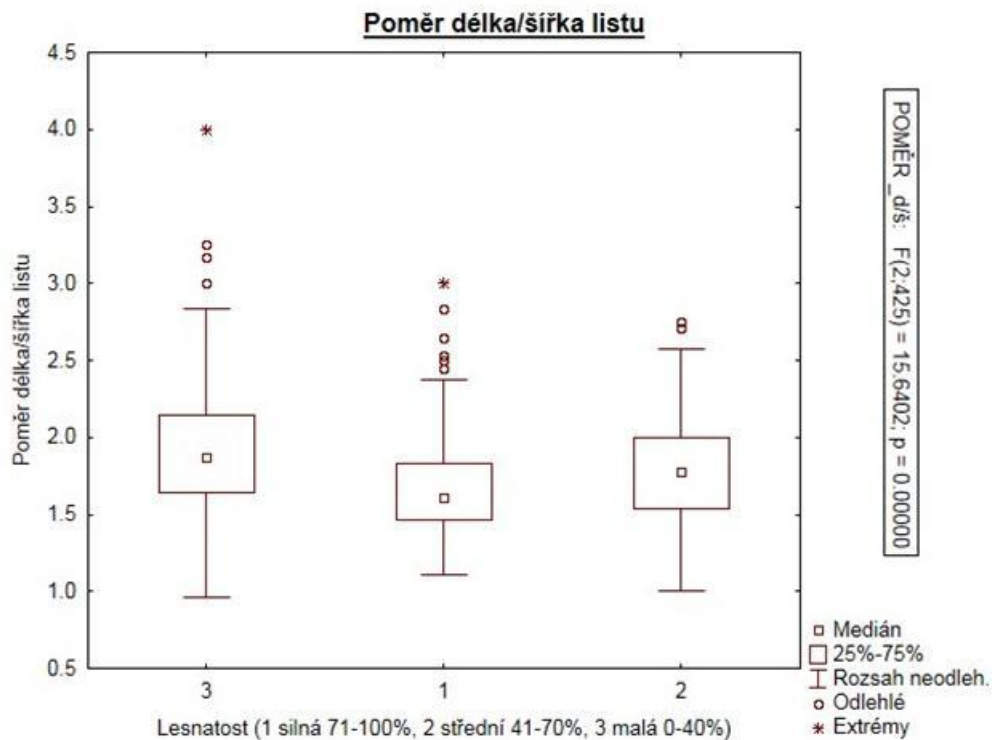


Obr. č. 9 Krabicový graf délka listu s vysvětlující proměnou Lesnatost.

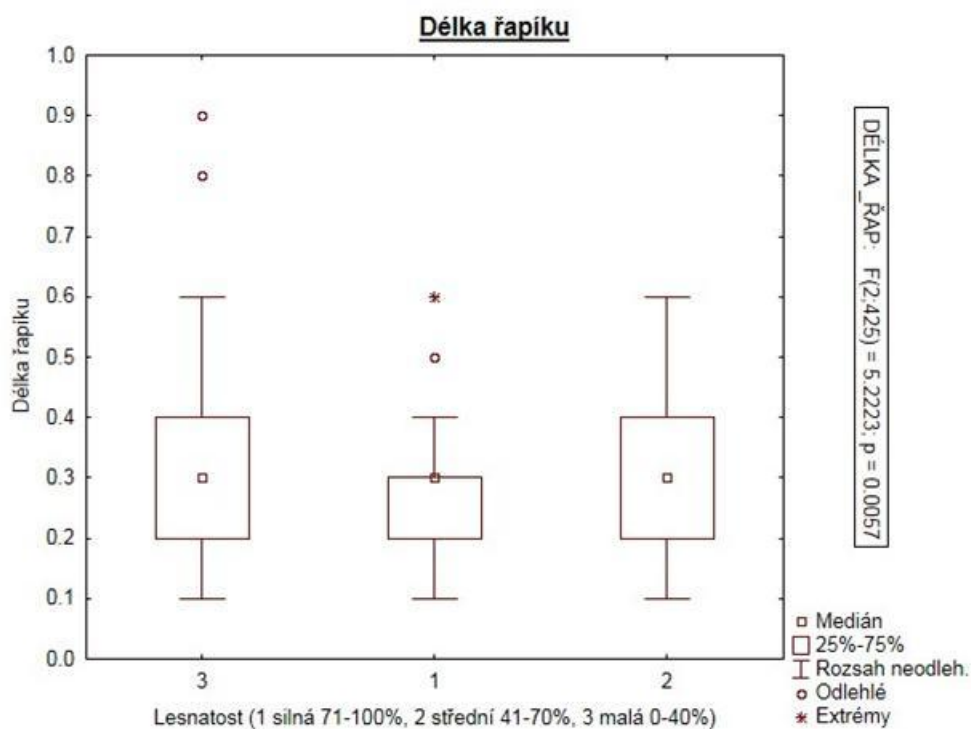


Obr. č. 10 Krabicový graf šířka listu s vysvětlující proměnnou Lesnatost.

Třetí graf se závislou proměnnou poměr délka/šířka listu opět ukázal signifikanci v závislosti na lesnatosti prostředí. Opět se vyskytují v nejvíce lesnatých oblastech taxony barvínku s nejširšími plochami listů, viz obr. č. 11. Potvrzuje to výsledek z předchozích grafů s vysvětlující proměnnou popis lokalit. Stejně signifikantní byl graf se závislou proměnnou délka řapíku $p = 0,0057$, který potvrdil výsledek z předchozích grafů, že na nejvíce lesnatých lokalitách (1), se nacházejí rostliny s kratšími řapíky, viz obr. č. 12.



Obr. č. 11 Krabicový graf poměr délka / šířka listu s vysvětlující proměnnou Lesnatost.

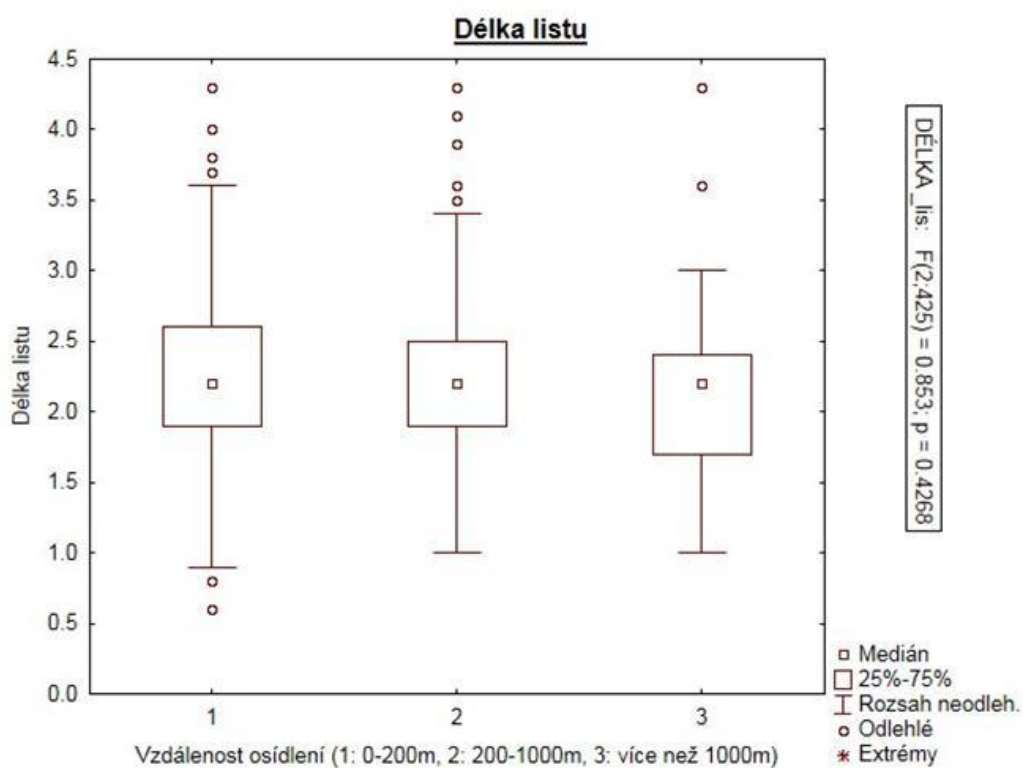


Obr. č. 12 Krabicový graf délka řapíku s vysvětlující proměnnou Lesnatost.

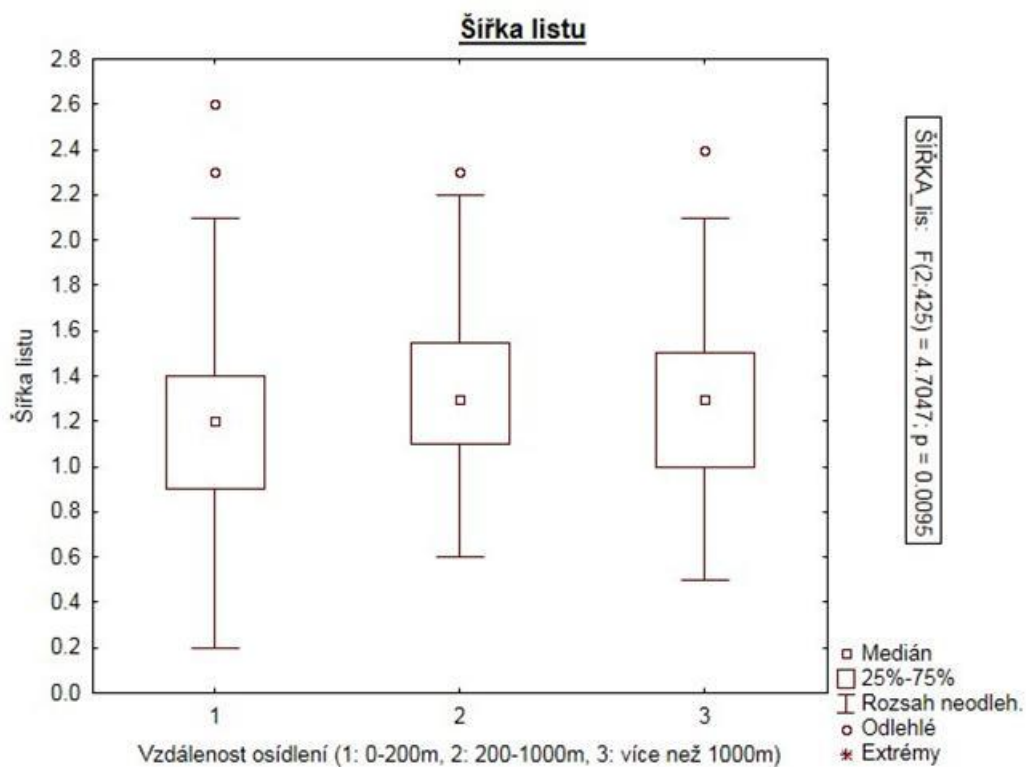
Jako signifikantní se s touto proměnnou ukázala i žilnatina, která je výraznější na lokalitách se silnou lesnatostí. To může souviset s větší listovou plochou listu.

VZDÁLENOST OD NEJBLIŽŠÍHO OSÍDLENÍ

Vysvětlující proměnou je v tomto případě vzdálenost od nejbližšího osídlení, která ukazovala, jaký má vliv působení lidí na růstové formy barvínku. S tímto vysvětlující faktorem byla signifikantní šířka listu. Tento výsledek znovu poukazyval na to, že ve vzdálenosti do 200 m od nejbližší zástavby se vyskytují rostliny s užšími listy a postupně se vzdalující od osídlení mají listy širší (obr. č. 14). V odstupu vzdálenosti od zástavby se profilují různé genotypy rostlin, které mají různou variabilitu v terénu. Délka listu nebyla signifikantní s hodnotou $p = 0,4268$. Hraniční hodnota signifikance je $p = 0,05$. Vzdálenost osídlení od výskytu rostliny nemá vliv na délku listu (obr. č. 13).

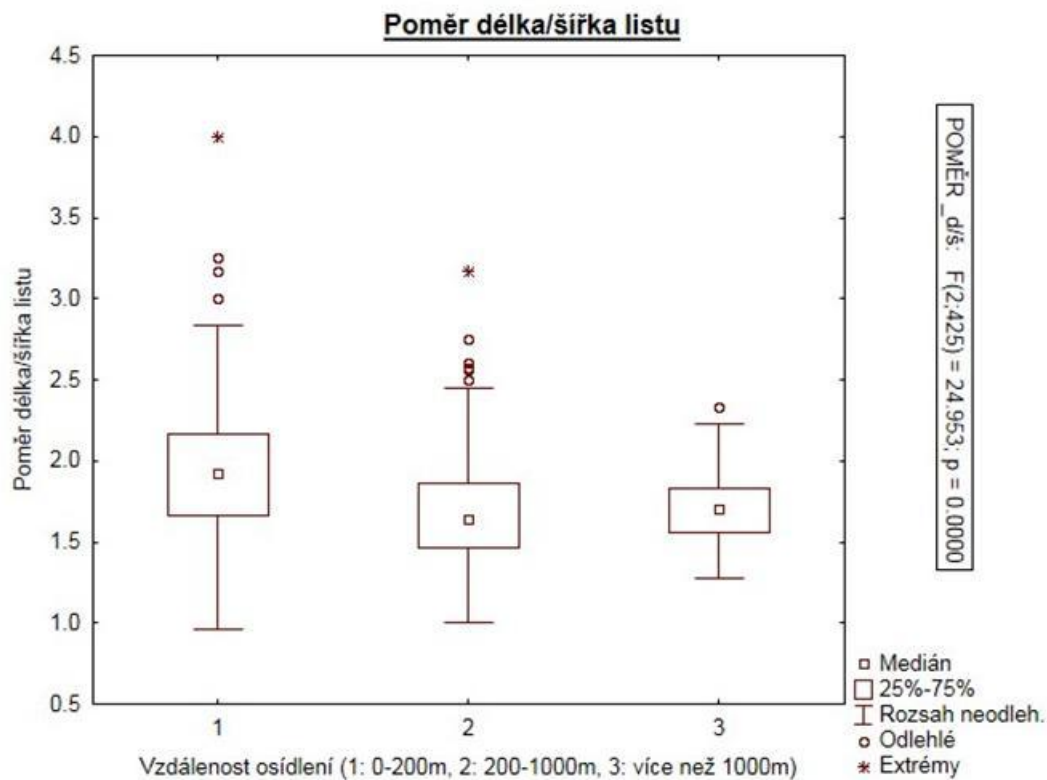


Obr. č. 13 Krabicový graf délka listu s vysvětlující proměnou Vzdálenost osídlení.

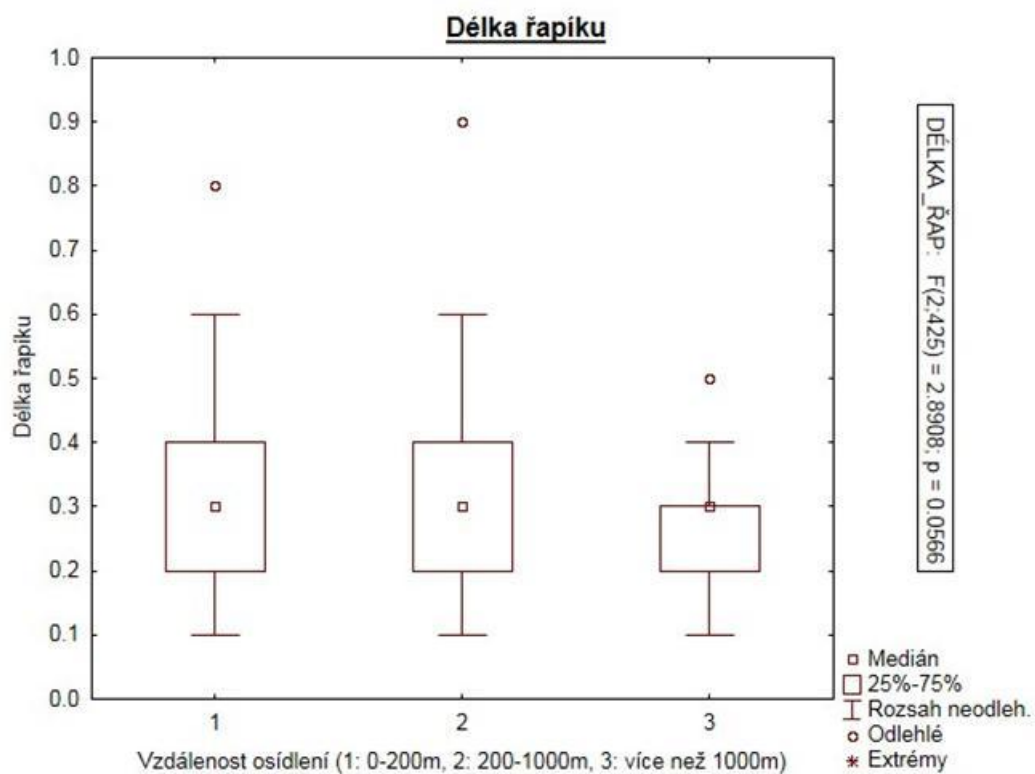


Obr. č. 14 Krabicový graf šířka listu s vysvětlující proměnnou Vzdálenost osídlení.

Dalším velmi signifikantním znakem byl poměr délka/šířka listu s hodnotou $p = 0,0000$, která vyjadřuje 100% závislost na proměnné vzdálenost osídlení. Nejvzdálenější lokality nad 1000 m od osídlení mají kulatější formy listů než na lokalitách blízko osídlení, viz obr. č. 15. Naopak málo signifikantní (na hranici) se ukázala délka řapíku, viz obr. č. 16, kde je hodnota $p = 0,0566$. Nezávisí proto délka řapíku listu na vzdálenosti od osídlení.



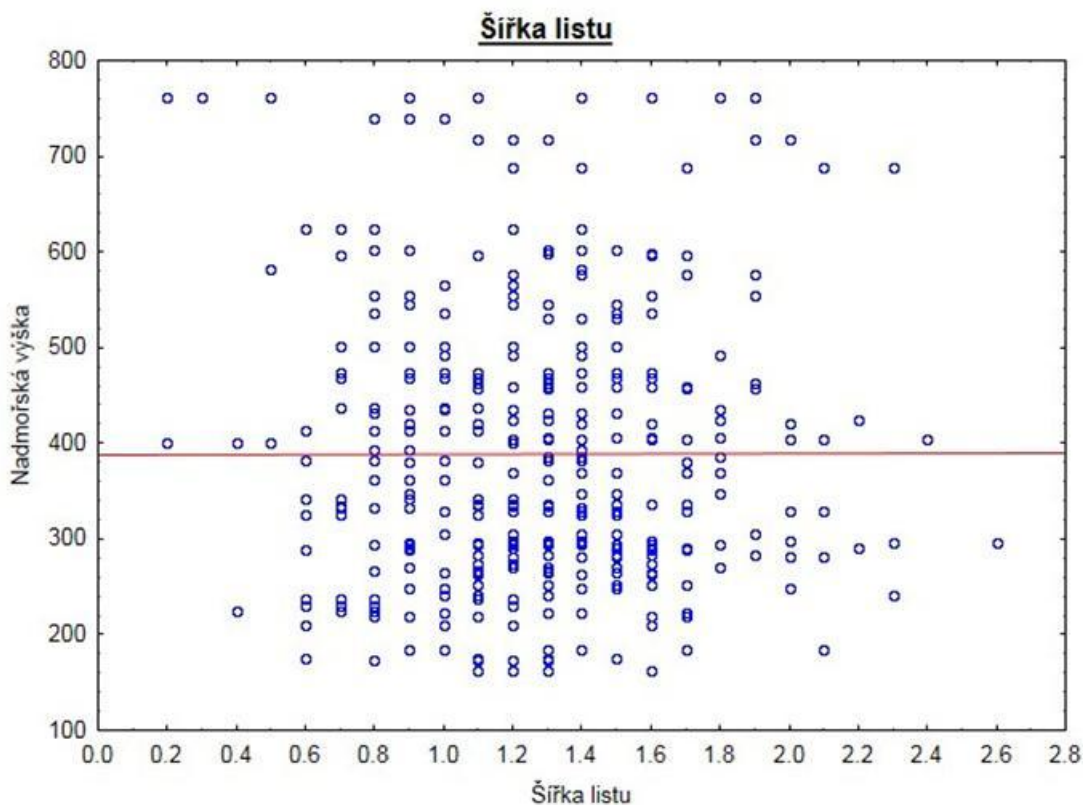
Obr. č. 15 Krabicový graf poměr délka/šířka listu s vysvětlující proměnnou Vzdálenost osídlení.



Obr. č. 16 Krabicový graf délka řapíku s vysvětlující proměnnou Vzdálenost osídlení.

NADMOŘSKÁ VÝŠKA

U této vysvětlující proměnné byl použit 2D bodový graf. Tento graf znázorňuje lineární korelaci pomocí vodorovné osy. Jeli osa rovnoběžná s osou x není zde žádná závislost. Čím více je osa zešikmená, tím je závislost mezi danými proměnnými větší. Bohužel se nadmořská výška ukázala jako nesignifikantní a korelace nenastala s žádnou proměnnou. Tento parametr tedy může být opomenut, viz obr. č. 17.



Obr. č. 17 Bodový graf šířka listu s vysvětlující proměnnou Nadmořská výška.

5.2.2 Porovnání morfometrických dat z května a prosince

Toto porovnání dat muselo být uskutečněno v programu statistika kvůli objemu naměřených dat z období května a prosince (86 rostlin). Výsledky poskytují náhled na to, jak se liší dané hodnoty v jednotlivých měřeních. Byla použita analýza popisné statistiky a frekvenční histogramy.

