

PŮVOD MODŘÍNU OPADAVÉHO V ČESKÉ REPUBLICE Z POHLEDU MOLEKULÁRNÍCH METOD

Tomáš Fér, Martin Prach, Jan Smyčka

V předchozích dílech jsme přirovnali hledání paleoekologické evidence o původnosti modřínu na území České republiky k hledání jehly v kupce sena. Možnou odpovědí na tento problém je použití molekulárně genetických metod, kde prvek náhodného (ne)nálezů víceméně odpadá. Na druhou stranu, molekulárně genetická evidence primárně pracuje s rozlišením různých populací a popsáním jejich vnitřní genetické rozmanitosti. Takto strukturovaná data pak často mají méně přímočarou interpretaci než nález pylového zrna nebo makrozbytku z daného regionu a období. Nelze například říci, že populace s určitou vnitřní rozmanitostí molekulárních znaků byla s jistotou původní, pouze že je to u ní pravděpodobnější než u jiné, méně rozmanité populace. Kromě toho je nezbytné pracovat s informacemi o variabilitě v celém areálu, aby bylo možné lokální data interpretovat ve správném kontextu. Tedy aby se například dalo definovat, co je velká a co malá genetická rozmanitost.

VNITRODRUHOVÁ ROZMANITOST MODŘÍNU OPADAVÉHO

Již od 30. let 20. století se objevuje snaha o třídění a taxonomické zařazení různých populací modřínu v rámci celé Evropy i tehdejšího Československa. Zprvu šlo o klasifikaci na základě morfologických znaků, jako je zejména tvar šištic, počet jehlic v brachyblastech (obr. 1) nebo celkový habitus stromů. Zásadní nevýhodou takových znaků je, že nikdy není zřejmé, do jaké míry jsou určené dědičně a do jaké míry se jedná o plastickou odpověď na prostředí, kterému je vystaven konkrétní jedinec nebo populace. Diskuze tak probíhala velmi dlouho, jak z lesnického, tak botanického pohledu, ale bez jasnějšího závěru (DOMIN 1930 a 1940, SVOBODA 1938 a 1947, KLIKA 1953). Ve změní názorů lišících se důrazem na různé znaky, úrovní klasifikace (druhy, poddruhy, variety, ekotypy) i počtem rozeznávaných taxonomických jednotek je ale možné vysledovat základní taxony, jejichž pojetí se částečně přeneslo až do současnosti. I přesto, že tyto taxony do určité míry našly oporu i v modernějších fylogenetických studiích, klasifikace modřínu stále není jednoznačná. První

hlavní skupinou je modřín alpský, dělící se dále do většího počtu regionálních jednotek, druhou je pak skupina modřínu karpatského, polského a jesenického (sudetického). Jesenický modřín (subsp. *sudetica*, např. Nožička 1962; obr. 2), ceněný pro svoji morfologickou kvalitu a vlastnosti vhodné pro pěstování, je někdy klasifikován samostatně, někdy je přiřazován k polskému, jindy zas ke karpatskému modřínu. Polský modřín z nižších poloh (subsp. *polonica*) se někdy popisuje jako samostatný poddruh vzhledem ke všem ostatním modřínům (subsp. *decidua*; např. SKALICKÁ A SKALICKÝ 1988), někdy se naopak přiřazuje ke karpatskému modřínu (var. *carpathica*). Významným příspěvkem do diskuse o vnitrodruhové rozmanitosti modřínu opadavého jsou pak recentní studie využívající molekulární metody, především studium variability na úrovni DNA.

MOLEKULÁRNÍ METODY

Molekulárně genetické metody, stejně jako klasická taxonomie, pracují na základě rozpoznání přítomnosti nebo nepřítomnosti znaků na zkoumaných jedincích

ZAPOJTE SE DO PROJEKTU I VY! WWW.POZNEJMODRIN.CZ

Pro výzkum modřínu opadavého, jehož součástí je i zkoumání jeho původu a výskytu na našem území, oceníme vaše tipy na lokální populace (i jednotlivé stromy) modřínu, které jsou na daných lokalitách dle ústních či písemných informací přítomny po více generací a pravděpodobně nebyly obnovovány výlučně uměle. Zvláště pak oceníme populace na exponovaných stanovištích, s výlučným habitem apod. Uvítáme také (i kusé) tipy na možnou přítomnost modřínu ve starých dřevěných konstrukcích v rámci ČR.

