

Příběh obyčejné trávy s neobyčejnou evolucí – tomka vonná a její příbuzní

Tomka (*Anthoxanthum*) je v České republice, ale i v celé Evropě běžný rod trav z čeledi lipnicovitých (*Poaceae*). Charakteristická je pro ni zejména sladká vůně kumarinu, látky, která se mimo jiné přidává do parfémů. Milovníky alkoholu by mohlo zajímat, že její blízkce příbuzná tomkovice vonná (*Hierochloë odorata*, obr. 1), lidově zvaná zubří tráva, je nedílnou součástí pravé polské zubrovky. Každé láhvi této vodky dodává nezaměnitelnou vůni stéblo tomkovice, tedy právě kumarin. Nejběžnějším evropským zástupcem rodu je tomka vonná (*A. odoratum*), kterou najdeme hojně na lukách a pastvinách od nížin do hor. Ve vyšších horských polohách ji nahrazuje drobnější a mnohem méně častá tomka alpská (*A. alpinum*), u nás známá z Krkonoš, Jeseníků, Králického Sněžníku a Šumavy. Zejména díky lidské činnosti se dnes oba druhy ve středních horských polohách (okolo 1 000 m n. m.) běžně potkávají. Nicméně, jak nastíníme dále, jejich evoluční historie mají společného mnohem více než jen sekundární kontakt v horských oblastech s intenzivním vlivem člověka.

Tomky po morfologické stránce

Jednotlicím znaků v celém rodu tomka není mnoho. Jsou to jednoleté nebo vytrvalé, většinou trsnaté byliny (obr. 2) se značně proměnlivou výškou, která se pohybuje v rozmezí 5–90 cm. Listy jsou ploché, 2–15 mm široké, opatřené 2–5 mm dlouhým jazýčkem, zbarvené v různých odstínech zelené (terminologie k morfologii trav viz také Živa 2010, 1: 12–16). Květenství většinou tvoří vejcovitě stažená lata, složená z trojkvětých klásků (obr. 3). Klásky jsou ale funkčně jednokvěté, neboť

pouze terminální květ je fertillní (plodný). Postranní květy jsou sterilní, a tedy zdánlivě bezvýznamné. Nicméně během dozrávání obilky pluchy těchto sterilních květů zmohtnou, zbarví se do tmavohněda a vytvoří jakýsi ochranný obal vznikající obilce. Vlastní plucha i pluška fertillního květu je jen nepatrně větší než samotná obilka a je k ní natolik přitisklá, že ji v podstatě nelze oddělit, aniž bychom přitom obilku nepoškodili. Přesto u tomek nejde o tzv. pluchaté obilky známé u ječmene nebo rýže, ale o obilky nahé.

Odhlédneme-li od morfologie, dalším jednotlicím znakem rodu je základní chromozomové číslo $x = 5$, čímž se mimo jiné tomky značně liší od blízce příbuzného rodu tomkovice s $x = 7$. Z celosvětového hlediska čítá rod *Anthoxanthum* kolem 20 druhů, které jsou rozšířeny víceméně po celé Evropě, Asii a v Africe (na severu a v horách tropického pásu). Do ostatních koutů světa (Severní i Jižní Ameriky a Austrálie) byly tomky zavlečeny člověkem.

Jak již bylo řečeno, v České republice se z těchto 20 druhů vyskytují přirozeně pouze dva zástupci – tomka vonná a tomka alpská. A jak oba druhy rozeznáme? Tomka vonná má čepele listů 4–8 mm široké, alespoň na líci řídce chlupaté, i za sucha ploché. Laty jsou až 9 cm dlouhé, plevy drsné, matné, řídce chlupaté, někdy se zoubky na kýlu. Pluchy sterilních květů jsou chlupaté, chlupy nedosahují jejich vrcholu. Pluchy a plušky fertillních květů jsou hladké, lesklé, pouze zřídka chlupaté.