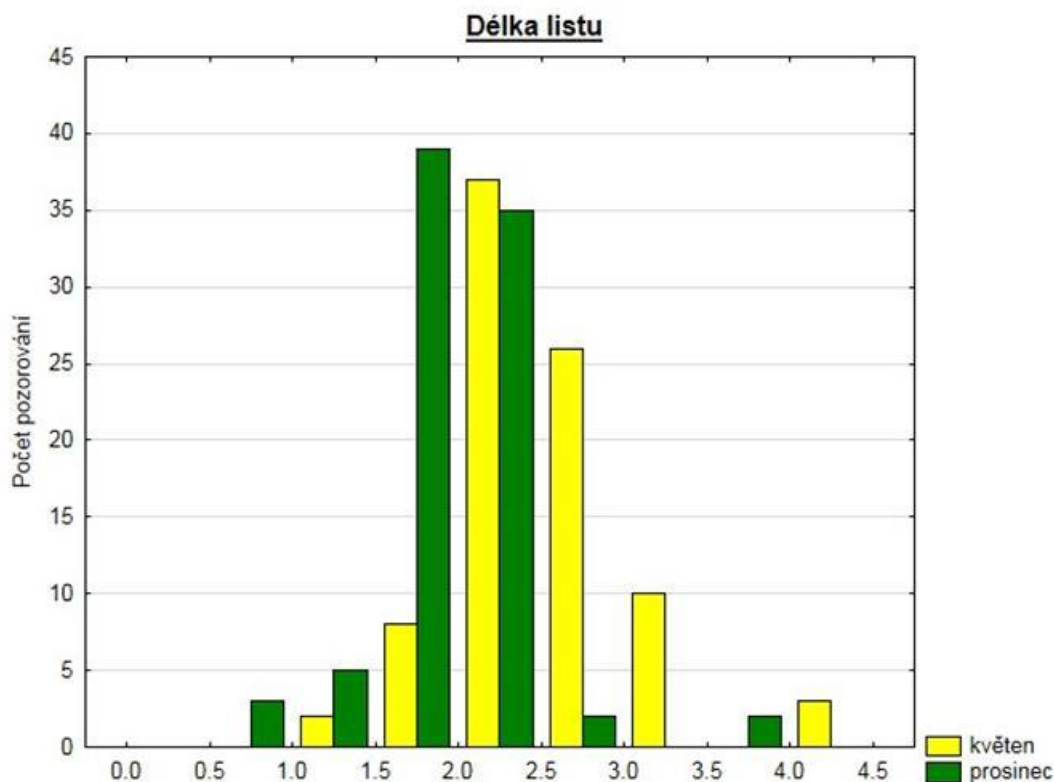
V porovnání dat u délky listu se pomocí popisné statistiky (tab. č. 5) ukázalo, že se průměr délky listu v období květen a prosinec razantně liší, stejně tomu je u maxima a minima, kde hodnoty v květnu jsou 1,25 a v prosinci 0,67. Z těchto hodnot lze potvrdit výsledky podobné s těmi, co byly provedeny na vybraných vzorcích (32). Ukazuje se, že hodnoty v květnu značně převyšují ty z prosince, což je dané obdobím

růstu a stářím listů, nejedná se tedy o signifikantní znak. Tento fakt naznačuje i hodnota směrodatné odchytky, která se liší o 0,05 a vyjadřuje tak velkou podobnost mezi dvěma obdobími v naměřených hodnotách. Směrodatná odchytka vypovídá o tom, jak moc se od sebe liší typické případy v souboru zkoumaných čísel. Je-li malá, jsou si prvky navzájem podobné a naopak velká směrodatná odchytky určuje velkou odlišnost.

Tab. č. 5 Popisná statistika (délka listu).

Proměnná	Popisné statistiky délka listu				
	N platných	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.
prosinec	86	1.986822	0.666667	3.833333	0.464597
květen	86	2.533140	1.250000	4.150000	0.509937

Frekvenční histogram ukazuje, že jednoznačně větších hodnot nabývají data z května, která se vyskytují na pravé straně grafu, viz graf č. 5. Tento výsledek potvrzuje, že listy z roku 2013 jsou větší než listy z nové vegetační sezóny 2014.

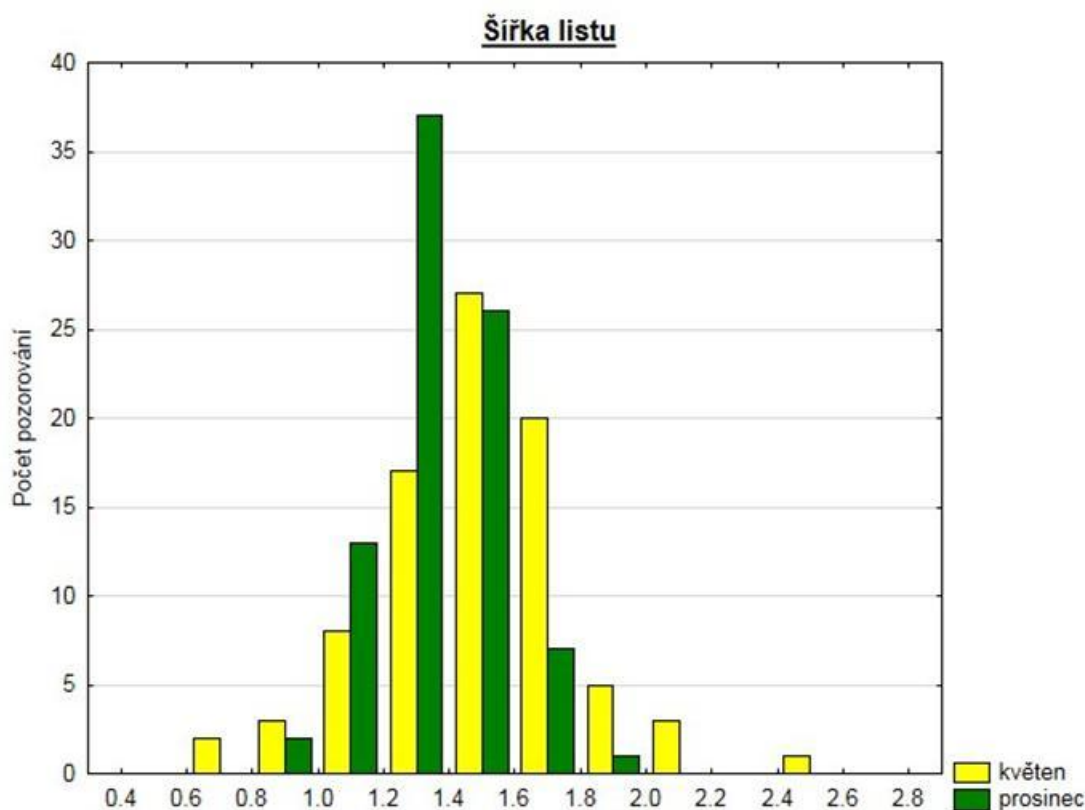


Graf č. 5 Frekvenční histogram délka listu.

U šířky listu se jednotlivé hodnoty nelišily tolik, jako tomu bylo u délky listu, ale směrodatná odchylka byla větší, měla hodny v květnu 0,29 a v prosinci 0,17. Tento údaj se může jevit jako menší podobnost v jednotlivých měřeních a to proto, že ve dvou odlišných obdobích se jedná a dvě odlišné růstové formy, které se liší šířkou listu. U starších listů z května se jedná o listy širší a v prosinci o listy nové s užší listovou formou (tab. č. 6). Frekvenční histogram ukazuje, že hodnoty šířky listu jsou vyváženější v obou obdobích, než tomu bylo u délky listu, ale opět se ukazují širší listy ty, které byly naměřeny v květnu, což je dáno stářím listu (graf č. 6).

Tab. č. 6 Popisná statistika (šířka listu)

Proměnná	Popisné statistiky šířka listu				
	N platných	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.
prosinec	86	1.366761	0.881481	1.830556	0.177107
květen	86	1.512791	0.750000	2.450000	0.295773

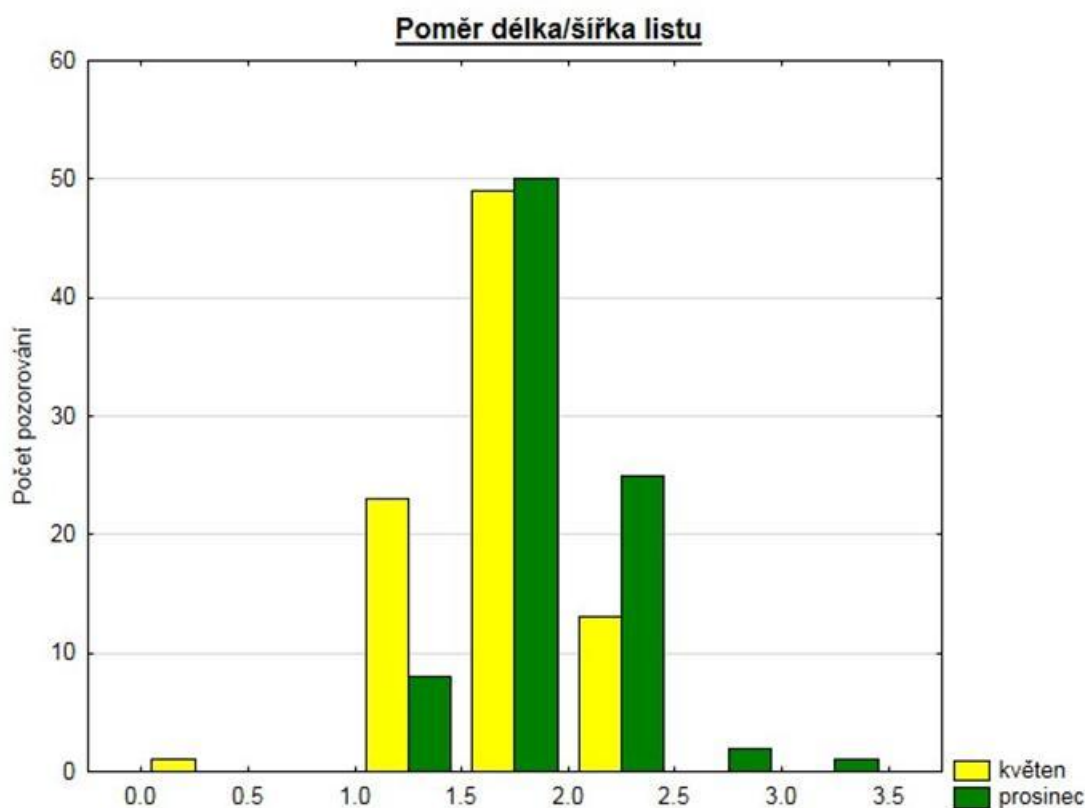


Graf č. 6 Frekvenční histogram šířka listu.

Jako velmi signifikantní znak byl u předchozích analýz vybrán poměr délky a šířky listu, přesto v popisné statistice vyšlo, že směrodatná odchylka je v tomto případě úplně minimální, tedy podobnost naměřených dat v jednotlivých obdobích je velmi vysoká. Směrodatná odchylka v květnu vykazuje hodnotu 0,330 a v prosinci 0,334, viz tab. č. 7. Tento poměrový znak ukazuje šířkovou formu listu a výsledky z této popisné statistiky by potvrzovaly hypotézu, že se listy v šířce liší pouze podle staří, ale následně se rozdíl mezi těmito hodnotami zmenší na minimum. Frekvenční histogram je v tomto případě také velmi vyrovnaný. Graf také ukazuje, že u tohoto poměrového znaku poprvé slabě převyšují hodnoty z prosince (graf č. 7). To znamená, že listy naměřené v prosinci, mají kulatější tvar než listy naměřené v květnu. Tato hypotéza by se musela potvrdit opakovaním měření ve více vegetačních sezónách.

Tab. č. 7 Popisná statistika (poměr délka / šířka listu).

Proměnná	Popisné statistiky poměr délka/šířka				
	N platných	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.
prosinec	86	1.862216	1.353704	3.083333	0.334127
květen	86	1.708275	0.480769	2.487132	0.330556



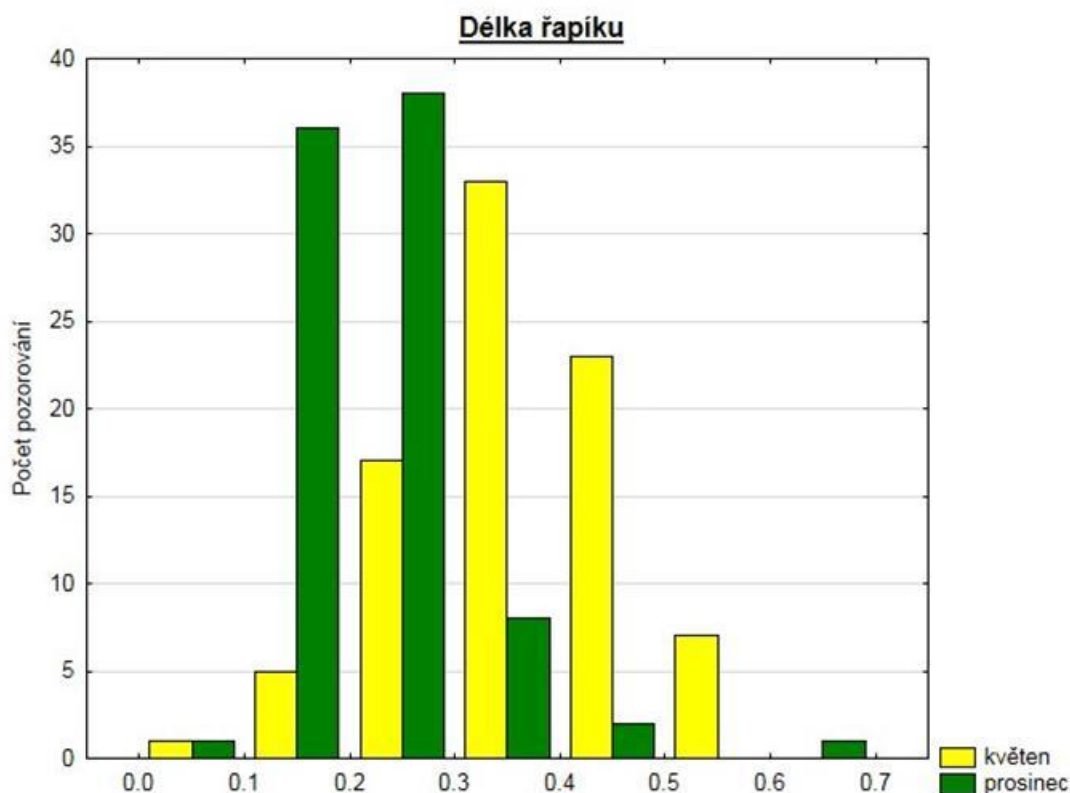
Graf č. 7 Frekvenční histogram poměru délka/šířka listu.

Délka řapíku se v květnu oproti prosinci neliší výrazně v žádné proměnné, například minimum je stejné a maximum se liší o pouhých 0,03 desetiny. Jen průměrné hodnoty v prosinci jsou 0,12 menší než v květnu, což je zase dáno růstovou formou v daném období. V prosinci nemohou listy dosahovat takových rozměrů jako v květnu. Směrodatná odchylka se liší v prosinci o 0,02 a jsou si tedy tyto naměřené hodnoty v květnu a v červnu velmi podobné (tab. č. 8).

Tab. č. 8 Popisná statistika (délka řapíku).

Proměnná	Popisné statistiky délka řapíku				
	N platných	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.
prosinec	86	0.243798	0.100000	0.633333	0.083276
květen	86	0.384884	0.100000	0.600000	0.104620

Frekvenční histogram ukazuje výskyt prosincových dat v levé části grafu, tedy nabývají menších hodnot, než data květnová nacházející se v pravé části grafu (graf č. 8). Květnové hodnoty mají takřka ideální rozdělení.



Graf č. 8 Frekvenční histogram délky řapíku.

6. DISKUZE

6.1 Vliv prostředí na růstové vlastnosti barvínku

V případě této hodnoty byly eliminovány růstové rozdíly v průběhu let a zjistili se hmatatelné hodnoty, které se dají použít k porovnání jednotlivých měření. Ukázalo se, že převážná většina rostlin měřených v květnu, měla větší růstové formy listů než v prosinci. Tento fakt může být dán tím, že rostliny byly vytrženy ze svého původního prostředí, kde měly ideální podmínky pro svůj růst. Po vysazení do školní sbírky se musely adaptovat na nové prostředí a přizpůsobit tomu růst. Během sběru mohlo také dojít k mechanickému poškození kořenů a adaptace na nové prostředí tak byla značně omezena, popřípadě došlo k úplnému úhynu např. u rostlin D13, D29 a H8. Některé rostliny, ale vykazovaly v prosincovém měření vyšší hodnoty než v květnu a to může být způsobeno naopak dobrou adaptací a změnou výživových hodnot půdy k lepšímu, než tomu bylo na původní lokalitě. Zvýšila se tak schopnost produkce asimilačního aparátu. Jak uvádí ve své studii HUNER et al (1988) barvíněk je schopný fotosyntetizovat i v zimním období, kdy kompetice s ostatními rostlinami o světlo je minimální. Dalším vysvětlením pro velké odlišnosti hodnot v květnu a prosinci může být ve formě zastínění barvínku a jeho přizpůsobení na danou lokalitu. Globálně se jedná o rostliny vyskytující se převážně v polo zástinu nebo v úplném zástinu. V tomto případě mají tyto rostliny nacházející se v zástinu širší listovou plochu, což bylo potvrzeno i výsledky, kdy vyšlo, že rostliny vyskytující se na nejvíce zalesněných lokalitách mají širší listovou plochu. Po přenesení vzorků do školní sbírky mohlo dojít k adaptaci na místní podmínky. Sběrka není nijak krytá, zástin je proto úplně eliminován. K přizpůsobení mohlo dojít právě zúžením listů, aby nedocházelo k následnému spálení. Další hypotézou je, že květnové hodnoty jsou výrazně větší kvůli datu sběru a délce života daného listu sebraného na jaře. Jednalo se o listy ze sezóny 2013. Tyto listy reprezentovaly mateřskou lokalitu. Kdežto listy sebrané v prosinci byly z vegetační sezóny 2014, jednalo se tedy o nové listy, které neměly možnost a potřebný čas k tomu, aby dorostly do parametrů loňských listů. Tyto listy už měly odfiltrovanou závislost na mateřské lokalitě a vykazovaly pouze geneticky podmíněný růst listu. Podmínky pro všechny rostliny v experimentální sbírce byly stejné. Tento rozdíl je tedy předpokládatelný. Jako signifikantní se ale ukazuje poměrový znak délka listu s šířkou listu, kde se ukázalo,

že některé rostliny vykazují jiný růstový tvar, než měl na původní lokalitě. To může být zapříčiněno již zmíněnou adaptací na nové prostředí školní sbírky. Případné růstové rozdíly by bylo potřeba zkoumat ve více vegetačních obdobích.

6.2 Rozsah sbírky barvíčku v experimentální zahradě

Ve sbírce se na počátku měření nacházelo 86 rostlin. Sbírká se postupem času rozšiřuje, aby do budoucna bylo co nejvíce opakování v naměřených hodnotách. V prosinci na konci měření už sbírka obsahovala kolem 140 vzorků. Pro výsledné analýzy mohlo být použito pouze počátečních 86 vzorků, které byly naměřeny jako první v květnu, aby počet rostlin v jednotlivých obdobích byl stejný a bylo možné porovnání hodnot z obou těchto období. Tento fakt obírá výsledky o zhruba 50 rostlin, které se ve sbírce nacházejí navíc. Do budoucna se tyto vzorky zahrnou do analýz a výsledky budou dát podložit vícero opakováním. Dále se také bude pokračovat v genetických analýzách, aby byly všechny rostliny zařazeny do clusterů a rozděleny podle genetické informace. Dalším limitním znakem v měření byl počet vegetačních období. Ve výsledcích jsou konfrontovány data z května a prosince a dedukovány parametry budoucích výhonů a listů. Lepší porovnání by proběhlo v případě, že by se měření provádělo alespoň ve dvou vegetačních či ve více obdobích. Další chyba při sbírání listů, která se mohla vyskytnout, byla při sbírání listů z prýtlů rostliny. U některých rostlin byl špatně rozeznatelný prýt z vegetační sezóny 2013 s prýty z roku 2014. Jedná se tedy o subjektivní posouzení, které nemusí být vždy správné.

6.3 Variabilita vzorků a vliv na klasifikaci zaniklých sídel

Cluster 1 ukázal různorodost testovaných vzorků, zatímco Cluster 2 byl homogenní bez dalších dílčích podclusterů. Tyto výsledky ukazují, že Cluster 1 byl vytvořen za pomoci několika rostlin s různým genotypem. Zatímco clusteru 2 byl tvořen jediným genotypem nebo velmi podobnými genotypy. V genetické analýze, která se na tuto práci použila, nebylo možné odlišit tyto velmi podobné genotypy zařazené do clusteru 2, proto bude do budoucna použita jiná genetická analýza, např. AFLP, jelikož je třeba tuto otázku dořešit.

Vysoká homogenita clusteru 2 silně podporuje hypotézu o zcela allochtoním charakteru výskytu barvíčku menšího v České republice. Rostliny byly

pravděpodobně distribuovány z jednoho klonu, což znamená, že podstatná část z celkového počtu rostlin v České republice se skládá z jedné genety. Všechny vzorky, nebo přesněji populace pradávného původu v České republice patří do Clusteru 2. Bylo by velmi zajímavé, kdyby se použily stejné metody a výzkum na území Polska nebo severovýchodního Německa. Tyto oblasti, spolu s Čechy, mají velmi podobnou historii raného středověku. Nepřímý vliv římského impéria s následným osídlením slovanskými kmeny na našem území přinesl barvínek, jako speciální léčivou a lékařsky důležitou rostlinu. Pravděpodobně mohl být zavlečen na české území v jednom období a šířen vegetativně mezi místními lidskými osídleními. Pak se jednalo o rostliny klonované, a proto genotyp zůstal stejný. Proto se tato rostlina začala používat v nedestruktivní archeologii pro indikaci zaniklých sídel. Barvínek pro svou růstovou formu přežívá na opuštěných stanovištích i po opuštění lidmi. Dalším otázkou do diskuze a pro budoucí výzkum je, proč se barvínek nemnoží generativně, popřípadě jako moc a jak často tvoří semena a o jaký druh semen se jedná. Naopak vzorky ze sousedních států patřící do Clusteru 1, nacházejících se ale na starověkých lokalitách (H1 z jihovýchodního Německa a H12 z východního Slovensku) mohly být pod větším vlivem římského impéria a import této rostliny mohl být četnější a genetická rozmanitost větší. Pro ověření této hypotézy je však zapotřebí odebrat mnohem více vzorků. Do clusteru 1 patří ta část české populace, která je mladšího původu. Jsou to typicky lokality ovlivněny krajinářskou architekturou 18. a 19. století (vzorky K15 a K26), kdy lze předpokládat, že zahraniční architekti, např. z Itálie, přivezli rostliny z oblastí jejich původu. Do tohoto clusteru patří i mladší hřbitovy, hlavně ty židovské (vzorky D2 a D31). Do budoucna se předpokládá dovoz nových genotypů a jejich postupná naturalizaci v České republice.