Více informací najdete na
www.POZNEJMODRIN.CZ



tvořících lokální populace. V případě klasické taxonomie jsou těmito znaky morfologické fenomény (např. zmíněné znaky na šišticích), v případě molekulárně genetických metod jsou to fenomény vyskytující se v sekvenci molekuly DNA.



Obr. 1: Detail větve a šištice modřínu na lokalitě Zadní vrch u Razové na Bruntálsku. Jedná se o původní jesenický modřín? Foto: Jindřich Prach



Obr. 2: Modříny na lokalitě Zadní vrch u Razové na Bruntálsku, z jejíhož okolí pochází nejstarší historické zmínky o modřínech z r. 1523. Foto: Jindřich Prach

Nespornou výhodou molekulárních znaků je, že na rozdíl od morfologických znaků jsou plně dědičné a jejich hodnoty tak nejsou zatíženy plastickou variabilitou v důsledku změny podmínek prostředí. Kromě toho je u nich obvykle znám konkrétní způsob dědičnosti – například znaky na jaderné DNA jsou děděny z obou rodičů, kdežto znaky na mitochondriální DNA (mtDNA) se u nahosemenných rostlin (tedy i u modřínu) dědí pouze po mateřské linii. To znamená, že při jejím studiu *de facto* sledujeme šíření pomocí semen a oddělíme tak možnou „kontaminaci“ způsobenou šířením pylu. To může být důležité ve chvíli, kdy nás zajímá šíření druhu semeny, a v případě, že studujeme druh s dálkovým šířením pylu (což ale modřín není). Existuje několik typů znaků na úrovni DNA, které se používají při molekulárně biologickém studiu populací. Jsou to například různé nukleotidy (resp. dusíkaté báze, tedy ona známá „písmena“ v sekvenci DNA) na konkrétních pozicích genomu (zjišťované pomocí tzv. sekvenování DNA), počty opakování velmi krátkých sekvencí (tzv. mikrosatelity) nebo (ne)přítomnost míst, která může specificky rozpoznat enzym štěpící DNA. Tato data potom slouží k určování příbuznosti mezi jedinci a populacemi. Pokud analyzujeme více jedinců v rámci populace, můžeme určovat populační rozmanitost (diverzitu) a také zastoupení jedinečných znaků, tzv. privátních alel v nich. Tyto ukazatele nám umožní posoudit, zda se jedná pravděpodobněji o vysazenou, nebo původní, tzv. refugiální populaci. Vysázené populace mají zpravidla sníženou genetickou diverzitu, protože semenáčky pocházely z podobného zdroje; jedná se o tzv. populační bottleneck (tedy tzv. efekt hrdla láhve, kdy je genetická diverzita snížena dras-

tickým zmenšením velikosti populace v minulosti – v tomto případě lidským působením; průměr vyjadřuje, že hrdlem láhve prošla pouze část rozmanitosti, která byla původně obsažena v celé láhvi). Refugiální populace budou naopak geneticky rozrůzněné a budou také obsahovat alely, které nejsou obvyklé v populacích, ze kterých probíhala výsadba. Vzácné alely se v nich nahromadily díky dlouhodobé izolaci od ostatních populací.

FYLOGEOGRAFIE MODŘÍNU

Fylogeografie je disciplína, která se zabývá studiem znaků ve variabilních částech DNA (popsaných výše) a interpretuje získané výsledky (tedy v zásadě podobnosti nebo rozdíly mezi populacemi) v geografických souvislostech a ve vztahu k možným změnám rozšíření druhu v minulosti. Jinými slovy zkoumá, zda jsou si geneticky podobnější populace bližší prostorově a zda jednoznačné molekulární rozdíly mezi regiony jdou vysvětlit např. jako následek změn areálů po konci doby ledové. Ve fylogeografii se velmi často využívají jednak informace z genomů děděných po mateřské linii (tj. mtDNA v případě modřínu), jednak analýza variabilních oblastí jaderného genomu (např. mikrosatelitových lokusů).