Tomka alpská má oproti předchozímu druhu celkově menší vzrůst. Čepele listů jsou lysé, jen na bázi na ouškách brvitě, 2–4 mm široké, za sucha svinuté, laty

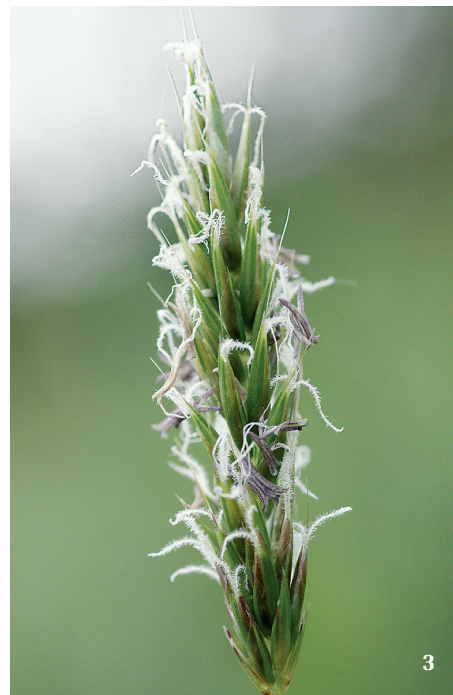
1 Tomkám evolučně nejbližší rod tomkovice (*Hierochloë*) má zcela odlišné květenství. Na snímku v České republice velmi vzácný druh – tomkovice vonná (*H. odorata*). Grado u Čelákovic

2 Celkový pohled na typický trs vytrvalého zástupce tomek (*Anthoxanthum*). I když se to může zdát nepravděpodobné, na fotografii není tetraploidní tomka vonná (*A. odoratum*), ale jí velmi podobný mediteránní diploid. Francie, Korsika

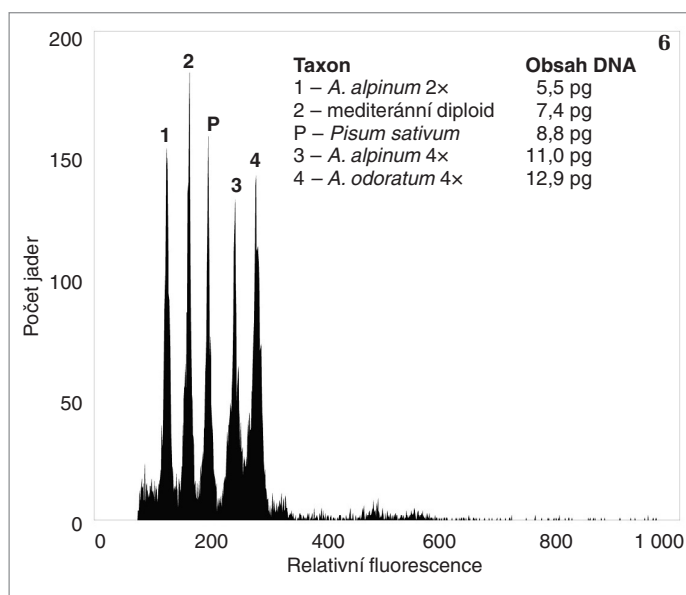
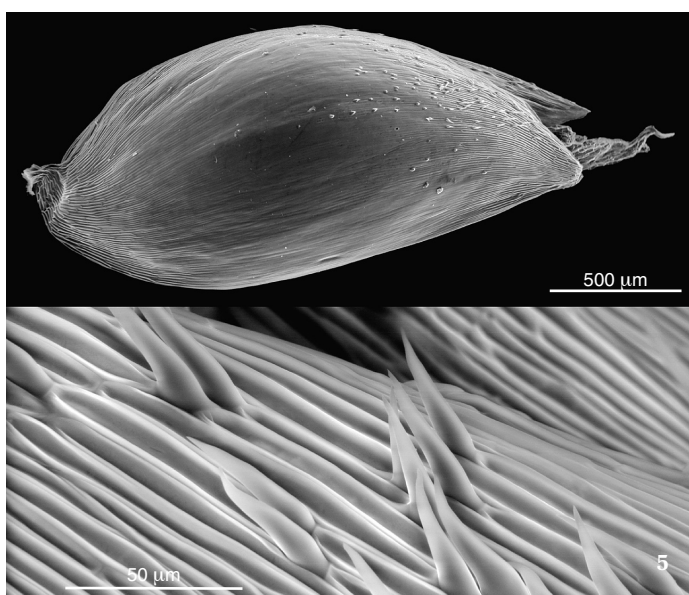
3 Nezaměnitelné květenství tomek zdobí zjara mnohé louky po celé Evropě od nížin až do hor. Na obrázku květenství mediteránního diploida z Černé Hory, ale víceméně totožný snímek lze pořídit v různých fázích jara nebo léta napříč Evropou u všech vytrvalých taxonů – počínaje *A. maderense* rostoucí na Madeiře a konče tomkou alpskou (*A. alpinum*).