6.4 Okrasné kultivary a jejich variabilita

Panašované rostliny z Průhonického parku (K21), ze starého hrobu (C5) a z lesa v místě opuštěné pozdně středověké vesnice (K28) patří do homogenního clusteru 2, což naznačuje, že tyto zvláštní formy vzhledu listů jsou zapříčiněné somatickou mutací, které se šíří dál vegetativním množením. Na rozdíl od kultivarů s konkrétní barvou, nebo morfologií květů (K18, K19) z clusteru 1, které jsou geneticky kódovány.

6.5 Zaniklé středověké vesnice a jejich výzkum

Výzkumem zaniklých středověkých vesnic a vegetací vyskytující se na těchto lokalitách se zabývají ve své práci NOVÁ et KARLÍK (2010). Tvrdí, že se jedná o nejběžněji se vyskytující archeologické památky na území české republiky a to především v lesích, kde jejich pozůstatky nebyly poškozeny zemědělstvím. Zachovávají se základy domů, hraniční zidky, která jsem mohla sama pozorovat, při své terénní práci při bakalářském studiu např. na Bošířanech. Díky četnosti těchto pozůstatků se čím dál tím více využívá nedestruktivní archeologie, které zahrnují některé přírodovědné přístupy, včetně botanické indikace (KUNA 2004). Archeologické lokality se ale nezkoumají nijak podrobně a bývají zaznamenány pouze nápadné rostliny. Druhová skladba bylinného patra může také poskytnout odpověď na výskyt nějakého zaniklého sídla, ale do roku 2010 ještě nebylo provedeno žádné konkrétní měření a genetická analýza u *Vinca minor*, pomocí které by se dala tato hypotéza potvrdit. První takový výzkum proběhl na dvou zaniklých vesnicích Javor a Dolní Neslív. Pomocí vytyčení 3 zón (extravilán v rezervaci, extravilán mimo rezervaci a intravilán) se vytvořily fytoecologické snímky, pomocí kterých se odvodilo zastoupení barvínku v jednotlivých zónách. Na lokalitě Javor byl nejvíce patrný právě výskyt barvínku menšího. Nacházela se zde velká odlišnost v zastoupení na území rezervace a mimo ni. V rezervaci tvořil barvíněk téměř souvislý porost, kdežto mimo tvořil spíše izolované plochy (NOVÁ et KARLÍK 2010). K dalšímu pokroku v rozvíjení těchto výsledků napomáhá tato práce spolu s dalšími, které využívají přesně naměřená data a genetické analýzy. Genetická analýza zařadila jednotlivé rostliny do clusterů podle genetické variability a určila jejich výskyt. Morfometrické analýzy zase určily závislost prostředí na jednotlivých růstových veličinách. Další studie zabývající se barvínkem tvrdí, že může potvrdit výskyt na lokalitách nejméně za posledních 160 let. Pro posouzení předností této rostliny, jako nového modelového systému pro zjišťování evolučně potenciálních lokalit, byly zkoumány morfologické detaily a distribuce genotypu u barvínku (WANG et al 2011).

7. ZÁVĚR

Hlavním tématem této práce bylo poskytnutí dat naměřených v experimentální sbírce a poskytnout podklady pro morfometrické a genetické analýzy. Pomocí genetické analýzy ISSR byla zjištěna příslušnost do jednotlivých clusterů. Dále byla zjištěna variabilita naměřených hodnot ve dvou různých vegetačních obdobích. Genetická analýza poskytla rozdělení 32 rostlin do dvou skupin podle genetické informace. Cluster 2 sjednotil 21 vzorků na základě fragmentací primerů DNA. Jedná se pravděpodobně o jediný klon (jednu genetiku) množící se vegetativně v období středověku. Těchto 21 vzorků se vyskytovalo na lesních plochách na bývalých zaniklých vesnicích, zříceninách hradů v českém vnitrozemí a v okrajových částech České republiky. Cluster 1 tvořilo zbylých 11 vzorků, které vykazovaly genetickou odlišnost, ale u některých rostlin byla naznačená možná příbuznost. Například vzorek D16 se shlucoval se vzorkem K26. Tento cluster byl tvořen rostlinami odebranými na území České republiky, ale také vzorky ze zemí střední Evropy. Žádný vzorek v tomto clusteru nepocházel ze starých oblastí. Dalším cílem práce bylo zjistit pomocí prostorových dat z programu ArcGis prostorové parametry pro každou rostlinu z celé sbírky zvlášť. Pomocí těchto výstupů byly vytvořeny krabicové grafy ukazující vzájemné korelace mezi naměřenou hodnotou např. délka listu a prostorovým parametrem rostliny např. lesnatost. Další analýzou bylo vytvoření grafů, pomocí kterých se porovnávala data naměřená ve dvou odlišných vegetačních obdobích. Jedno bylo reprezentováno prýty z roku 2013 (tmavé) a druhé světlými prýty z vegetační sezóny 2014. Pomocí této analýzy se vytvořily grafy naznačujících růstovou křivku. Tato data se také použila pro popisnou statistiku, díky které se určila směrodatná odchylka pro každé období zvlášť a určila se míra odlišnosti mezi těmito hodnotami. Základním kamenem této práce bylo poskytnutí morfometrických dat k 32 vybraným vzorkům, u kterých byla provedena genetická analýza. Tyto naměřená data byla vyhodnocena v programu ANOVA a rozdělena do sloupců podle příslušnosti v clusteru. Jako signifikantní se v této analýze ukázaly tři proměnné (šířka, poměr a délka řapíku). Šířka listu měla hodnotu $p = 0,0000$, která vykazuje 100% signifikantní znak jak v T - testu tak v analýze ANOVA. Všechny tři proměnné vykazovaly hladinu významnosti p v rozmezí $\geq 0,0001$ do $0,0080$. Tyto hodnoty byly téměř stoprocentně signifikantní, lze je proto brát jako směrodatné. Obecně se po morfometrické analýze ukázalo, že cluster 1 má protáhlejší listy s

delšími řapíky a cluster 2 širší listy s kratšími řapíky. Toto tvrzení se potvrdilo i v analýze prostorových dat, vyčtených z programu ArcGis. Limitujícím prvkem této práce bylo, že neproběhlo měření ve vícero vegetačních sezónách tak, aby se eliminovala chyba, která se může vyskytnout při porovnání pouze dvou sezón. Je proto žádoucí pokračovat v tomto výzkumu a provádět porovnání hodnot ve více vegetačních sezón stejně jako rozšiřovat množství rostlin s genetickou analýzou. Všechny parametry, které se pomocí morfometrických dat zjišťovaly, měly napomoci při určování fytoindikačních schopnostech barvínku na zaniklých vesnicích a jeho následné využití v nedestruktivní archeologii. Z tohoto hlediska se jeví fytoindikace pomocí barvínku jako ideální při mapování a zjišťování působení lidské populace na lesních lokalitách.

8. LITERATURA

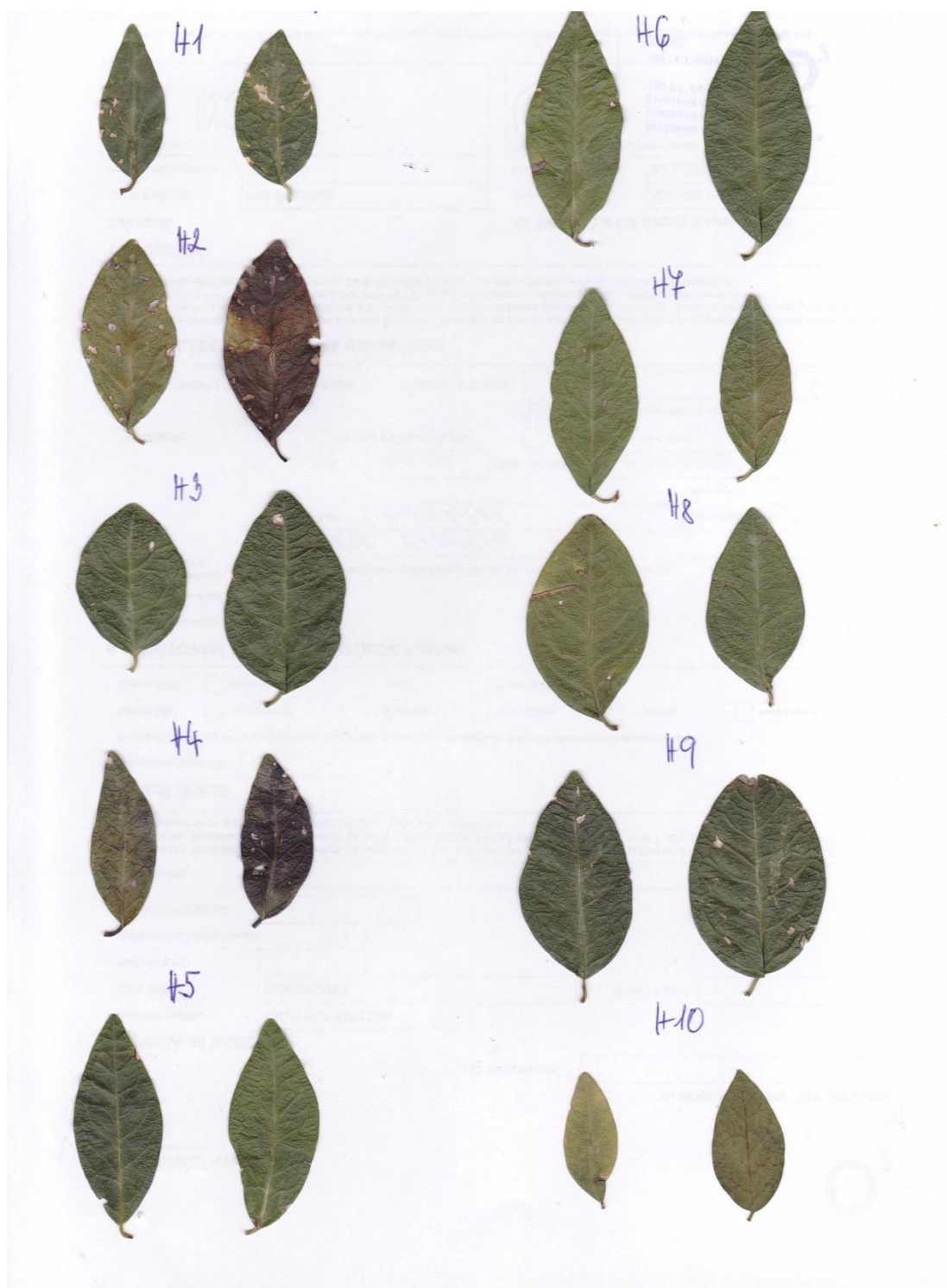
- DARCY J. A., BURKART C. M., 2002: Ellepatic Potential of *Vinca minor*, an Invasive Exotic Plant in West Michigan Forests. Beta Beta Beta Biological Society.
- DOLEJŠ K., 1990: Fytoindikátory a fytoindikace I. Vysoká škola zemědělská, Praha, 74 s.
- DOSTÁL J., 1989 : Nová květena _SSR - 1. díl. Academia, Praha, 1 548 s.
- ELLENBERG H., WEBER H. E., DULL R., WIRTH W., WERNER W., PAULISSEN D. [eds.], 1992: Zeigerwerte von Pflanzen in Mitteleuropa. Scripta Geobotanica, 18: 1-258.
- EŠNEROVÁ J., VÍTÁMVÁS J., KOŇASOVÁ T., KOLÁŘ F., BALÁŠ M., KARLÍK P., ZAHRADNÍK D., KŘÍŽOVÁ M., STACHO J., RAŠÁKOVÁ N., STEJSKAL J., KUNEŠ I., 2013: Využití obrysové analýzy při sledování morfologické variability listů rodu bříza (*BETULA L.*). ČZU v Praze.
- HAVLÍČEK M., 2009: Folia universitatis agriculturae et silviculturae mendelianae brunensis. Ediční středisko MZLU, Brno, 59 s.
- HRON F., ZEJBRLÍK O., 1987: Rostliny strání, skal, křovin a lesů. Státní pedagogické nakladatelství, n. p., Praha, 405 s.
- HUNER N. P. A., KROL M., WILLIAMS J. P., MAISSAN E., 1988: Overwintering Periwinkle (*Vinca minor L.*) Exhibits Increased Photosystem I Activity. - *Plant Physiology* 87: 721 – 726 s.
- JANČA J., ZENTRICH J., 1994: Herbář léčivých rostlin 1. Díl. Eminent, Praha, 288 s.
- JELITTO L., SCHACHT W., SIMON H., 2002: Die Freiland-Schmuckstauden: Handbuch und Lexikon der Gartenstauden. Band 2, I bis Z. – Verlag Eugen Ulmer. Stuttgart, 488 s.
- KLIMEŠ L., KLIMEŠOVÁ J., HENDRIKS R., VAN GROENENDAEL J., 1997: Clonal plant architecture: a comparative analysis of form and function. - In: de Kroon H. et VAN GROENENDAEL J. [eds.]: The ecology and evolution of clonal plants. Backhuys Publishers, Leiden, 1 - 29.

- KLIMEŠOVÁ J., DE BELLO F., 2009: CLO - PLA: the database of clonal and bud bank traits of Central European flora. *Journal of Vegetation Science* 20: 511 - 516 s.
- KRIŽO M., KRIŽOVÁ E., BIES R., VIEWEGH J., 1997: Atlas rostlin. Scriptum LF ČZU, Praha, 234 s.
- KUNA M., BENEŠ J., DRESLEROVÁ D., GOJDA M., HRUBÝ P., KŘIVÁNEK R., MAJER A., PRACH K., TOMÁŠEK M., 2004: Nedestruktivní archeologie. Academia, Praha, 555 s.
- LEPŠÍ M., VÍT P., LEPŠÍ P., BOUBLÍK K., KOLÁŘ F., 2009: *Sorbus portae* - *bohemicae* and *Sorbus albensis*, two new endemic apomictic species recognized based on a revision of *Sorbus bohemica*. *Preslia*, 81 (1): 63 – 89.
- LHOTSKÁ M., KROPÁČ Z., MAGET J., 1985: Kapesní atlas semen, plodů a klíčnic rostlin. SPN, Praha, 547 s.
- MEUSEL H., 1978: Vergleichende chorologie der Zentraleuropäischen Flora. Band II. - VEB Gustav Fischer Verlag, Jena, 418 s.
- MORAVEC J. [ed.], 1995: Rostlinná společenstva České republiky a jejich ohrožení. Severočeskou přírodou, Litoměřice, 206 s.
- NĚMEC B., PASTÝRIK L., 1956: Všeobecná botanika. Vydavatelstvo slovenskej akadémie vied, Bratislava, 858 s.
- NOVÁ J., KARLÍK P., 2010: Vegetace zaniklých středověkých vesnic Kozelského polesí (Plzeňsko), ČZU, Praha.
- NOVÁK F. A., 1981: Velký obrazový atlas rostlin. Artia, Praha, 590 s.
- NOVÁK J., SKALICKÝ M., 2009: Botanika: cytologie, histologie, organologie a systematika. Powerprint, Praha, 336 s.
- O'DRISCOLL M. G., 2009: Exotic Plant Management at the Guilford Courthouse National Military Park, Greensboro, North Carolina, with Observations on the Spread and Control of Common Periwinkle (*Vinca minor*). (Under the direction of Theodore H. Shear). Raleigh, North Carolina.
- PRANGE W., 1996: Das Kleine Immergrün (*Vinca minor* L.) in Westdeutschland – eine Kulturreliktpflanze aus römischer Zeit. *Schr. Naturwiss. Ver. Schlesw. Holst.* 66: 71 – 96 s.
- POLENO Z., VACEK S. et al., 2011: Pěstování lesů 1., Ekologické základy pěstování lesů. Lesnická práce, s. r. o., Kostelec nad Černými lesy, 319 s.

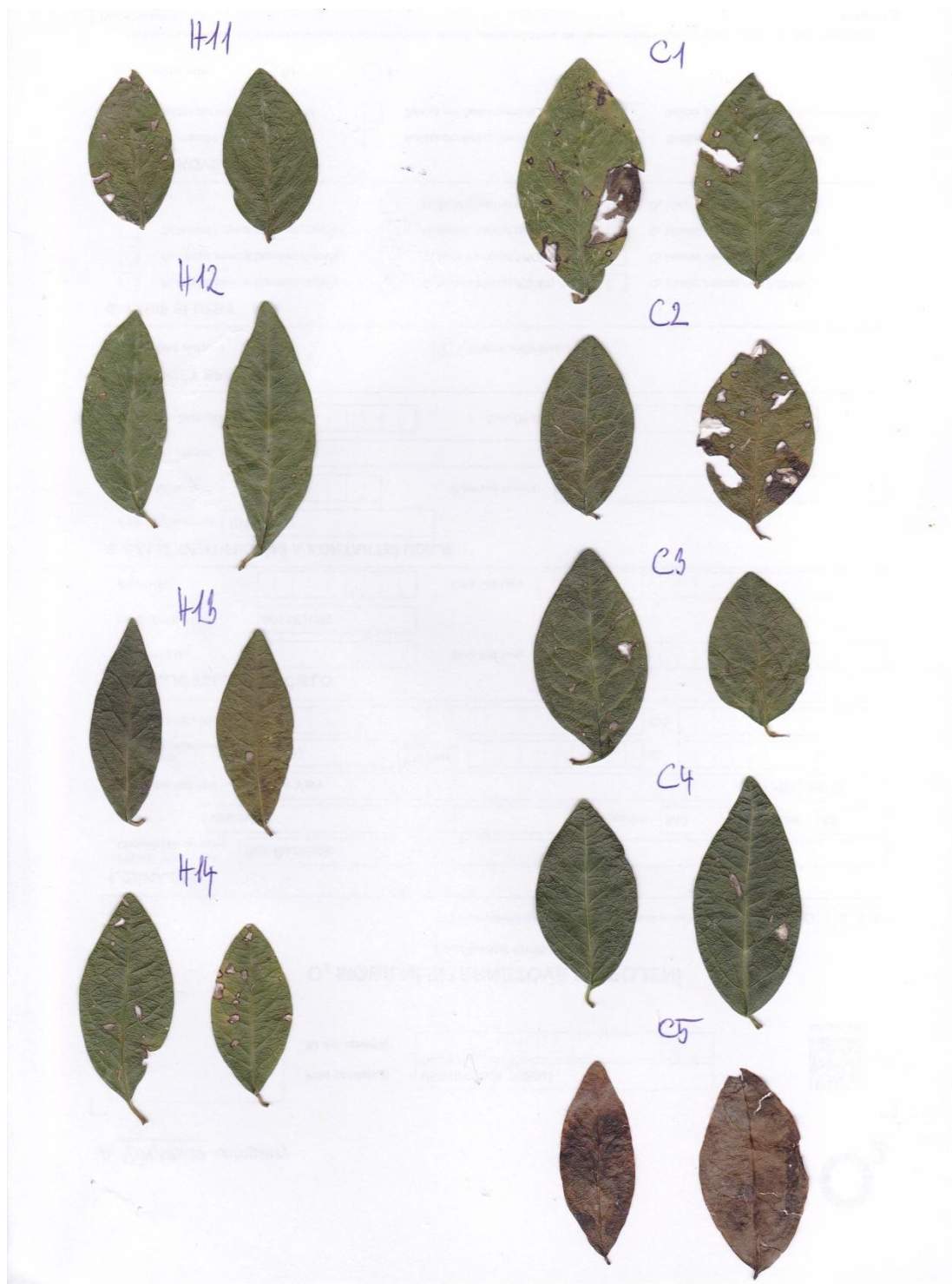
- SLAVÍK B., 2000: Květena České republiky 6. Academia, Praha, 770 s.
- SLAVÍK B., 2000: Apocynaceae JUSS. – toješťovitě. In: SLAVÍK B. [ed.]: Květena ČR 6. Academia, Praha, 103 – 121 s.
- STATSOFT CR s. r. o., 2015: Testování hypotéz (t – test), Praha, online: http://www.statsoft.cz/file1/PDF/newsletter/2013_01_08_StatSoft_Test.pdf
- ŠVÁBENSKÁ Z., 2011: Rostlinky ze zkumavky – za tajemství kultivace IN VITRO, Rubrika Dřeviny a květiny, online: <http://www.zivotnistyl.cz/>
- TANAKA N., TAKAO M., MATSUMOTO T., 1995: Vincamine production in multiple shoot culture derived from hairy roots of *Vinca minor*. – Kluwer Academia Publisher 41, Netherland: 61 – 64 s.
- TESSERIS J., ROGGEN G., CARACALOS A., TRIANDAFILLOU D., 1975: Effects of vincamin on cerebral metabolism. *Eur Neurol*: 195 – 202 s.
- UHRÍN D., 1989: Nové alkaloidy zo zimozelene menšej (*Vinca minor* L.). Slovenská akadémia vied, Bratislava, 19 s.
- ÚRADNÍČEK L., MADRA P., TICHÁ S., KOBLÍŽEK J., 2009: Dřeviny České republiky. Lesnická práce, Brno, 367 s.
- WANG Y. Q., MELZER R., THEISSEN G., 2011: A double-flowered variety of lesser periwinkle (*Vinca minor* fl. pl.) that has persisted in the wild for more than 160 years. *Annals of Botany* 107: 1 445 – 1 452 s.