Pro vybrané hospodářsky významné druhy dřevin byly provedeny rozsáhlé fylogeografické studie již před dvěma dekádami. Například pro duby bylo zjištěno (PETIT ET AL. 2002), že rekolonizace Evropy po skončení doby ledové proběhla z několika refugií, tj. z oblastí, kde duby přežily zalednění. V poledové době se dub šířil nejen z Pyrenejského, Apeninského i Balkánského poloostrova, ale i ze severněji ležících oblastí, např. z Přímoř-

ských nebo severních Dinárských Alp. Velká fylogeografická studie, která kombinovala molekulární a paleoekologická data, byla uskutečněna i na buku (MAGRI ET AL. 2006). Ta identifikovala pravděpodobná refugia v dnešním Slovinsku, ve Francouzském středohoří a na úpatí Pyrenejí a naznačila možnost existence tzv. severních (kryptických) refugií na jižní Moravě a v Západních Karpatech.

Pro modřín opadavý bylo provedeno několik dílčích fylogeografických studií až před několika málo lety (např. WAGNER ET AL. 2015, DOSTÁLEK ET AL. 2018). Vzor-ky k analýze, z celého areálu modřínu považovaného za původní, byly získány buď sběrem v lokálních populacích nebo ze stromů pěstovaných v rámci mezinárodního provenienčního pokusu založeného v letech 1957–1958 (např. SCHÖBER 1977). Pomocí analýzy mtDNA (děděné maternálně) a až třinácti mikrosatelitových lokusů v jaderné DNA (děděných maternálně i paternálně) byla identifikována jasná ancestrální (tj. původní) genetická struktura. Výsledky sekvenování mtDNA jednoznačně odlišily alpské populace od ostatních. Podrobná analýza mikrosatelitových lokusů umožnila rozpoznat až sedm linií (obr. 3). Ty byly detekovány pomocí tzv. modelového shlu-kování. Jednoznačně byly odděleny populace ze západních a jihozápadních Alp. Další skupinou byly zbylé alpské populace, v rámci nichž bylo možné rozpoznat další tři linie (centrální, jihovýchodní a severovýchodní Alpy). Poslední skupina byla tvořena jesenicko-polsko-karpat-skými populacemi. Jesenické populace (tedy lokality z České republiky) jsou v rámci této skupiny celkem jednoznačně odlišeny, stejně tak populace ze západních Karpat (Slovenska) a jižních Karpat (Rumunska). Naopak populace z Polska

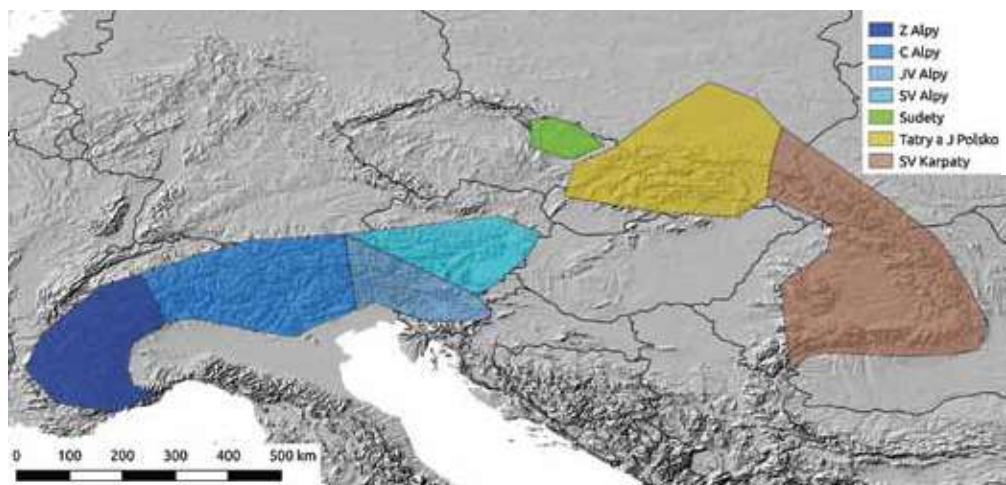
(Góry Świętokrzyskie a populace na jih od Varšavy) nebylo možné odlišit jako samostatnou linii a vykazovaly podobnost jak k jesenickým, tak k západokarpatským populacím. Výhodou studie WAGNER ET AL. (2015) je především důraz na analýzu materiálu z celého dosud uvažovaného původního areálu a použití velkého množství variabilních znaků, což umožnilo získat ucelený pohled na snad původní fylogeografickou strukturu modříny opadavého.