1



3



2–3 cm dlouhé, plevy bez chlupů a zoubků na kýlu. Pluchy sterilních květů jsou chlupaté, chlupy dosahují nebo přesahují vrchol pluchy. Pluchy a plušky fertlilních květů jsou drsné, matné, někdy chlupaté.

Povrch pluchy a plušky fertlilního květu lze snadno sledovat pod binokulární lupou na obilkách, neboť tvoří neoddelitelný obal obilky v době její zralosti. Drsnost je podmíněna přítomností drobných háčkovitých chlupů, hladkost a lesklost jejich absencí (obr. 5).

Podíváme-li se na oba druhy laickým okem, lze je poměrně snadno rozeznat na první pohled podle barvy a lesku listů. Zatímco tomka vonná je většinou sivozelená, s listy oboustranně matnými, tomka alpská má živě zelenou barvu a spodní stranu listů výrazně lesklou. Jelikož jsou ale listy dost často přetočené, jeví se jako lesklá horní strana, a dodává tak celému trsu poměrně nápadný, svěže zelený vzhled.

Tomky – častý objekt výzkumů

Už ve 40. letech 20. stol. se zjistilo, že oba druhy mají jiný počet somatických chromozomů. Tomka vonná 20, tomka alpská jen polovinu – 10. Tomka alpská je diploid – obsahuje dvě identické sady chromozomů, zatímco tomka vonná tetraploid se čtyřmi sadami chromozomů. Zda vznikla autopolyploidizací (zdvojením sady chromozomů jednoho druhu), nebo alopolyploidizací (zkřížením dvou odlišných druhů a následným zdvojením již kombinovaného genomu), a kdo jsou její rodiče, to jsou jedny z otázek, na něž se snaží vědci odpovědět již více než půl století.

Na druhé straně objevení polyploidie u tomek vedlo k prvním větším taxonomickým problémům. Do té doby byl jeden evropský, již Linnéem popsán druh *A. odoratum*, díky Áskellovi a Doris Löveovým v r. 1948 rozdělen právě na základě počtu chromozomů na diploidní tomku alpskou a tetraploidní tomku vonnou.

4 Švýcarský Jura je domovem tetraploidní tomky alpské, vedle které tu najdeme i tomku vonnou. Kupodivu zde chybí předpokládaný předek, tedy v Evropě běžnější diploidní tomka alpská. Foto Z. Khodlová

5 Snímky z rastrovacího elektronového mikroskopu dokládají, že povrch obilky (resp. pluchy a plušky) je u tomky alpské opatřen háčkovitými chlupy, které u ostatních druhů chybějí. Foto J. Machač

6 Výstup cytometrické analýzy čtyř zástupců tomek a standardu (hrách setý – *Pisum sativum*). Z analýzy a uvedených obsahů DNA jsou dobře patrné některé pravděpodobné evoluční vztahy mezi druhy – zdvojnásobení obsahu DNA u diploidní tomky alpské odpovídá obsahu u tetraploida téhož druhu (autopolyploidie) a naopak součet obsahu DNA pro tomku alpskou a mediteránního diploida odpovídá obsahu pro tomku vonnou (alopolyploidie).