9. PŘÍLOHY

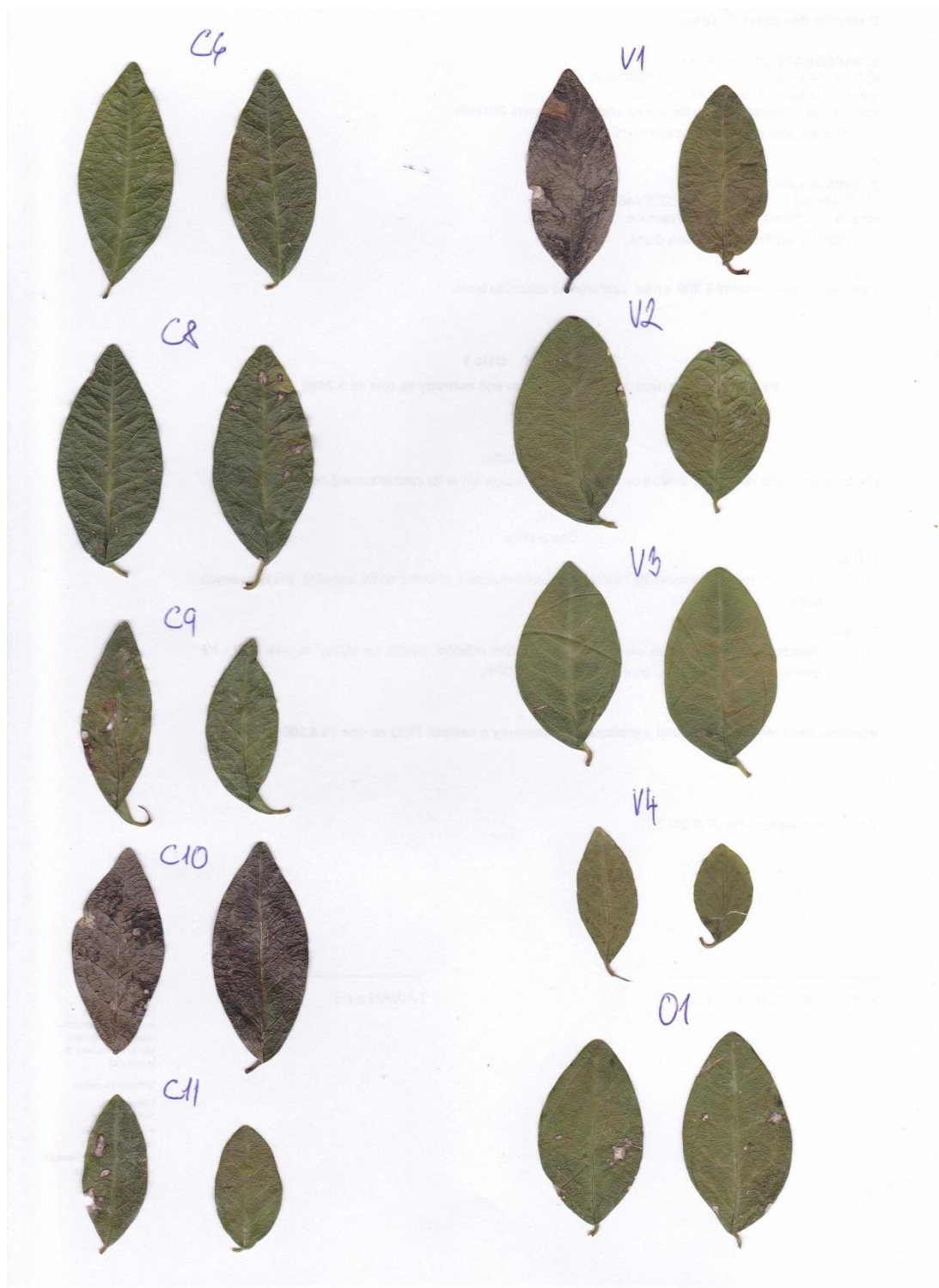
9.1 Sběrka listů



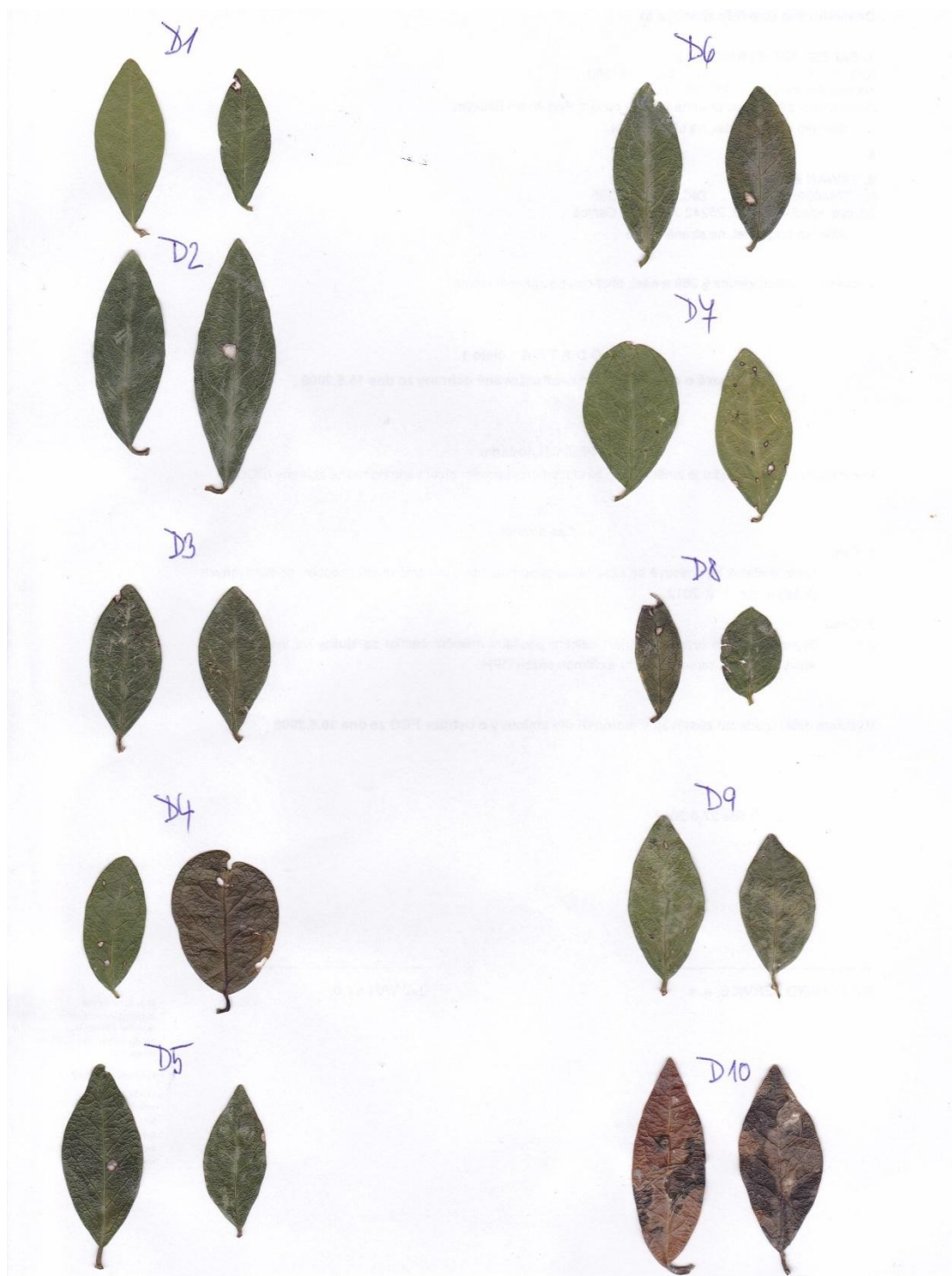
Příloha č. 1 Listy H1 – H10, květen 2014.



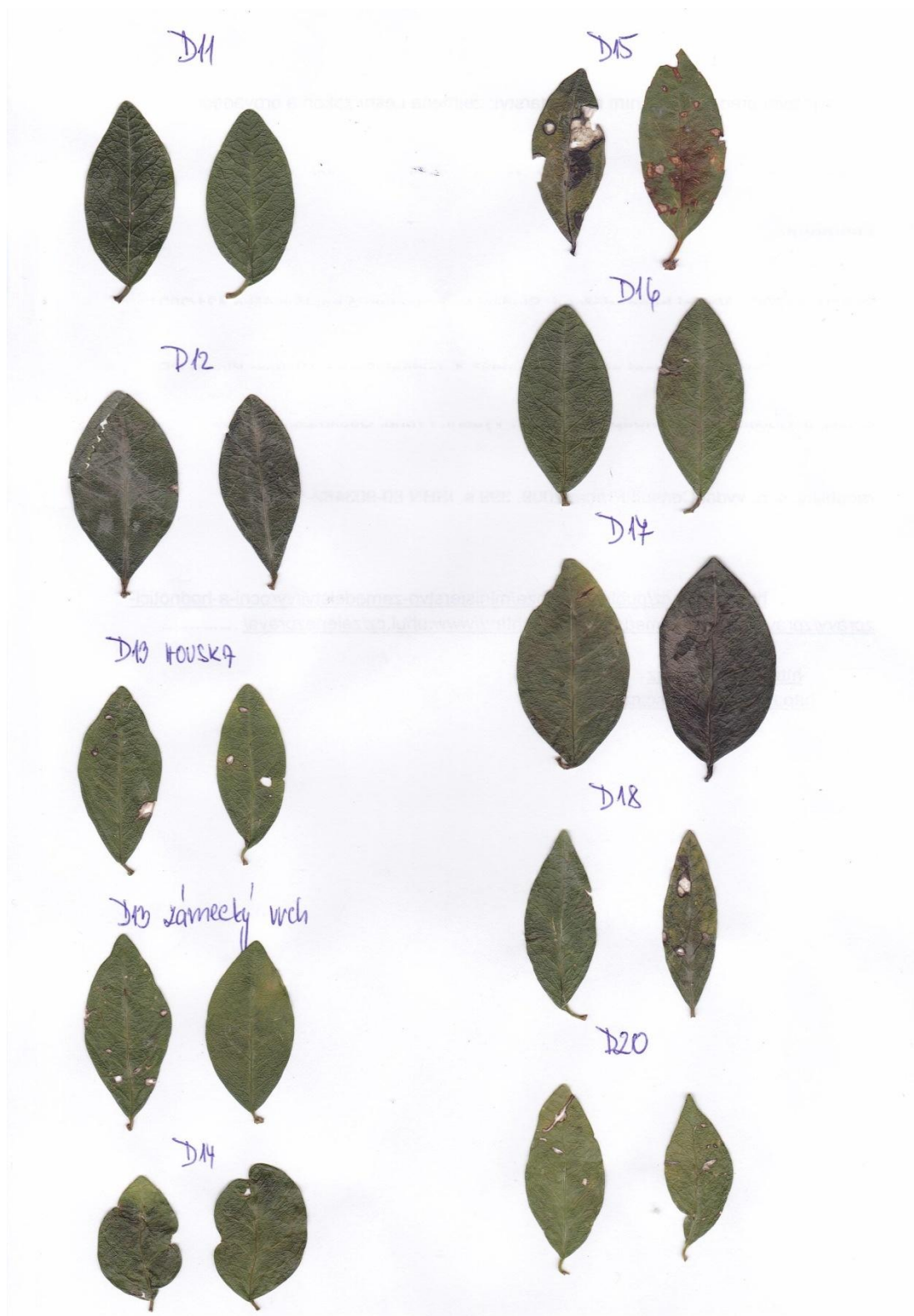
Příloha č.2 Listy H11–H14 a C1 – C5, květen 2014.



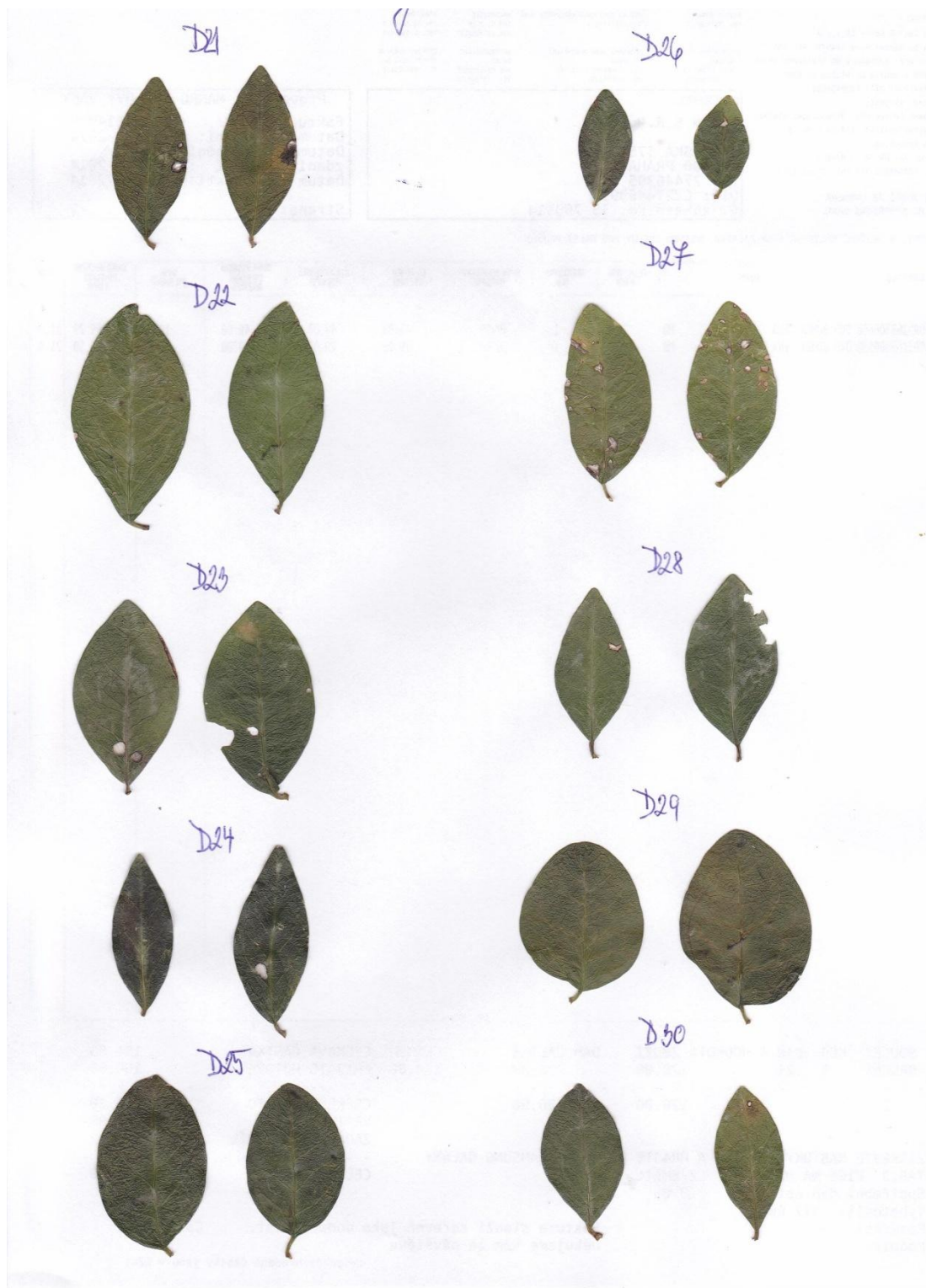
Příloha č. 3 Listy C6 – C11; V1 – V4 a O1, květen 2014.



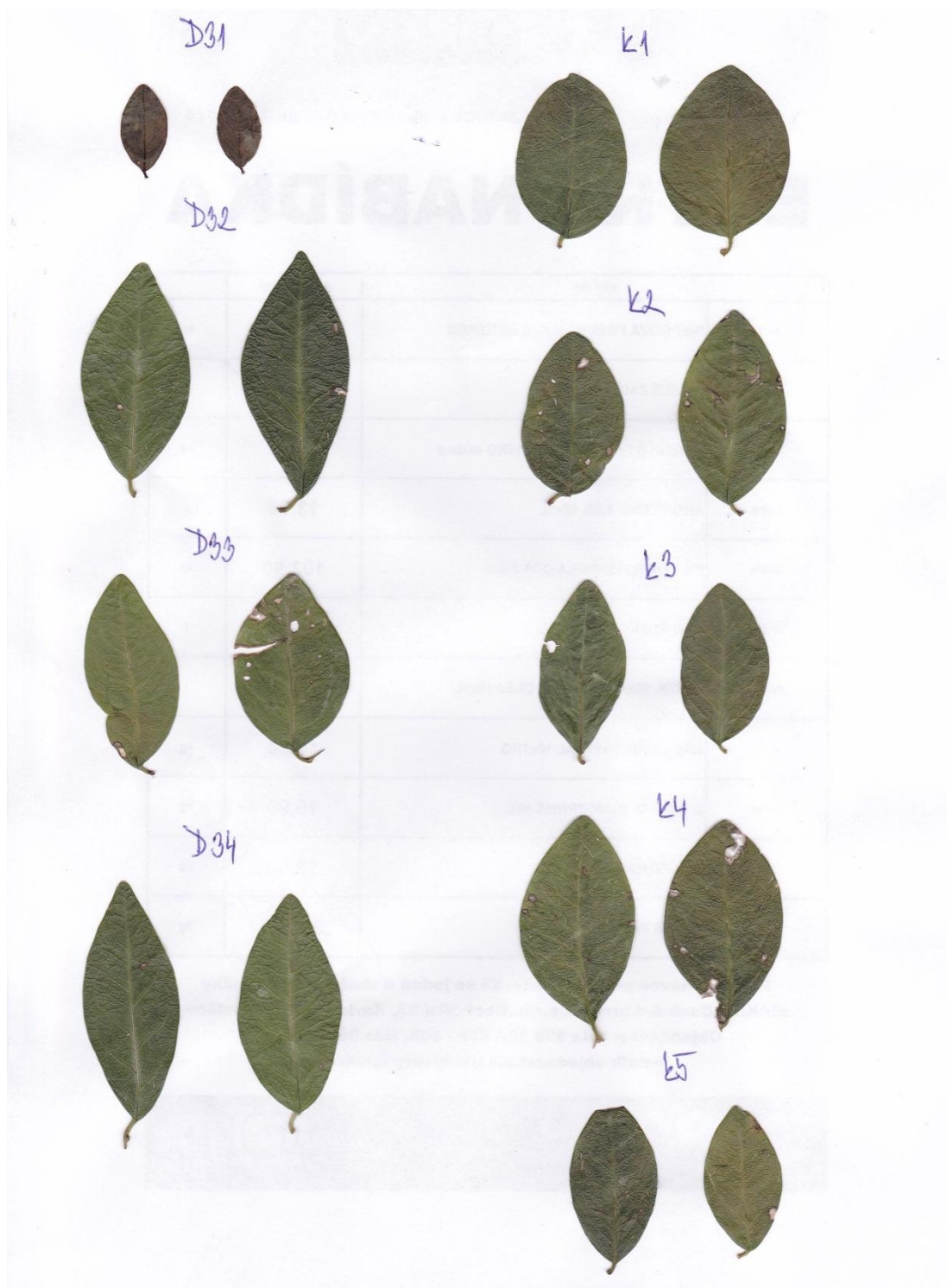
Příloha č. 4 Listy D1 – D10, květen 2014.



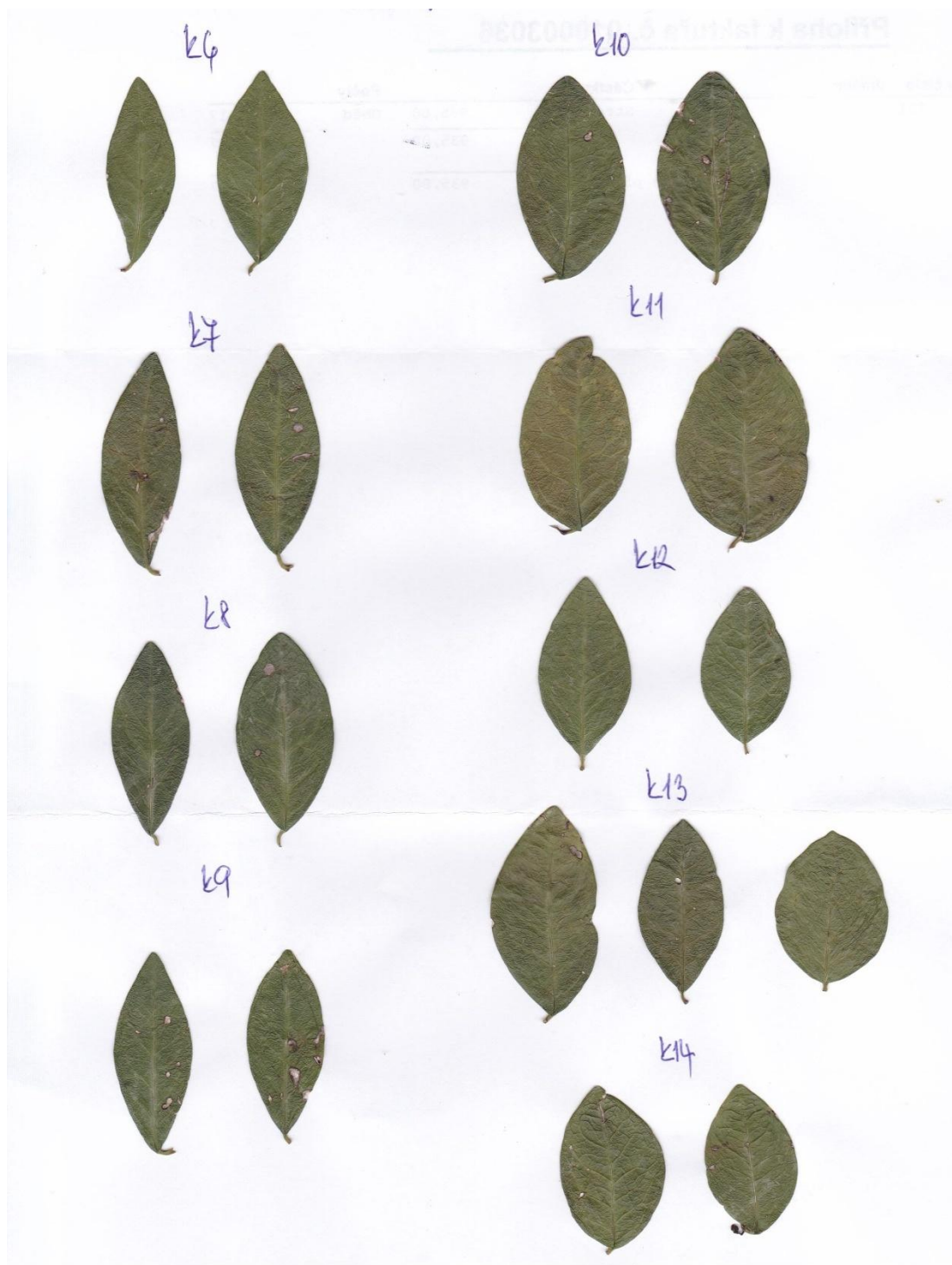
Příloha č. 5 Listy D11 – D20, květen 2014.