Doposud nebyly publikovány ucelenější molekulární studie, které by zahrnovaly analýzu většího množství populací modříny v nízkohesenickém předhoří, jež jsou považovány za zbytky původního výskytu v České republice (viz dále). Takovéto studie by mohly osvětlit i otázku, do jaké míry jsou tyto populace ovlivněny pěstováním nepůvodních genotypů.

ROZSAH PŮVODNÍHO ROZŠÍŘENÍ MODŘÍNY V ČESKÉ REPUBLICE

Diskuze o rozsahu původního areálu modříny na našem území se vedla spolu s výše zmíněným vývojem jeho taxonomické klasifikace. Řešení této otázky je výrazně komplikováno častou kultivací modříny různého původu, která je doložena od 18. století a byla postupně uplatněna prakticky na celém našem území. Jádrem původního areálu v předhoří Nízkého Jeseníku na Bruntálsku a Krnovsku je dnes univerzálně přijímáno na základě jak historických, tak fylogeografických studií (viz výše). Otázkou však zůstává původnost modříny v okrajových částech této oblasti a názory na ni se různí. Širší původní areál se rekonstruuje od Osoblažska na severu po Oderské vrchy (včetně) na jihu a údolí Odry na jihovýchodě. Na západě pak výběžkem sahá až téměř k Zábřehu s oddělenou arelou (prostorově oddělenou sub-populací) dále na západ v okolí Rudy nad Moravou (ŠINDELÁŘ, FRÝDL A NOVOTNÝ 2006).

Další nevyřešenou otázkou zůstává potenciální přežití reliktních jedinců nebo celých populací v jiných regionech v České republice. Názory podporující jejich reliktní původ, které se objevovaly na základě historických údajů nebo výskytu specifických regionálních populací s dobrými produkčními vlastnostmi, byly většinou odmítány. První případ platí například o okolí Jindřichova Hradce (KLIKA 1953), druhým případem jsou modříny hrotovický, dalešický, křivoklátský nebo adamovský. Vzhledem ke svět-



Obr. 3: Schematický původní areál modříny opadavého s vyznačením sedmi genetických linií definovaných na základě molekulární mikrosatelitové analýzy (dle WAGNER ET AL. 2015). Autor: Jan Smyčka

ský nebo adamovský. Vzhledem ke světlostomilnosti a nízké konkurenceschopnosti modříny lze předpokládat případný reliktní výskyt na exponovaných skalnatých stanovištích s omezenou konkurencí ostatních dřevin – např. na skalních útvarcích, hranách kaňonů řek a podobně. Populace přežívající na podobných lesnických nevyužitelných stanovištích tak mohly dlouhodobě uniknout pozornosti a nebyly nikdy zahrnuty do molekulárních analýz.

ZÁVĚR

Populace modříny opadavého mají v rámci širší střední Evropy poměrně jednoznačně určenou fylogeografickou strukturu, která celkem dobře umožní odlišit původní výskyt od výsadby materiálu pocházejícího z jiné oblasti. Určitě lze odlišit výsadby alpského materiálu v České republice od původního jesenického typu. Do jisté míry je snad možné odlišit i výsadby materiálu z karpatské oblasti. V rámci projektu LARIXUTOR chceme díky kombinaci historického, paleoekologického a vegetačního výzkumu vytypovat potenciálně původní (refugiální) lokality, v rámci kterých odebereme materiál na molekulární analýzy (obr. 4). Výsledky zkombinujeme s dostupnými daty o molekulární rozmanitosti v rámci celého areálu a zhodnotíme příslušnost těchto lokalit k jednotlivým geneticky definovaným liniím zmíněným výše. Populačně genetická data by také mohla přispět k odlišení případných reliktních populací od populací vzniklých čistě kultivací.

Příspěvek vznikl v rámci projektu NAZV QK21010335 (LARIXUTOR). Citovaná literatura je k dispozici u autorů.



Obr. 4: Odebírání vzorků modříny na molekulární analýzy. Foto: Jindřich Prach

Autoři:

Mgr. Tomáš Fér, Ph.D.

Mgr. Martin Prach

Katedra botaniky

Přírodovědecká fakulta UK

Mgr. Jan Smyčka, Ph.D.

Centrum pro teoretická studia, společné

pracoviště UK a AV ČR

Katedra botaniky

Přírodovědecká fakulta UK

E-mail: tomas.fer@natur.cuni.cz