7



8



9

7 Nezaměnitelný druh tomky *A. gracile* ze středomořských ostrovů. Typicky rozestálé, dlouze osinkaté klásky v rozvolněné latě představují jedinečný znak této v Evropě dosti vzácné tomky. Řecko, Kréta

8 Zástupce mediteránních jednoletých tomek z komplexu *A. aristatum/ovatum*. Přestože je zde vyobrazen typický jedinec přiřaditelný k druhu *A. ovatum*, zůstává problematika jednoletých diploidů natolik složitá a dosud nejasná, že je lépe nečinít taxonomické závěry a spokojit se s širokým pojetím komplexu. Jižní Španělsko. Snímky P. Trávníčka, není-li uvedeno jinak

9 Na rakouských hadcích oblasti Burgenlandu se nachází reliktní stanoviště, kde spolu rostou tomka alpská a tomka vonná mimo horské oblasti. Podobná místa mohla v minulosti sloužit jako kontaktní zóna diploidních mediteránních typů a tomky alpské. Foto Z. Khodlová

Posléze se ukázalo, že toto rozdělení je víceméně opodstatněné, protože oba taxony se liší ekologickými nároky, rozšířením a částečně i morfologií. Postupným objevováním tomky alpské na dalších lokalitách v Evropě mimo Skandinávii a počítáním chromozomů se ale zjistilo, že situace ohledně vazby ploidního stupně na konkrétní druh tomky nebude tak jednoduchá. Opětovná snaha o upřednostnění morfologických znaků nad znaky cytologickými nakonec vedla k závěrům, že oba druhy představují komplexy jak diploidních, tak tetraploidních rostlin. Ve švýcarském Předalpí byly totiž nalezeny tetraploidní rostliny s háčkovitými chlupy na pluše a plušce fertálních květů, a byly tedy přiřazeny k tomce alpské. Naopak v jižní Evropě byly zaznamenávány diploidní vytrvalé rostliny bez háčkovitých chlupů a zahrnuty k tomce vonné. Z důvodů, které dále podrobně vysvětlíme, prozatím pracovníě nazýváme tyto rostliny mediterán-

ními diploidy, neboť jejich taxonomické zařazení k tomce vonné je přinejmenším velmi sporné.

U tomky alpské se otázka původu tetraploidních rostlin celkem rychle vyřešila. Jak studium karyologie, tak enzymatických systémů ukázalo, že jde s pravděpodobností hraničící s jistotou o autopolyploidní rostliny. Vznikly tedy zdvojením počtu chromozomů běžné diploidní tomky alpské, případně jejího velmi blízkého předka. Rozšíření těchto tetraploidů je omezeno na oblast Předalpí na pomezí Švýcarska a Francie (pohoří Jura, obr. 4) a Francouzského středohoří (Massif Central).