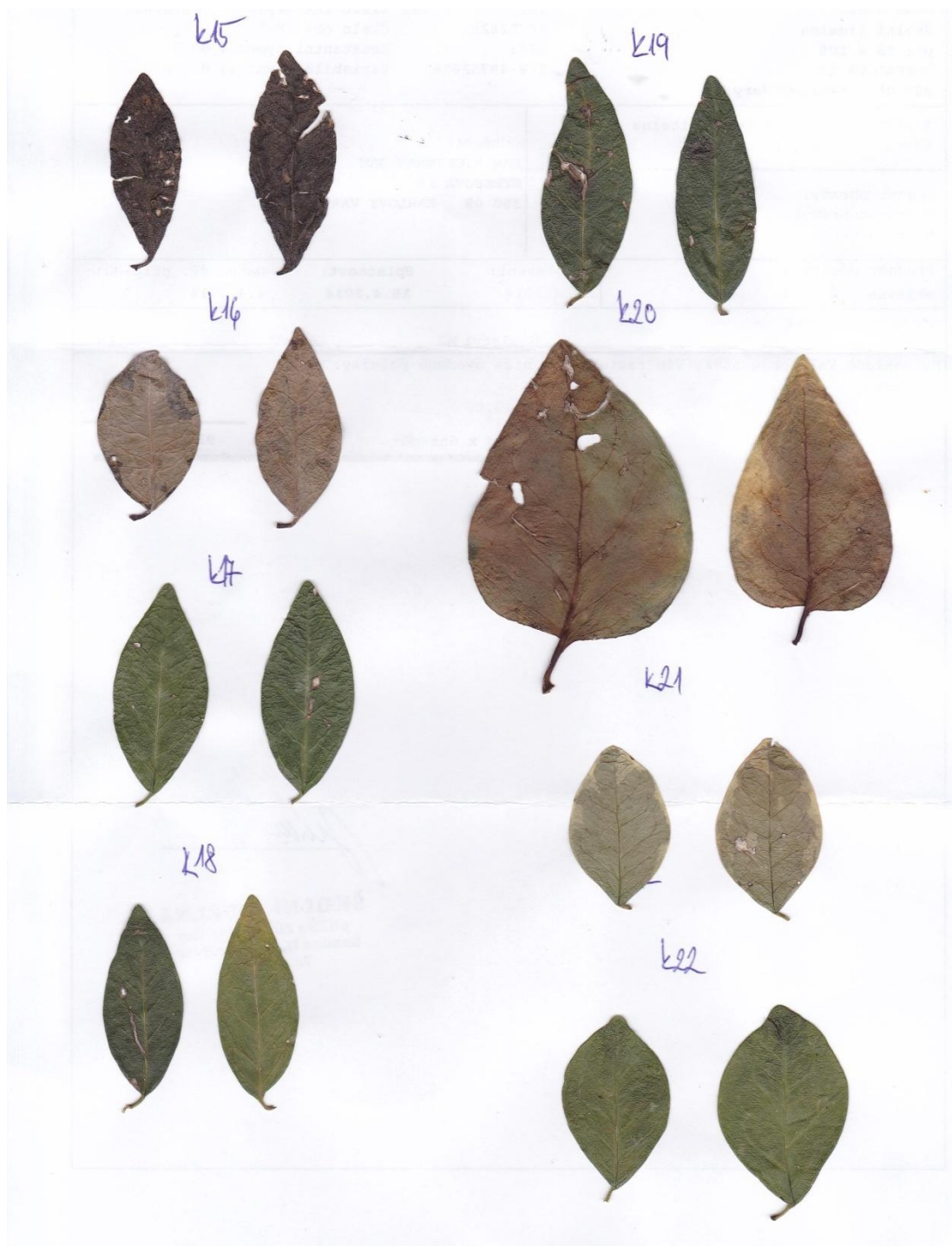
Příloha č. 6 Listy D21 – D30, květen 2014.



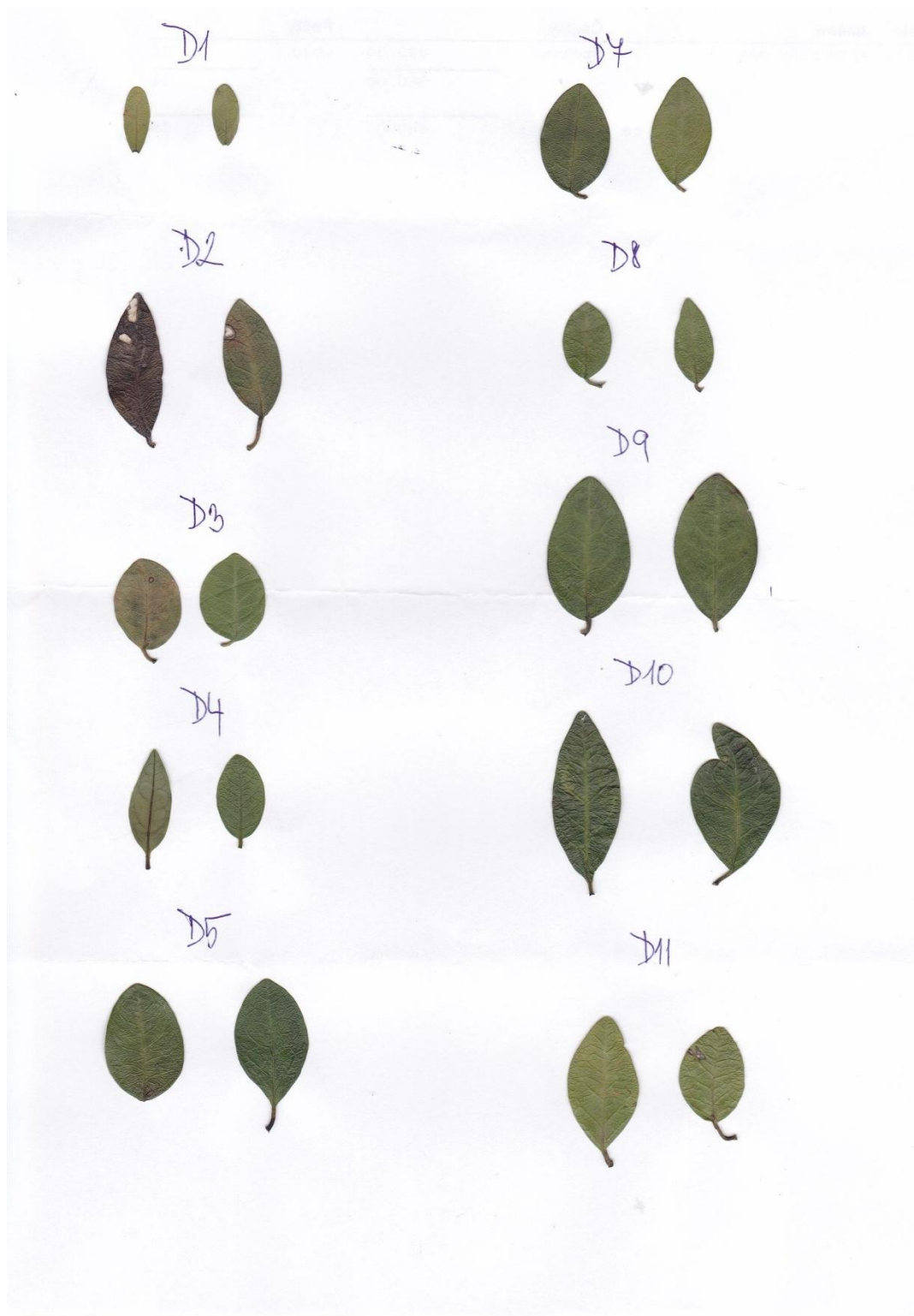
Příloha č. 7 Listy D31 – D34 a K1 – K5, květen 2014.



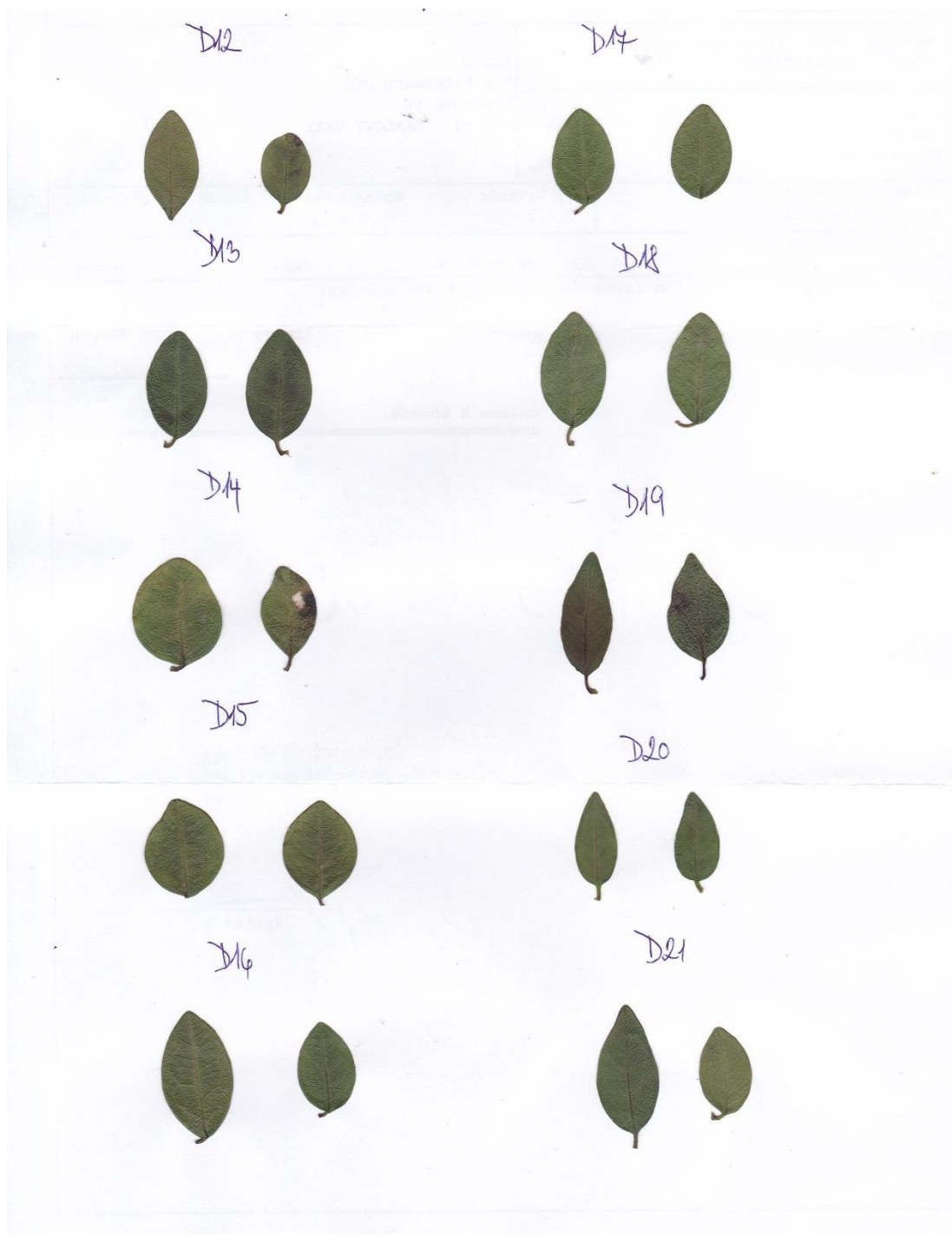
Příloha č. 8 Listy K6 – K24, květen 2014.



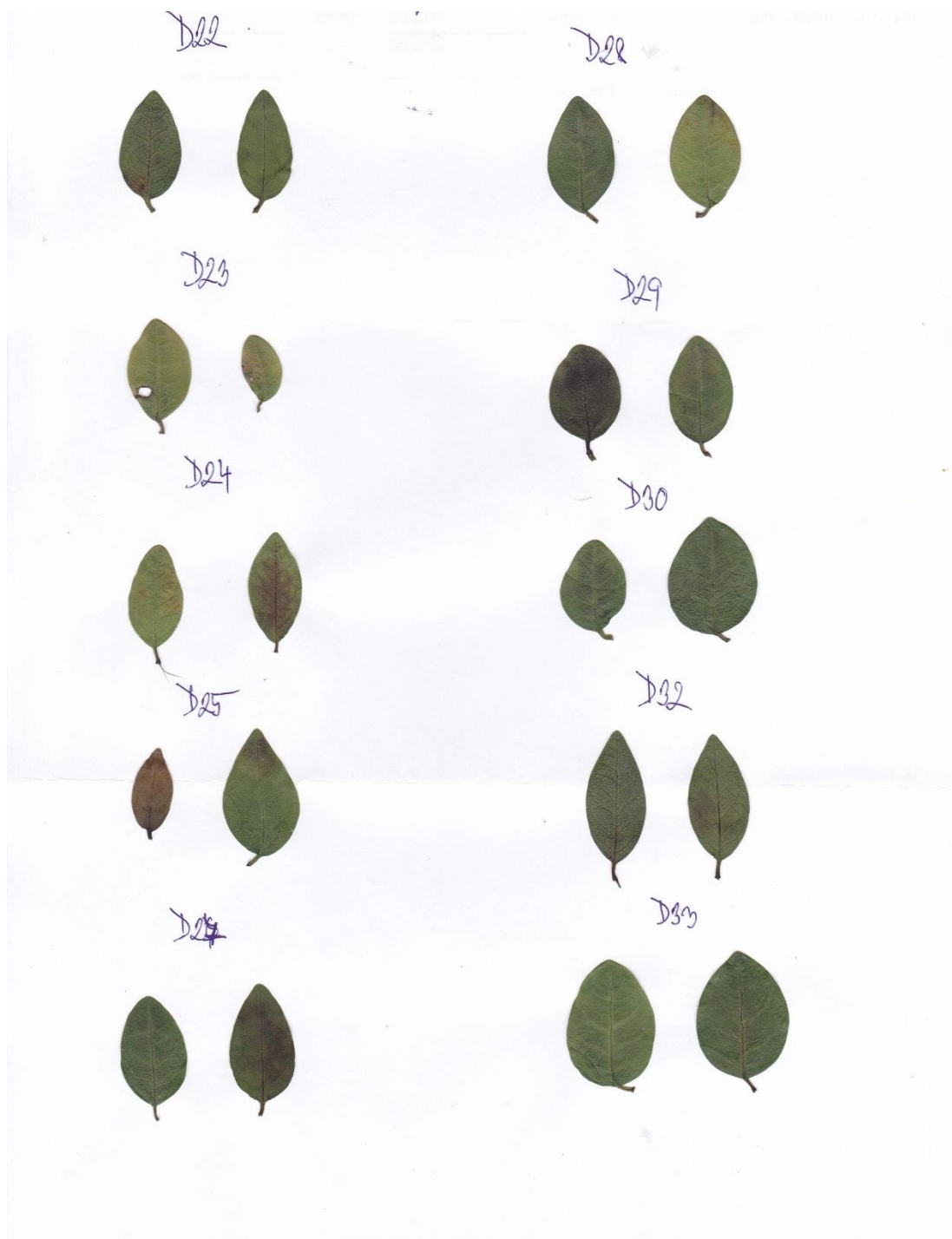
Příloha č. 9 Listy K15 – K22, květen 2014.



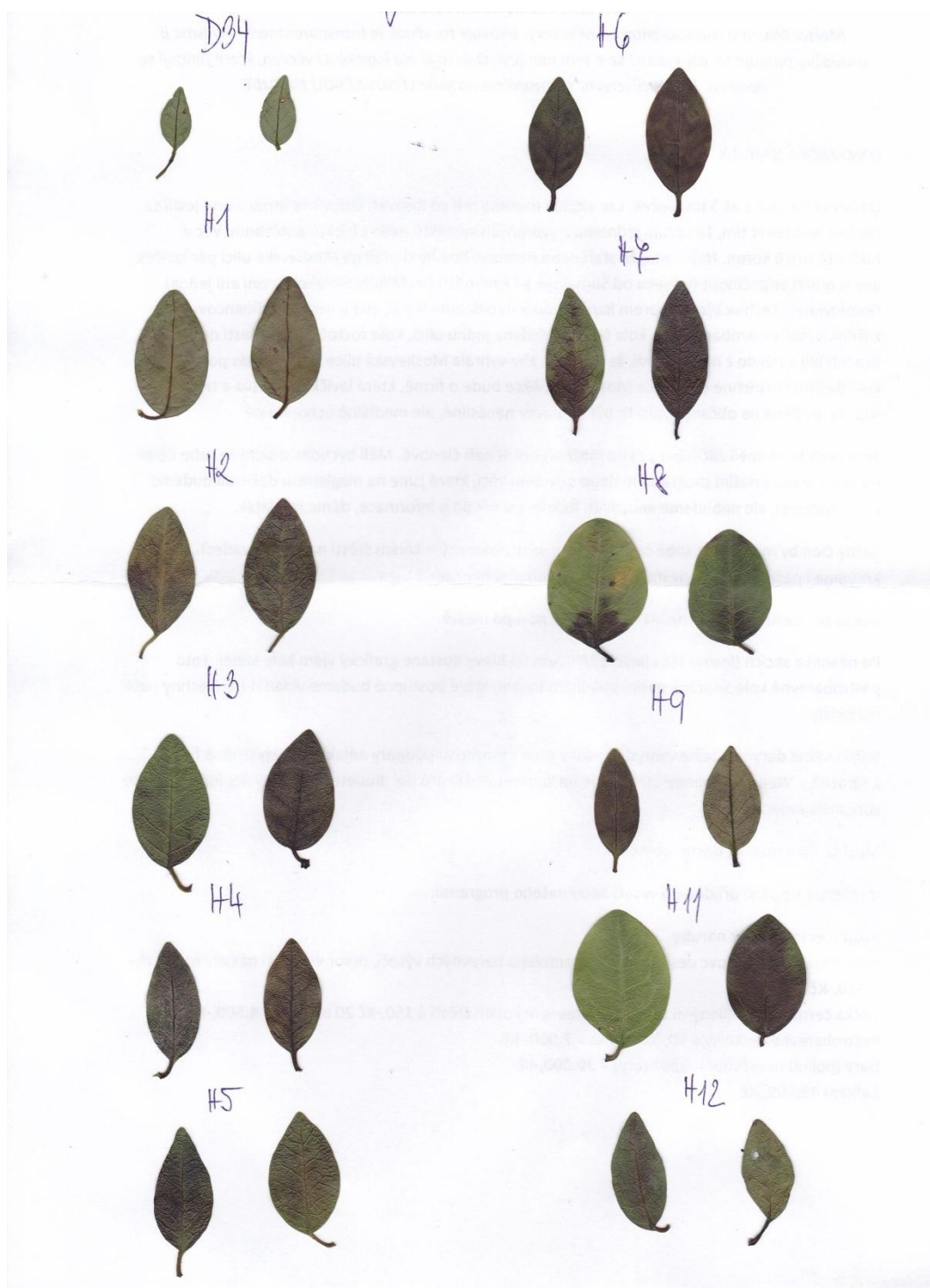
Příloha č. 10 Listy D1 – D11, listopad 2014.



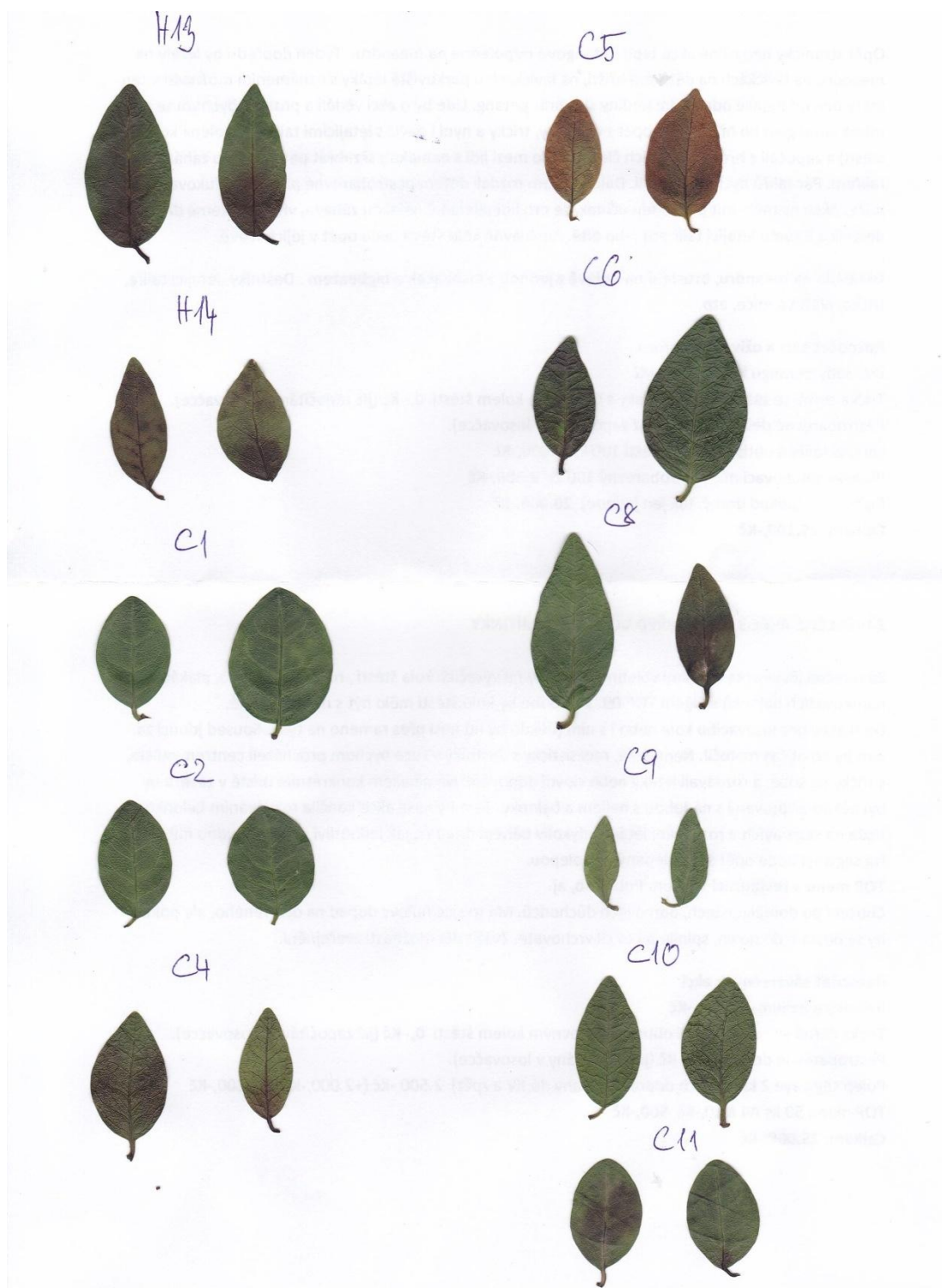
Příloha č. 11 Listy D12 – D21, listopad 2014.



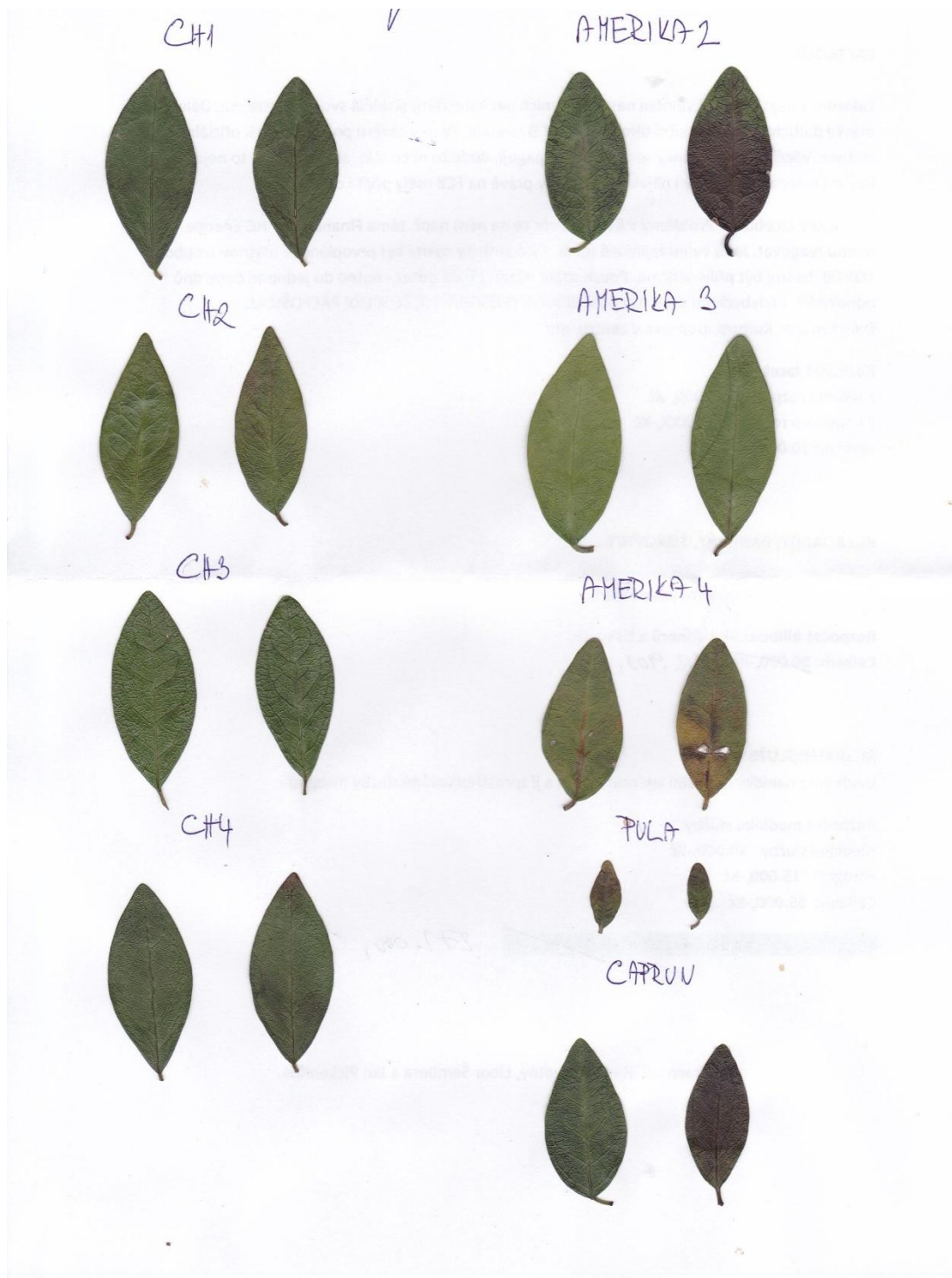
Příloha č. 12 Listy D22 – D33, listopad 2014.



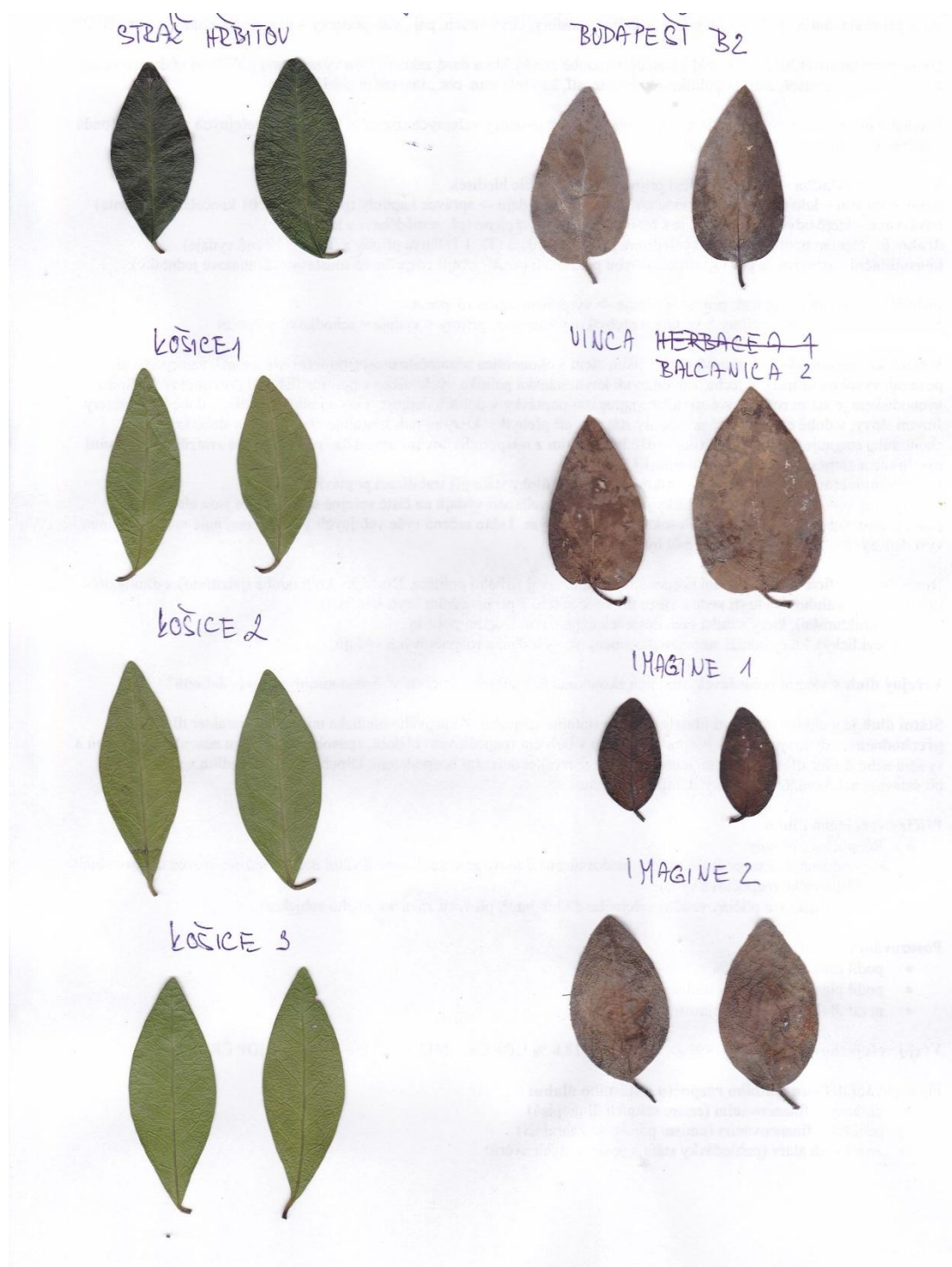
Příloha č. 13 Listy D34 a H1 – H12, listopad 2014.



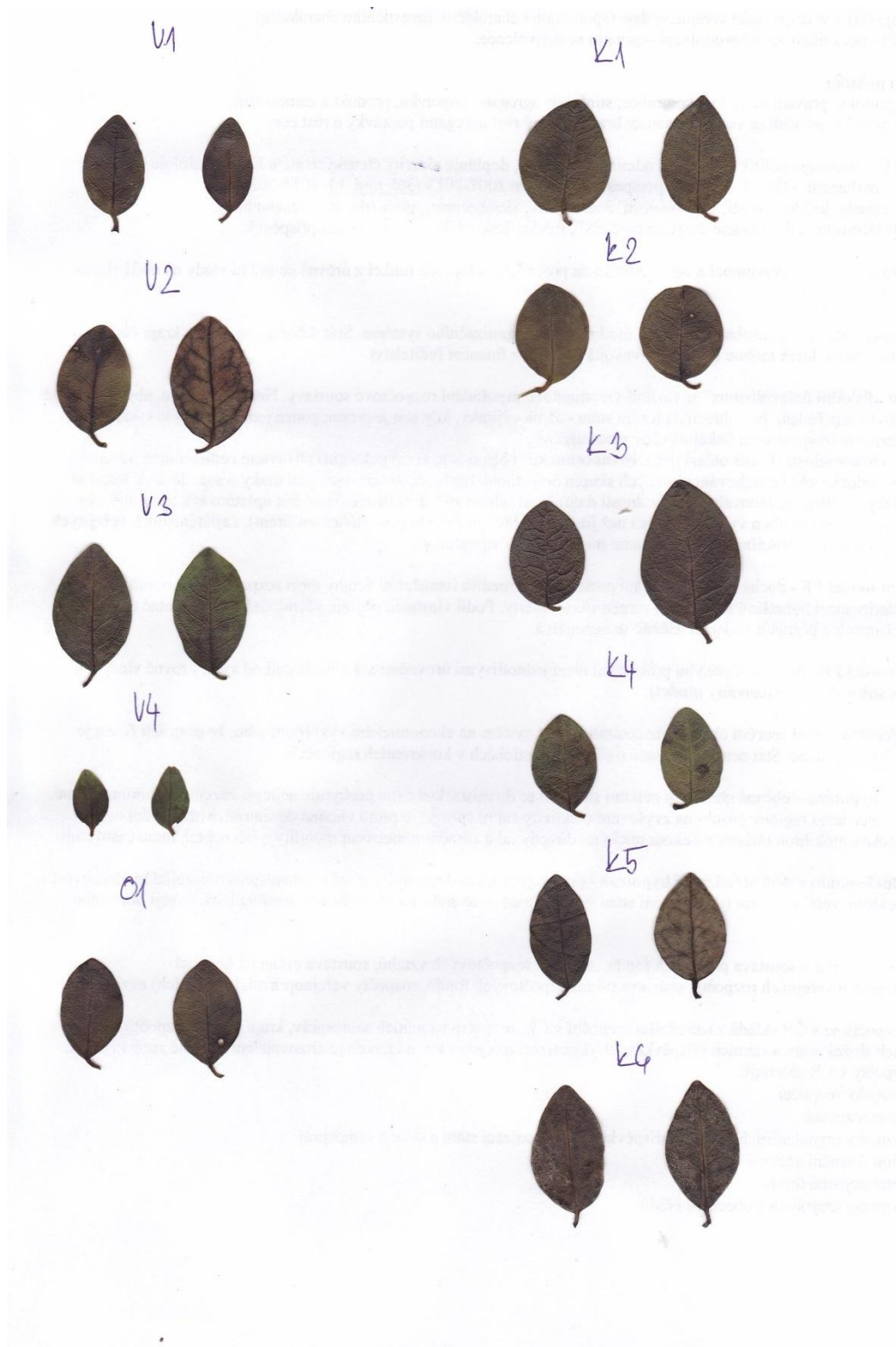
Příloha č. 14 Listy H13 – H14 a C1 – C11, listopad 2014.



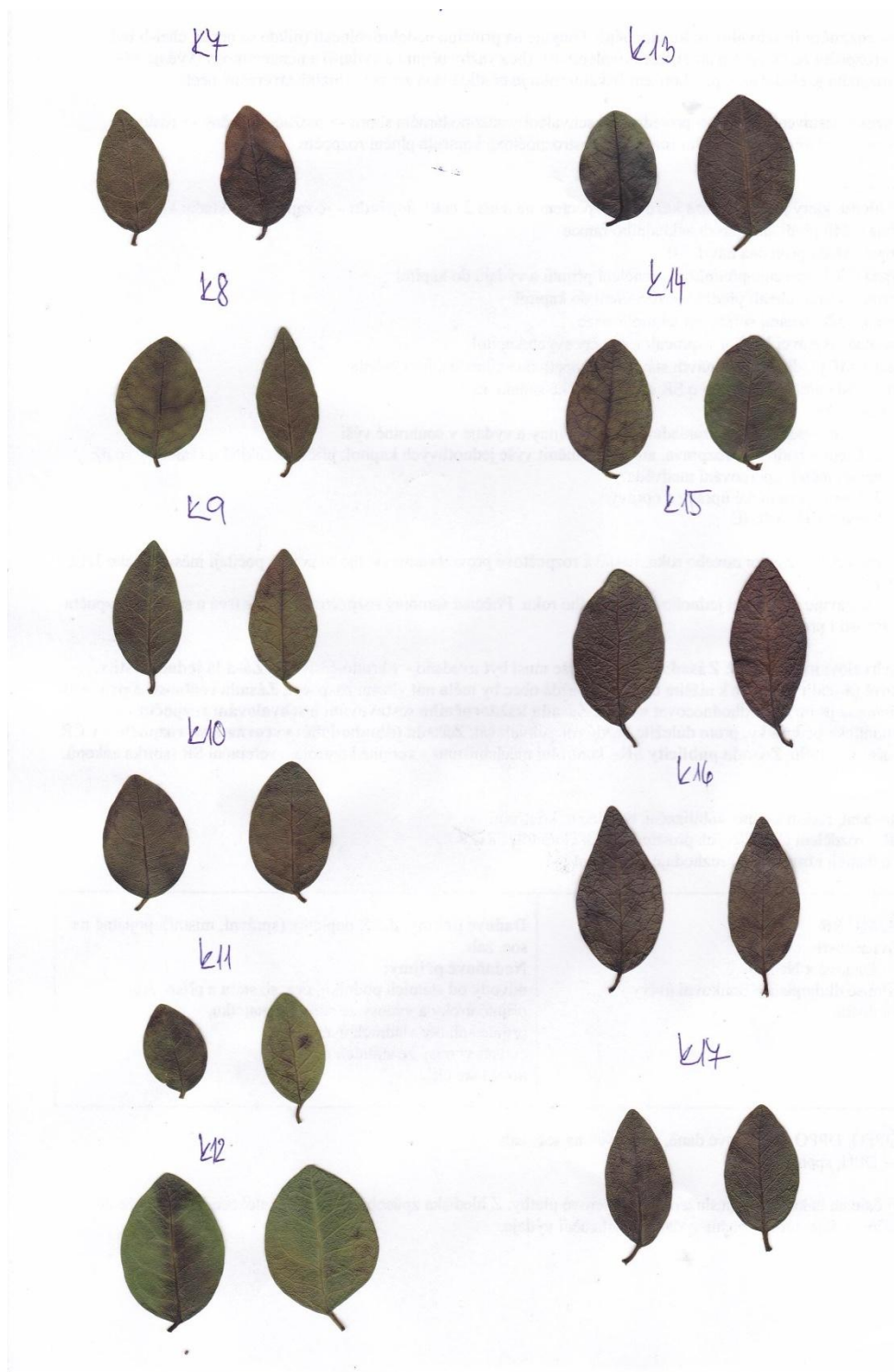
Příloha č. 15 Listy CHI- CH4; Amerika 2 – Amerika 4; Pula, Chorvatsko a Caprun, listopad 2014.



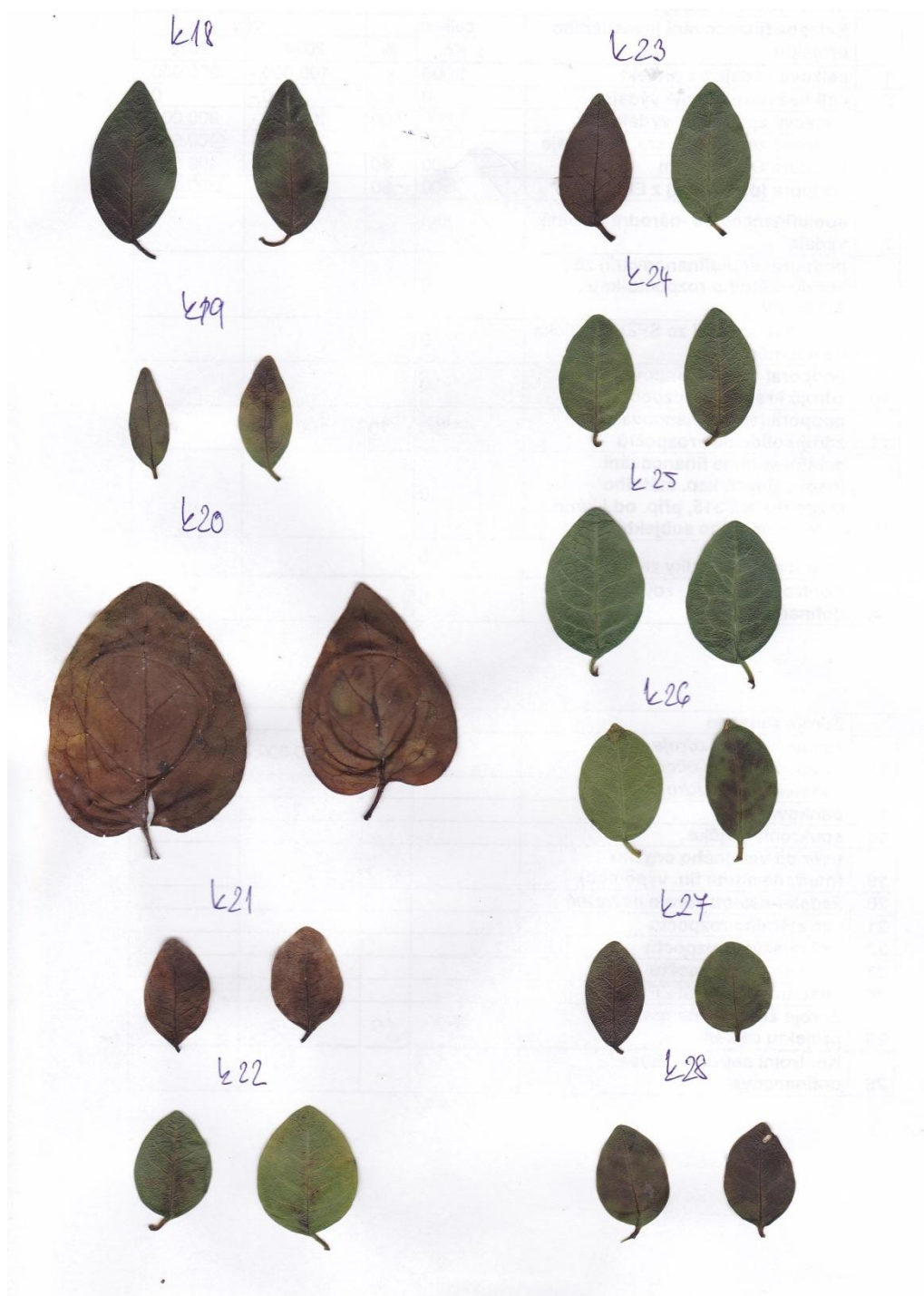
Příloha č. 16 Listy Stráž – Hřbitov; Košice 1 – Košice 3; Budapešť B2; Vinca Balcanica 2; Imagine 1 – Imagine 2, listopad 2014.