Na straně druhé zůstává otázka vzniku tetraploidní tomky vonné otevřená, ačkoli názorů na řešení se vystřídal v minulosti hned několik. Jeden z nich pokládal za rodičovský taxon diploidní tomku alpskou. Jenže s objevem tetraploidních rostlin tohoto druhu, a tedy s prokázáním existence dvou typů tetraploidů, se od této teorie záhy upustilo. Nahradily ji v krátké době další dvě. Jedna předpokládá autopolyploidizaci z úplně jiného druhu, např. nějakého pro vědu neznámého diploida z jihu Evropy, druhá teorie poukazuje na možnou hybridizaci mezi tomkou alpskou a jiným diploidním taxonem. Pozdější podrobné analýzy karyotypu (metoda, kdy se bere v potaz i tvar a délka chromozomů, nikoli jen jejich počet) se jednoznačně přiklonily k druhé možnosti, neboť bylo dokázáno, že se u tomky vonné vyskytuje 10 chromozomů totožných s tomkou alpskou a dalších 10 odvozených z některého diploidního druhu z jižní Evropy. O který druh mediteránních tomek přesně šlo, je však stále předmětem spekulací. Jednou variantou je výše zmíněný mediteránní diploid, který nebyl dosud řádně popsán a ve flórách jihoevropských států je ztotožňován s tomkou vonnou. Další potenciální kandidáti se odvozují z jednoletých druhů jižní Evropy, jako jsou tomka osinatá (*A. aristatum*) a *A. ovatum*, které bývají kvůli nejasnému taxonomickému vymezení považovány za společný komplex *A. aristatum/ovatum*.

Co nám pověděla průtoková cytometrie

Průtoková cytometrie, dnes již zcela běžná, rychlá a nedestruktivní metoda určování úrovně ploidie a velikosti genomu u živých organismů (více viz Živa 2005, 1: 46–48 a 2012, 4: 155–157), přinesla v rámci našeho studia tomek několik důležitých poznatků. Podařilo se nám díky ní potvrdit existenci vytrvalého mediteránního diploida ve východním Středozeří, na první pohled prakticky nerozpoznatelného od tomky vonné. Že jde ale o jinou evoluční linii, která není jednoduše ztotožnitelná s linií tetraploidních rostlin tomky vonné, potvrdila analýza velikosti genomu (obsahu jaderné DNA; tab. 1 na str. 232). Zatímco u mediteránního diploida byla zjištěna velikost genomu (2C-hodnota) přibližně 7,4 pg (pikogram = 10^{-12} g; předpona piko- pochází z italského piccolo, tj. maličký) u tetraploidních rostlin tomky vonné to bylo zhruba 12,9 pg. Z prosté aritmetiky je zřejmé, že tetraploidní tomka vonná nevznikla pouhým zdvojením genomu mediteránního diploida, neboť $2 \times 7,4$ pg dává přibližně o 15 % větší

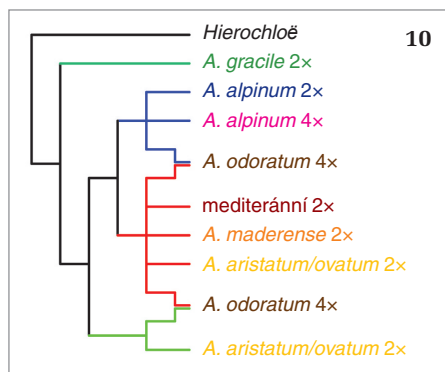
hodnotu velikosti genomu, než je skutečně naměřený obsah jaderné DNA u tomky vonné. K zásadnímu průlomů v náhledu na potenciální vznik tetraploidů tomky vonné došlo po proměření velikosti genomu u diploidních rostlin tomky alpské, která činila asi 5,5 pg. Pouhým součtem hodnot pro mediteránního diploida a diploidní tomku alpskou (čímž se generuje teoretický alotetraploidní druh vzniklý hybridizací těchto dvou diploidních druhů) dojdeme k totožné velikosti genomu, jaká byla zjištěna u skutečných tetraploidů tomky vonné. Z těchto jednoduchých propočtů je zřejmé, že tetraploidní tomka vonná mohla s velkou pravděpodobností vzniknout hybridizací mediteránního diploida a diploidní tomky alpské a následným zdvojením genomu. Naopak autopolyploidní vznik tomky vonné, ať už z mediteránního diploida, nebo dokonce z tomky alpské lze téměř s jistotou vyloučit. Pro úplnost se sluší dodat, že změřená velikost genomu tetraploidních rostlin *A. alpinum* ze Švýcarska i z Francie odpovídá teoretickému předpokladu dvojnásobné hodnoty diploidních rostlin (tedy asi 11,0 pg), čímž byl podán další nepřímý důkaz o autopolyploidním původu těchto tetraploidů. Uvedené závěry dokládá společná cytometrická analýza obou tetraploidů i jejich potenciálních diploidních předků (obr. 6).