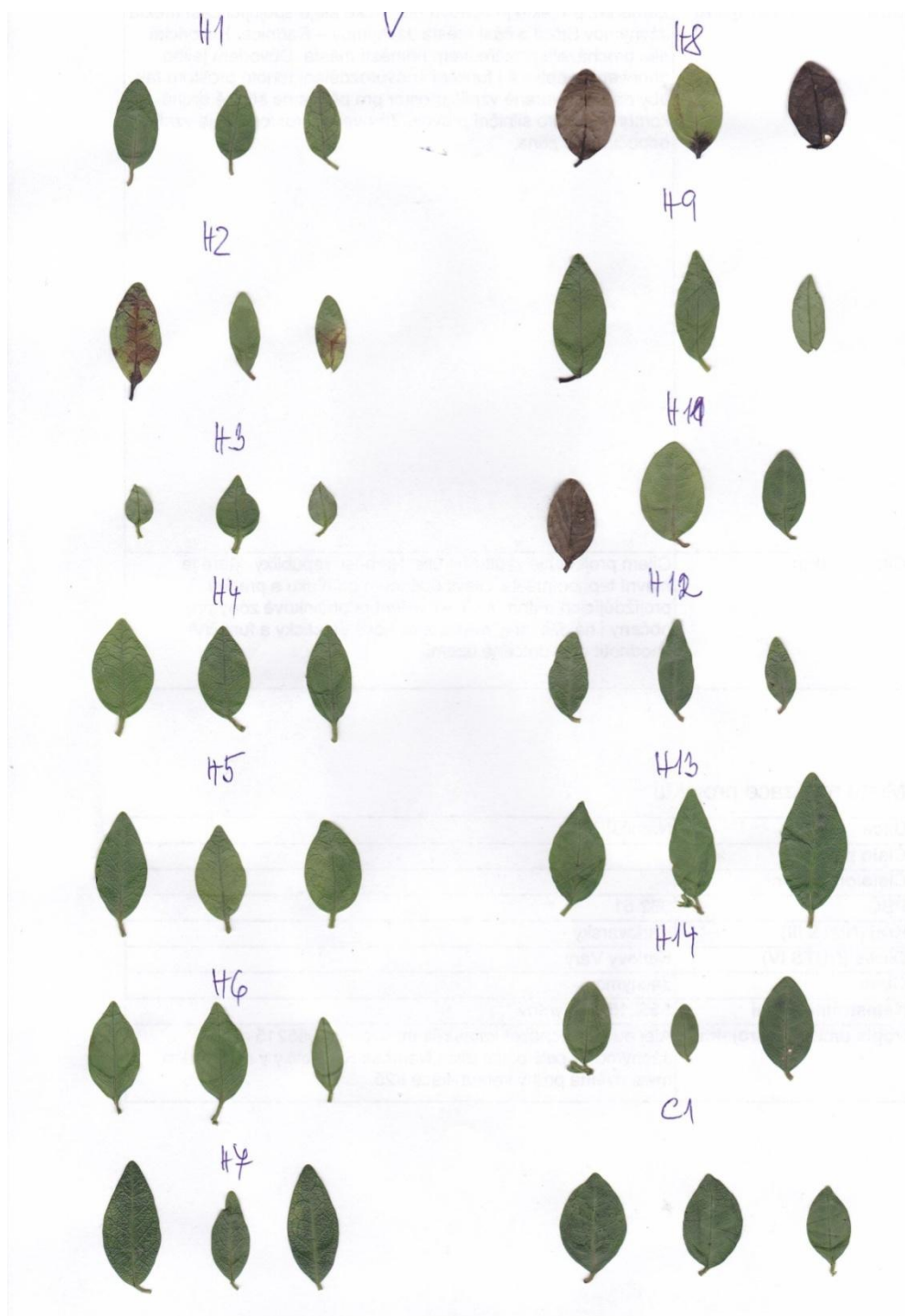
Příloha č. 17 Listy V1 – V4; O1 a K1 – K6, listopad 2014.



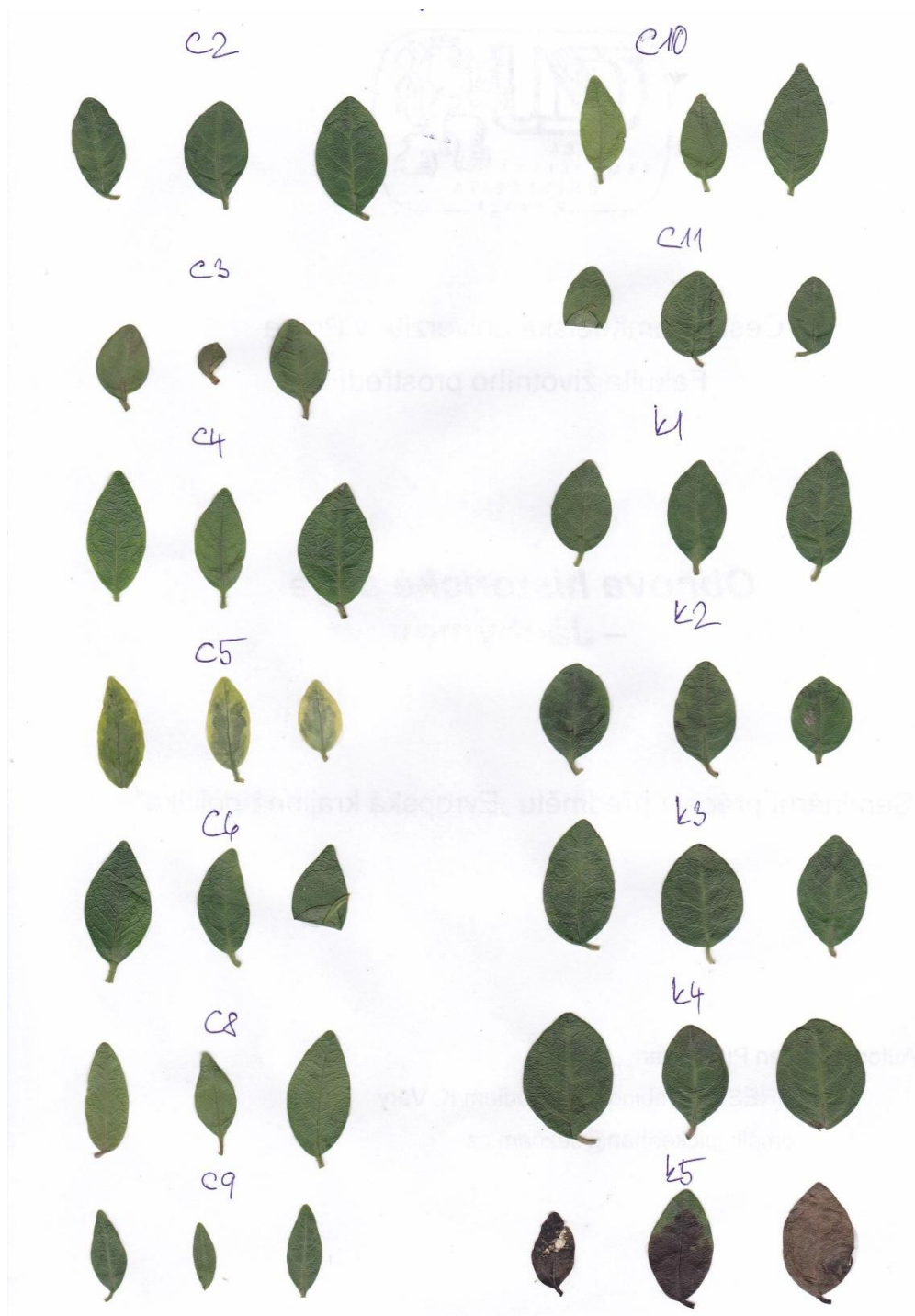
Příloha č. 18 Listy K7 – K17, listopad 2014.



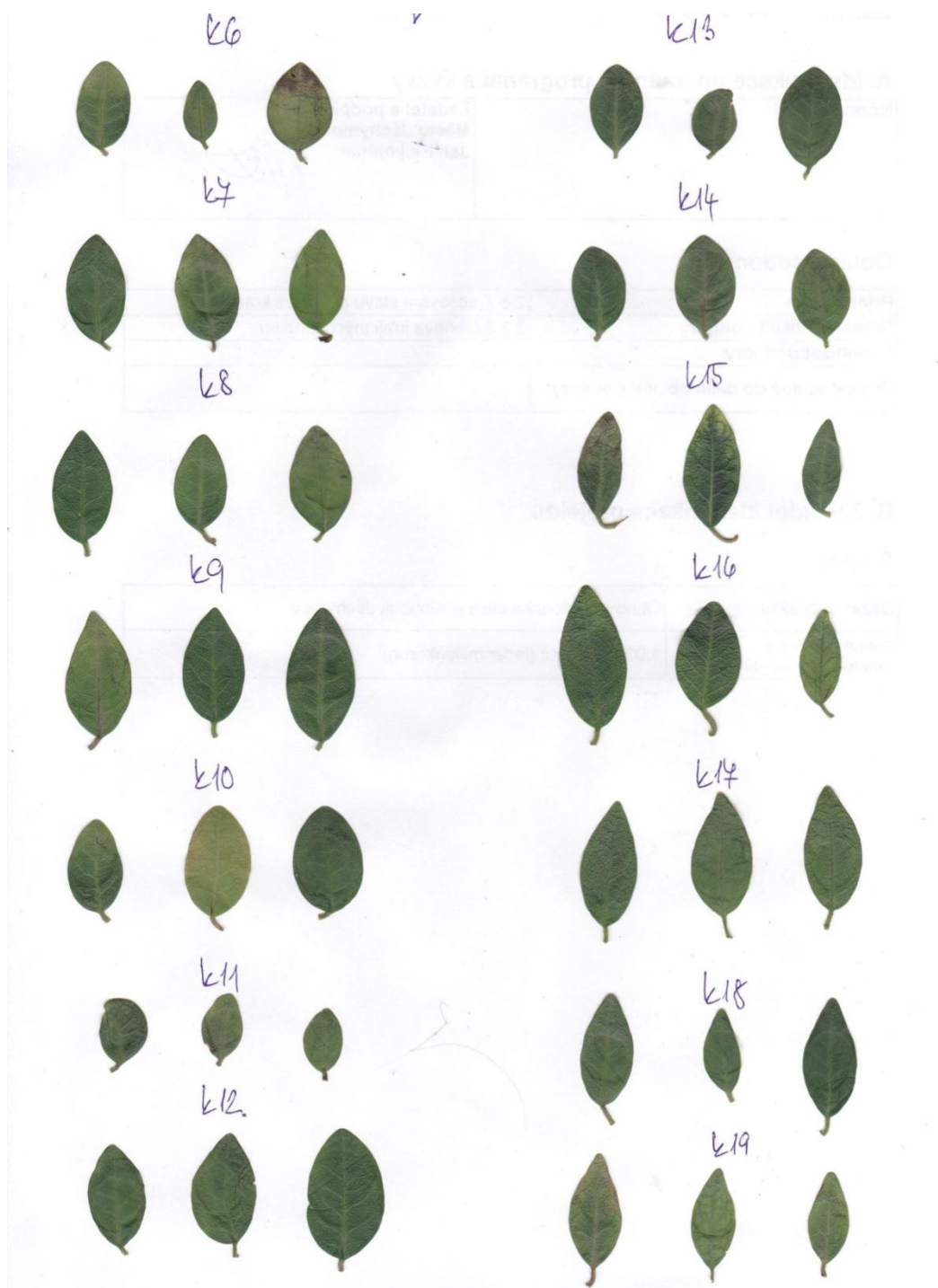
Příloha č. 19 Listy K18 – K28, listopad 2014.



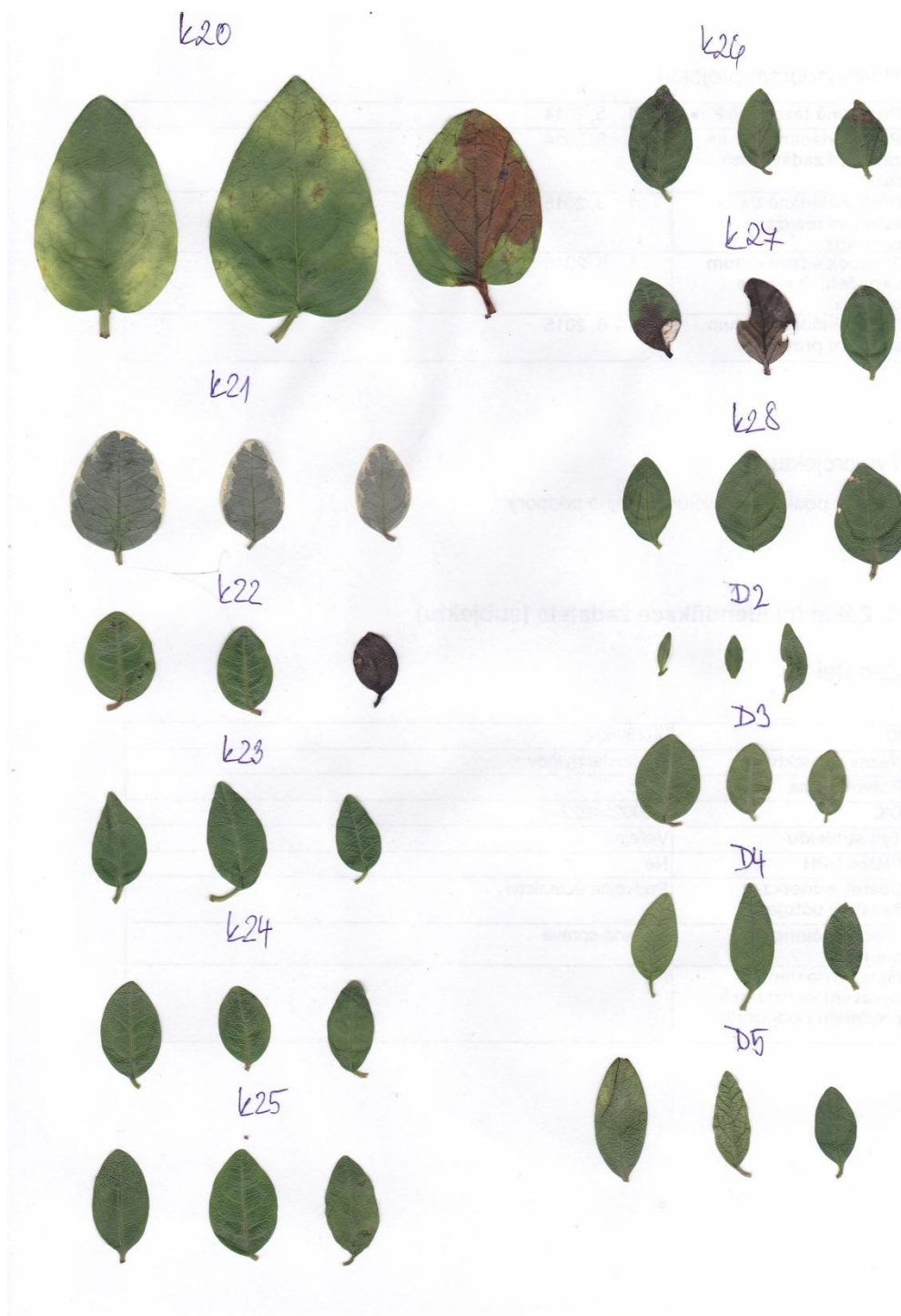
Příloha č. 20 Listy H1 – H14 a C1, prosinec 2014.



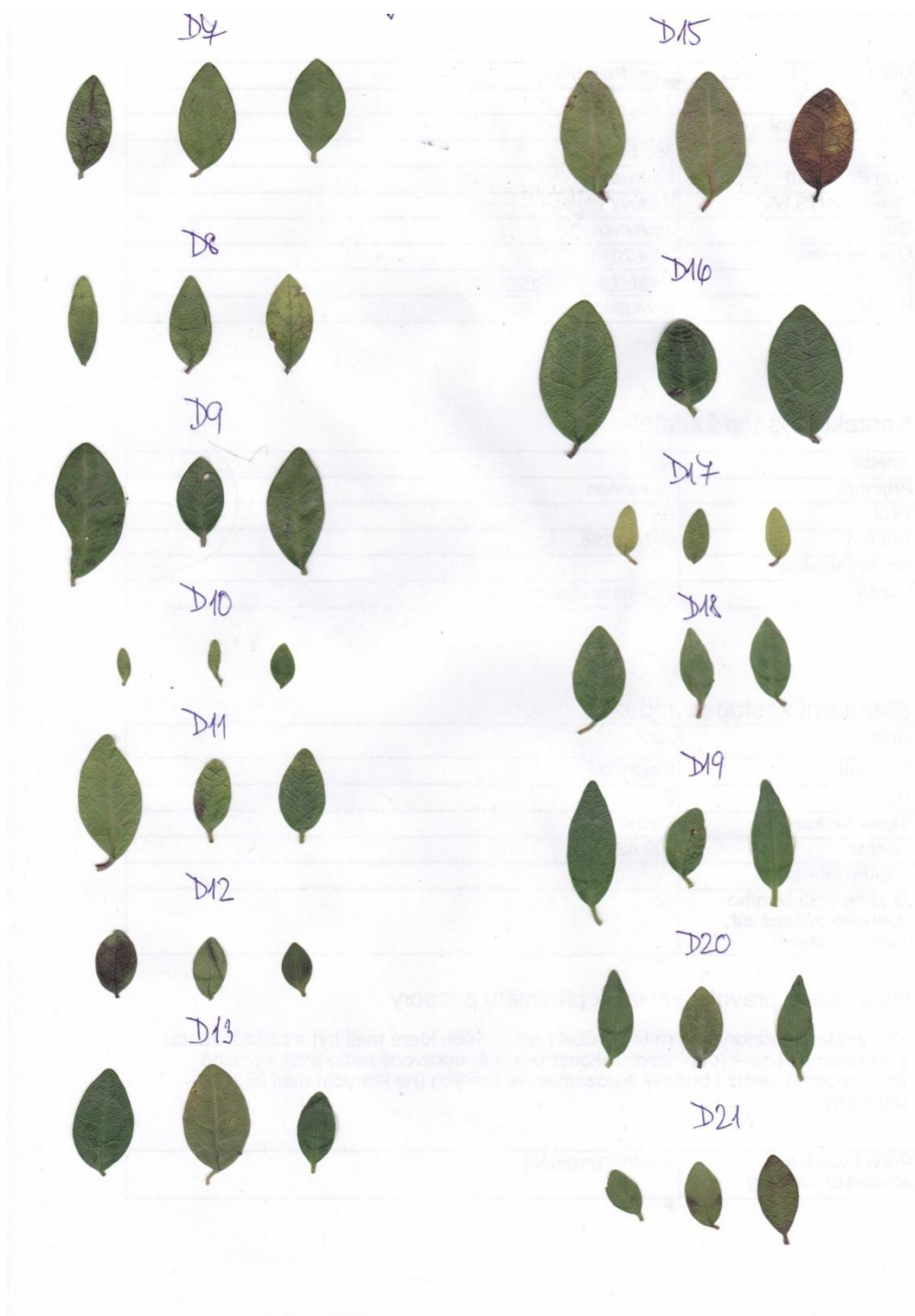
Příloha č. 21 Listy C2 – C11 a K1 – K5, prosinec 2014.



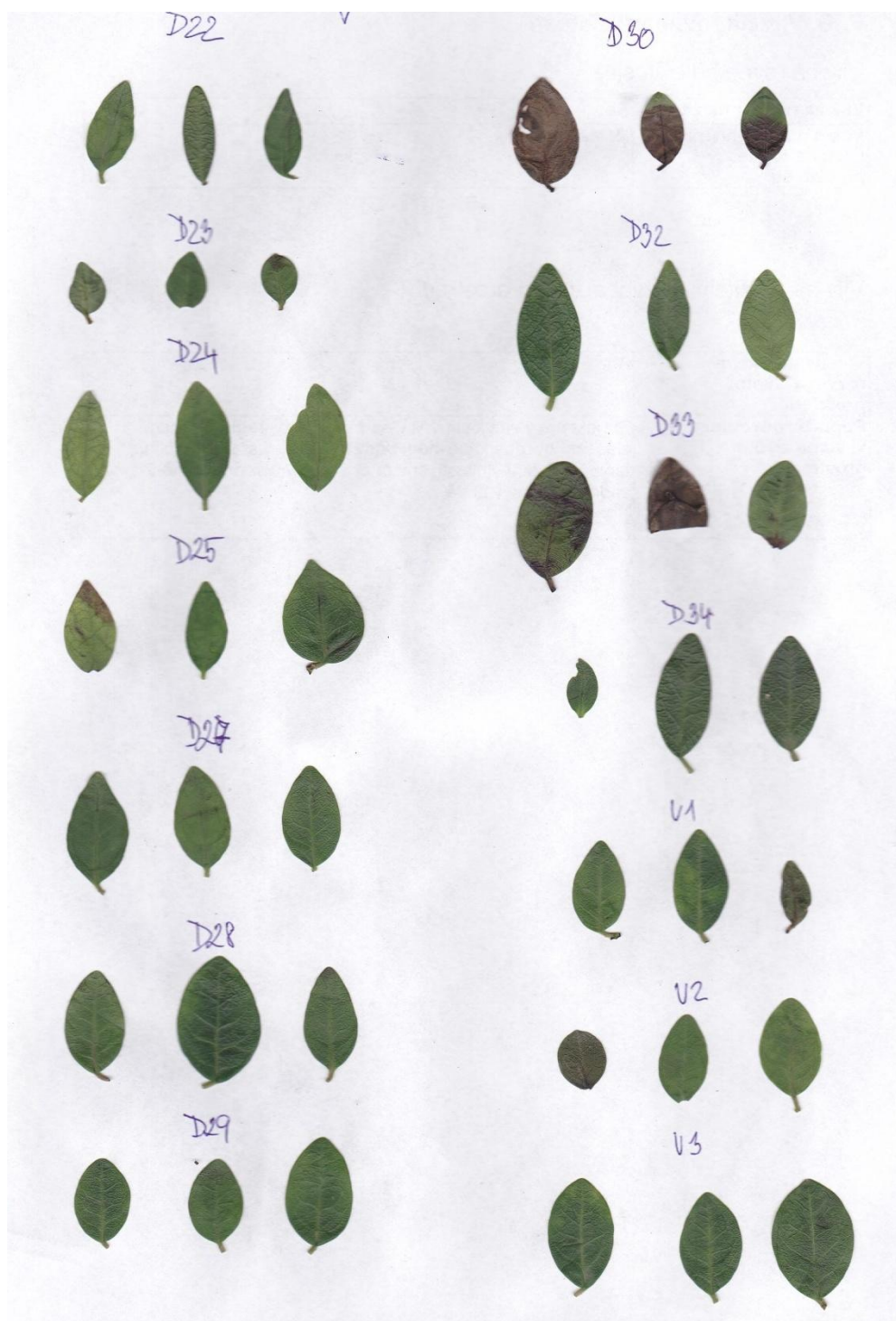
Příloha č. 22 Listy K6 – K19, prosinec 2014.



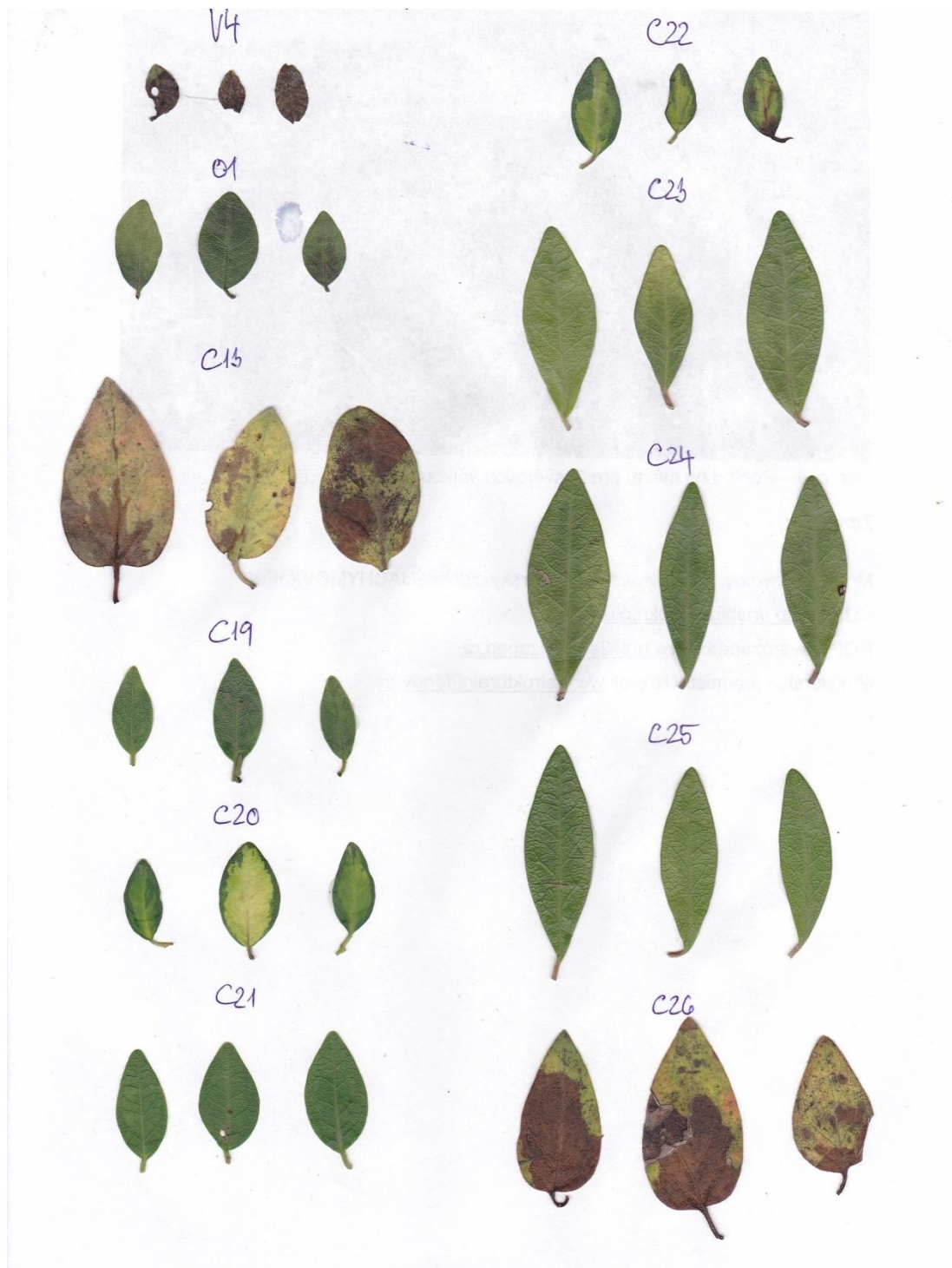
Příloha č. 23 Listy K20 – K28 a D2 – D5, prosinec 2014.



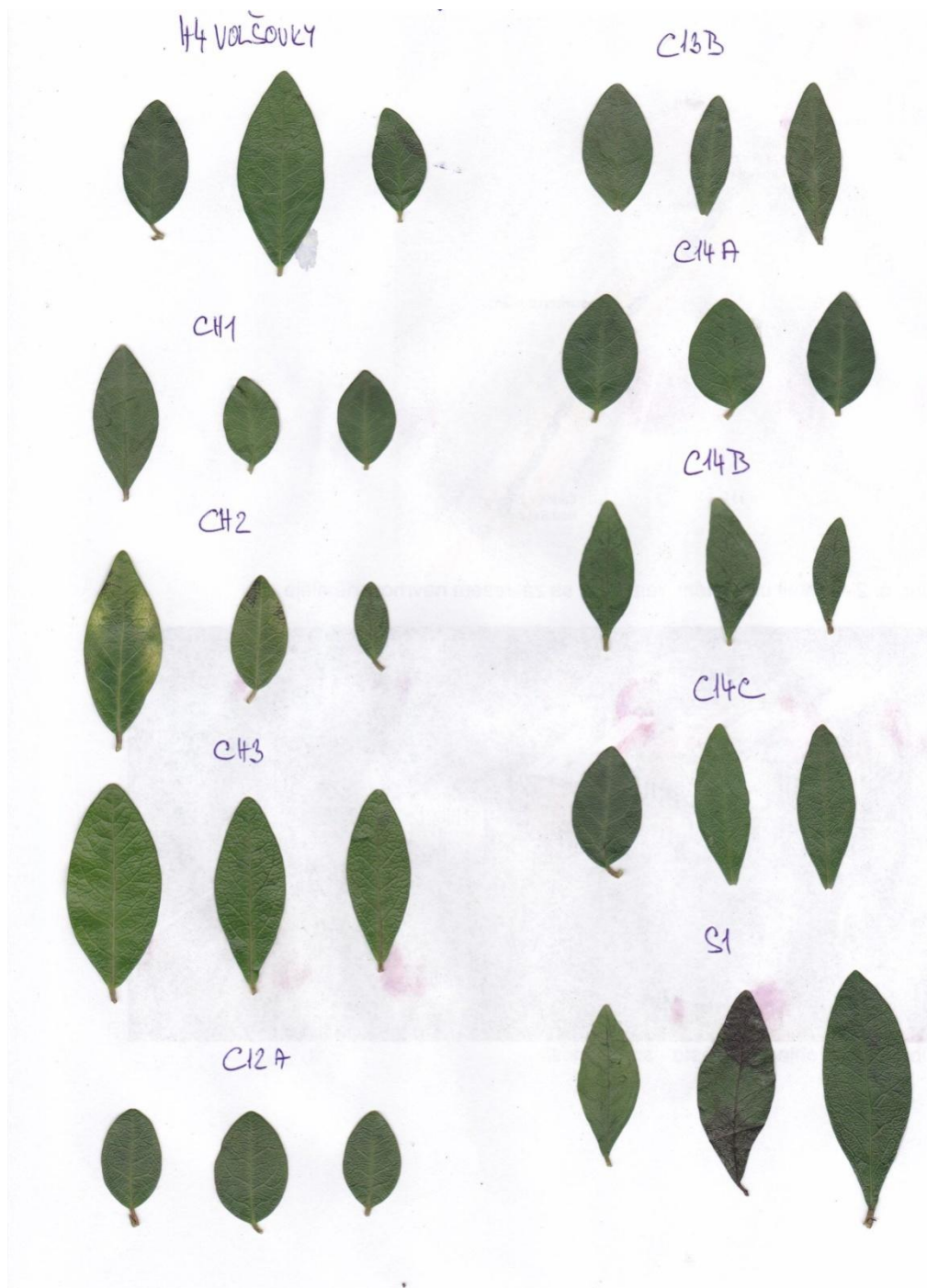
Příloha č. 24 Listy D7 – D21, prosinec 2014.



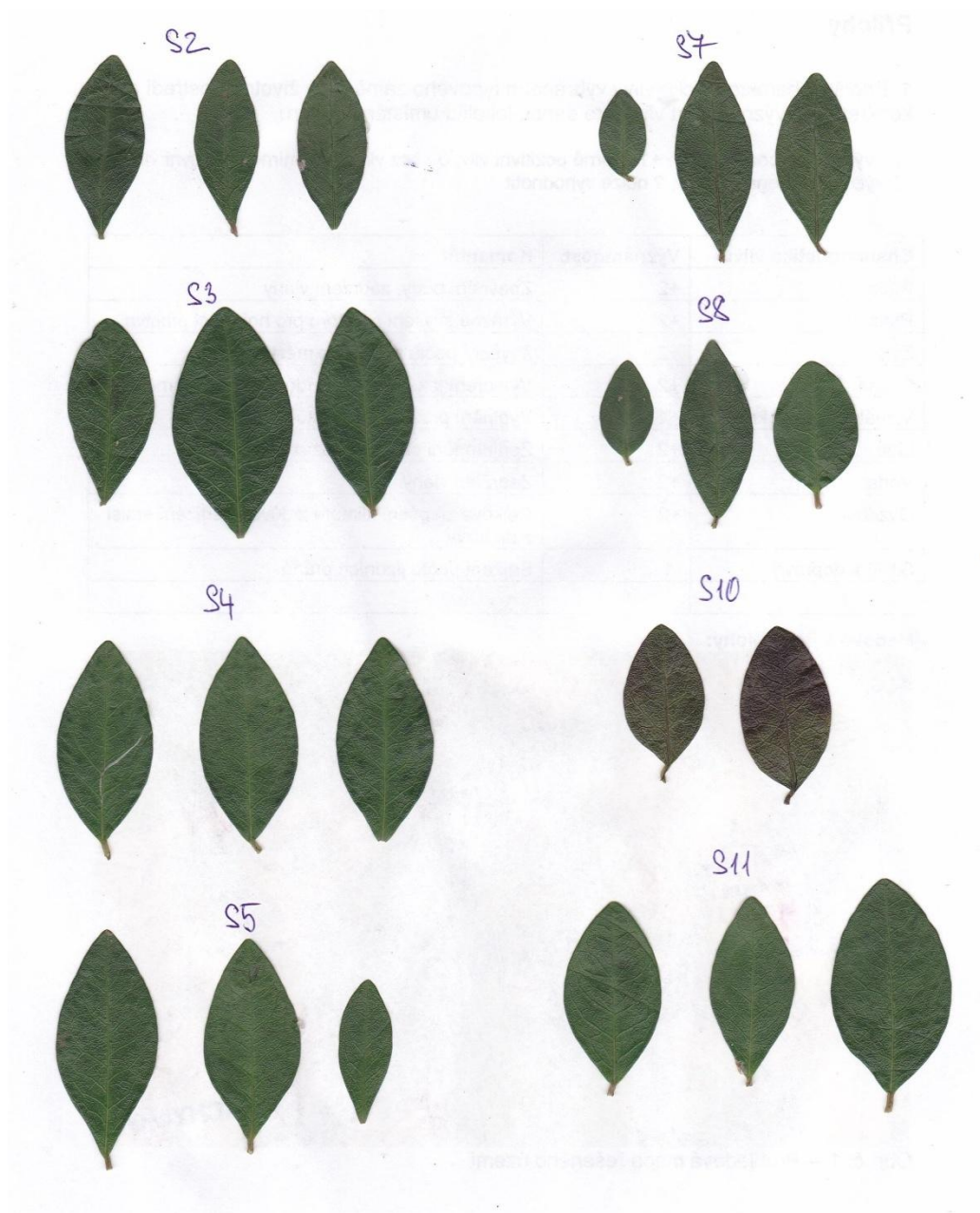
Příloha č. 25 Listy D22 – D34 a V1 – V3, prosinec 2014.



Příloha č. 26 Listy V4; O1; C13; C19 – C26, prosinec 2014.



Příloha č. 27 Listy H4; CH1 – CH3; C12A; C13B; C14A – C14C a S1, prosinec 2014.



Příloha č. 28 Listy S2 – S5 a S7; S8; S10; S11, prosinec 2014.

9.2 Fotografie rostlin



Příloha č. 29 Rostlina K2.



Příloha č. 30 Rostlina K4.



Příloha č. 31 Rostlina K14.



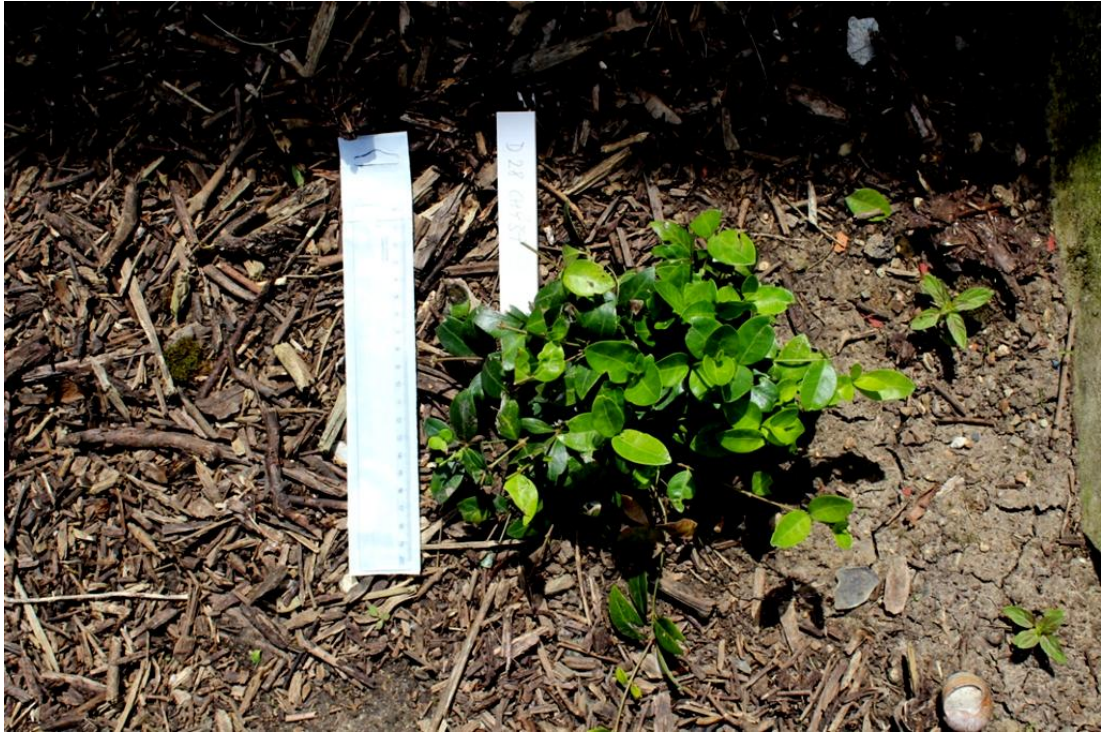
Příloha č. 32 Rostlina K19.



Příloha č. 33 Rostlina K20.



Příloha č. 34 Rostlina K22.



Příloha č. 35 Rostlina D28.



Příloha č. 36 Rostlina C5 (panašovaná).



Příloha č. 37 Rostlina H8.



Příloha č. 38 Rostlina H11.

kód	délka listu	šířka listu	poměr d / š	délka řapíku	Barva listu	žilnatina	tvár	květ	popis lokality	lesnatost	nadm. Výška	vzdál. osídlení
C1	1,60	0,90	1,78	0,20	2	1	1		1	3	297	1
C2	2,40	1,50	1,60	0,20	2	1	1		1	1	284	2
C3	1,70	1,20	1,42	0,40	1	3	1		2	3	257	1
C4	2,10	1,10	1,91	0,30	3	1	1		2	2	275	1
C5 (m)	2,30	1,00	2,30	0,20	4	3	1		1	3	436	1
C6	2,00	1,10	1,82	0,40	2	1	1		2	3	242	1
C8	1,70	0,90	1,89	0,40	1	1	1		1	3	270	1
C9	1,70	0,70	2,43	0,20	2	2	1		1	3	224	1
C10	2,00	1,00	2,00	0,20	3	1	1		1	2	223	1
C11 (m)	1,70	0,90	1,89	0,10	1	3	1		3	1	473	3
D1							1		3	2	464	3
D2 (m)	0,90	0,40	2,25	0,10	1	3	1		1	3	400	1
D3	1,80	1,40	1,29	0,30	1	2	1		1	3	394	2
D4	1,60	0,80	2,00	0,20	2	1	1		1	2	740	1
D5	2,50	1,10	2,27	0,10	3	1	1		1	3	220	2
D6							1		1	3	480	2
D7	1,90	1,20	1,58	0,20	1	3	1		1	3	545	2
D8	1,80	0,90	2,00	0,20	1	3	1		1	3	414	1
D9	2,60	1,20	2,17	0,10	2	1	1		1	3	492	1
D10	0,60	0,30	2,00	0,10	1	3	1		1	1	762	1
D11	2,50	1,30	1,92	0,40	1	1	1		1	3	603	1
D12 (m)	1,00	0,60	1,67	0,10	2	1	1		3	2	342	2
D13 (m)	2,10	1,30	1,62	0,10	3	2	1		3	1	431	2
D14 (m)							1		1	1	471	2
D15	2,00	1,30	1,54	0,30	1	1	1		1	1	460	2
D16 (m)	3,00	1,60	1,88	0,30	2	1	1		1	1	598	2
D17 (m)	1,00	0,50	2,00	0,20	1	1	1		3	1	582	3
D18	1,70	0,80	2,13	0,20	3	1	1		2	2	501	3
D19	1,40	0,80	1,75	0,20	3	2	1		1	3	502	2
D20	1,90	0,80	2,38	0,20	2	2	1		2	2	437	2
D21	1,60	0,80	2,00	0,20	2	1	1		1	3	625	2
D22	2,00	1,00	2,00	0,20	3	1	1		2	3	382	2
D23	1,00	0,70	1,43	0,20	1	3	1		3	1	332	2
D24	2,20	1,00	2,20	0,10	1	2	1		1	1	566	3
D25	2,10	1,70	1,24	0,30	1	2	1		2	3	380	1
D26							1		2	2	497	2
D27	2,30	1,30	1,77	0,20	1	3	1		3	3	271	1
D28 (m)	2,10	1,10	1,91	0,20	2	2	1		3	1	253	3
D29 (m)	1,70	1,10	1,55	0,20	2	2	1		3	3	263	2
D30	2,30	1,40	1,64	0,30	3	1	1		3	2	248	2
D31 (m)							1		1	1	200	3
D32	2,10	0,80	2,63	0,20	1	1	1		1	3	266	1
D33	2,40	1,50	1,60	0,30	1	2	1		3	1	282	2
D34	2,40	1,20	2,00	0,20	2	1	1		1	3	238	1
H1 (m)	1,80	1,00	1,80	0,40	1	1	1		1	2	536	2
H2	1,60	0,70	2,29	0,10	1	2	1		1	3	325	1
H3	0,90	0,60	1,50	0,20	1	2	1		1	3	289	1
H4	2,10	1,30	1,62	0,40	3	1	1		1	3	296	1
H5	2,00	1,20	1,67	0,30	1	1	1	41984	1	3	162	1
H6	2,00	1,10	1,82	0,40	1	2	1		2	3	176	1
H7	2,60	1,20	2,17	0,30	2	2	1		1	3	174	1
H8 (m)	1,90	1,20	1,58	0,10	1	1	1		1	2	424	2
H9	2,40	1,10	2,18	0,40	1	3	1		2	1	468	1
H10 (m)							1		1	2	620	1
H11 (m)	1,70	1,00	1,70	0,20	1	2	1		1	1	185	3
H12 (m)	1,30	0,60	2,17	0,20	3	2	1		1	2	230	1
H13	2,30	1,00	2,30	0,30	2	1	1		1	3	306	1
H14 (m)	1,70	1,00	1,70	0,30	3	3	1		3	1	210	3
K1	2,10	1,20	1,75	0,20	3	2	1		1	1	404	2
K2 (m)	2,00	1,50	1,33	0,30	3	3	1		1	1	406	1
K3	2,60	1,40	1,86	0,30	2	2	1		1	1	404	1
K4 (m)	2,00	1,40	1,43	0,30	2	1	1		1	2	386	2
K5	1,70	0,90	1,89	0,20	1	3	1		1	2	468	3
K6 (m)	1,90	1,40	1,36	0,30	1	1	1		1	2	474	3
K7 (m)	2,10	1,20	1,75	0,30	3	2	1	41984	3	1	460	3
K8	2,30	1,30	1,77	0,20	3	1	1		3	1	462	3
K9	2,80	1,50	1,87	0,20	2	2	1		3	2	530	2
K10 (m)	2,30	1,50	1,53	0,20	1	1	1		1	2	370	2
K11	1,30	0,80	1,63	0,20	1	3	1		1	3	363	3
K12	2,20	1,20	1,83	0,30	3	1	1		2	2	688	2
K13	1,90	1,10	1,73	0,10	2	3	1		1	1	420	2
K14 (m)	2,10	1,30	1,62	0,20	2	2	1		1	1	457	2
K15 (m)	1,90	0,80	2,38	0,20	2	3	1		2	1	554	1
K16	3,00	1,40	2,14	0,40	2	1	1		1	3	347	2
K17	2,70	1,30	2,08	0,50	3	1	1		2	2	294	2
K18 (m)	2,60	1,10	2,36	0,40	3	2	1		2	2	294	2
K19 (m)	1,90	0,90	2,11	0,30	1	1	1		2	2	294	2
K21 (m)	2,50	2,00	1,25	0,30	4	3	1		2	2	298	2
K22 (m)	1,80	1,50	1,20	0,30	3	1	1		2	2	290	2
K23 (m)	1,60	0,90	1,78	0,30	3	1	1	41984	2	2	290	2
K24	2,00	1,30	1,54	0,30	1	2	1		3	2	265	2
K25	2,20	1,40	1,57	0,20	2	1	1		2	3	330	2
K26 (m)	1,70	0,90	1,89	0,30	3	2	1	41984	1	1	761	3
K27 (m)	1,80	1,20	1,50	0,20	1	2	1		3	1	336	2
K28 (m)	1,80	1,10	1,64	0,20	1	1	1		3	1	336	2
V1	1,30	0,70	1,86	0,20	3	1	1		1	2	334	2
V2	1,80	1,00	1,80	0,20	1	1	1		3	1	330	2
V3	2,30	1,30	1,77	0,20	3	1	1		2	1	252	1
O1	2,10	1,30	1,62	0,20	1	3	1		3	1	185	3
CH1	1,90	1,20	1,58	0,10	1	3	1		3	1	718	2
CH2	2,30	1,10	2,09	0,20	2	1	1		3	2	596	2
CH3	3,70	1,40	2,64	0,20	2	1	1		1	1	577	1
S11	3,60	1,70	2,12	0,10	3	1	1		1	2	404	3

Příloha č. 42 Tabulka s daty z programu ArcGis. Kódování: barva listu (1 – světle zelená, 2 – tmavě zelená, 3 – světle až tmavě zelená, 4 – panašovaná), žilnatina (1- výrazná, 2 – výraznější, 3 – nevýrazná), tvár (1 – vejčitý), popis lokality (1 – hřbitov, křížek, 2 – zahrady, parky, 3 – les), lesnatost (1 – silná 71 – 100%, 2 – střední 41 – 70%, 3 – slabá 0 – 40%), vzdálenost osídlení (1 – 0 – 200m, 2 – 201 – 1000m, 3 – >1000m)