Jak do toho promlouvají jiné taxony?

Nejpravděpodobnější teoretické rodiče tomky vonné jsme sice odhalili, bylo by však dobré podívat se i na ostatní evropské druhy, kterých není málo a jejichž podíl na evoluci polyploidních linií není zcela vyloučen.

Z vytrvalých druhů tu najdeme diploidní taxon popsáný v r. 1998 – *A. maderense* vyskytující se na Madeiře, který je morfologicky podobný tomce vonné nebo mediteránnímu diploidu. Dále byla z jižní části Balkánského poloostrova popsána v r. 1904 tomka *A. pauciflorum*, od té doby ji ale s největší pravděpodobností nikdo neviděl, a ani nám se nepodařilo ji nalézt. Jak ovšem zlí jazykové tvrdí, tento druh je pouhým synonymem jihoevropského typu tomky vonné a je tedy s největší pravděpodobností ztotožnitelný s naším mediteránním diploidem. Otázkou zůstává, zda se podaří někdy tuto nejasnost uspokojivě vyřešit. Podíváme-li se do severozápadní části Pyrenejského poloostrova, najdeme tam vysoce polyploidní ($2n = 80-90$) a endemický druh *A. amarum*. Často bývá uváděn jako poddruh nebo varieta tomky vonné, jíž je po morfologické i genetické stránce blízce příbuzný. Vysoká míra polyploidizace se výrazně projevuje v jeho vzhledu, a tak jsou rostliny tohoto druhu nápadné svou mohutností.

Z jednoletých druhů, které jsou všechny diploidní ($2n = 10$), se na ostrovech Středozemního moře vyskytuje tomka *A. gracile*, morfologicky velmi nápadná rozestálými klásky (obr. 7). Dalšími jednoletými zástupci středomořského pobřeží a atlantské zóny západní Evropy jsou již zmíněné druhy *A. aristatum* a *A. ovatum* (v typické podobě na obr. 8). U těchto taxonů se ve snaze podchytit velkou vnitrodruhovou variabilitu udávají četné pod-



druhy a variety, které se však různě prolínají. Taxonomická nejednoznačnost vzájemného vymezení obou druhů a jejich pravděpodobné křížení ve smíšených populacích vede k nahlížení na oba typy jako na jeden komplex *A. aristatum/ovatum*.

Hodnoty velikosti genomu pro tyto taxony jsou shrnuty v tab. 1. Z těchto čísel je patrné, že žádný z diploidních taxonů nemohl dát vzniknout sám o sobě (tedy cestou autopolyploidizace) tetraploidní tomce vonné. Jediná možnost zůstává v kombinaci genomů různých diploidních druhů (tedy alopolyploidizace). Podle velikosti genomu přicházejí v úvahu pouze kombinace tomky alpské s některým z trojice *A. aristatum/ovatum*, *A. maderense* či mediteránní diploid. Tou nejpravděpodobnější variantou je z hlediska odchylky teoretické hodnoty jaderného obsahu DNA od skutečně naměřené kombinace s mediteránním diploidem. I když jsme se pomocí průtokové cytometrie nedobrali k jednoznačnému závěru ohledně rodičů tomky vonné, dvě tvrzení lze říci s jistotou – že tomka vonná je produktem hybridizace dvou různých druhů (tedy alopolyploid) a tomka alpská zcela určitě jedním z jeho rodičů, ale kandidátů na druhého rodiče bude více. Těmto závěrům napovídá i fakt, že se tomka alpská kromě horských oblastí vyskytuje na reliktních stanovištích nižších nadmořských výšek, kde mohlo dojít ke kontaktu s jihoevropskými druhy (viz obr. 9).

Molekulární analýzy

Pro potvrzení našich hypotéz o polyploidní evoluci tomek byly aplikovány metody molekulární biologie, zejména sekvenování chloroplastové a jaderné DNA. Výsled-

Tab. 1 Přehled průměrných velikostí genomu (2C-hodnoty obsahu jaderné DNA), jak byly pro jednotlivé druhy tomek a jejich ploidie stanoveny pomocí průtokové cytometrie.

Druh	Ploidie	Velikost genomu
<i>A. alpinum</i>	2x	5,5 pg
	4x	11,0 pg
<i>A. amarum</i>	16–18x	44,6 pg
<i>A. aristatum/ovatum</i>	2x	7,7 pg
<i>A. gracile</i>	2x	18,7 pg
<i>A. maderense</i>	2x	7,0 pg
mediteránní diploid	2x	7,4 pg
<i>A. odoratum</i>	4x	12,9 pg

10 Schematické shrnutí molekulárních dat (sekvenace chloroplastové i jaderné DNA) naznačuje příbuzenské vztahy mezi taxony a potenciálně možný vznik tetraploidní tomky vonné.

Ze schématu je patrné bazální postavení *A. gracile* a úzké provázání ostatních vytrvalých zástupců, kteří tvoří tři hlavní linie. V první linii jsou zastoupeny obě ploidy tomky alpské, v druhé linii mediteránní diploidy, *A. maderense* a část komplexu *A. aristatum/ovatum* a ve třetí linii je druhá část tohoto komplexu. Postavení tetraploidní tomky vonné je nejednoznačné, neboť různí jedinci kombinují ve svém genomu různé linie. Z toho lze usuzovat, že tomka vonná vznikla v průběhu evoluce několikrát nezávisle na sobě, pravděpodobně kombinací různých diploidních rodičů. Orig. P. Trávníček

ky ukázaly několik zajímavých skutečností (obr. 10). Ve všech analýzách se zcela oddělila větev *A. gracile*, což odpovídá naprosto odlišné velikosti genomu a morfologii. Dále se jasné vyčlenily dvě skupiny. Do jedné spadají všechny rostliny tomky alpské, do druhé všichni čistě mediteránní zástupci rodu, tedy mediteránní diploid, komplex *A. aristatum/ovatum*, *A. maderense* a *A. amarum*. Sekvence tomky vonné patří do obou větví a vyskytují se u ní různé typy sekvencí v různých kombinacích, což napovídá mnohonásobnému a polytopnímu vzniku (tedy v různých geografických oblastech). U analýz založených na sekvenování částí jaderného genomu se navíc odlišila skupina tomky vonné s některými rostlinami z Čech a Švýcarska. Uvidíme, co přinesou další výsledky založené na sekvenování většího množství vzorků z širší geografické oblasti.

Závěrem

Podíváme-li se na druhově nepočtený rod, kterým bezesporu tomky jsou, tak i zde jasné vidíme známky složité evoluční historie některých linií. Vzájemná provázanost diploidních druhů, odrážející se v polyploidních liniích a utvářející jejich pozoruhodnou komplexitu, se jen velmi těžko rozkrývá. Pouze díky moderním metodám soudobé biosystematiky je možné alespoň po částech odhalit složité děje, které stojí za touto rozmanitostí zrcadlící mnohdy pozoruhodné evoluční procesy. Ačkoli se nám na konci bádání podaří podhalit některá tajemství, další naopak na povrch vyplavou. Nejinak tomu je u tomek, kde sice již něco o evoluci rodu víme, ale mnohé otázky zůstávají zatím nezdopovězeny a čekají na zvědavé badatele.

Výzkum byl podporován projekty Grantové agentury Univerzity Karlovy GAUK 145/2006 a GAUK 9661/2009. Závěš publikace vznikla s podporou z dlouhodobý koncepční rozvoj výzkumné organizace RVO 67985939.