MASARYKOVA UNIVERZITA

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Velikost genomu a genomový poměr bází v řádech *Lamiales*, *Ericales* a *Caryophyllales*

Bakalářská práce

JAN FURCH

Vedoucí práce: prof. RNDr. Petr Bureš, Ph.D.

Ústav botaniky a zoologie
Program: Ekologická a evoluční biologie

Brno 2024

MUNI
SCI

Bibliografický záznam

Autor:	Jan Furch Přírodovědecká fakulta Masarykova univerzita **Ústav botaniky a zoologie**
Název práce:	Velikost genomu a genomový poměr bází v řádech *Lamiales*, *Ericales* a *Caryophyllales*
Studijní program:	Ekologická a evoluční biologie
Vedoucí práce:	prof. RNDr. Petr Bureš, Ph.D.
Rok:	**2024**
Počet stran:	46
Klíčová slova:	Velikost genomu; *Lamiales*; *Ericales*; *Caryophyllales*; masožravé rostliny; velikost průduchů; průtoková cytometrie; GC obsah

Bibliographic record

Author: Jan Furch
Faculty of Science
Masaryk University
Department of Botany and Zoology

Title of Thesis: Genome size and genomic base composition in the orders of *Lamiales*, *Ericales*, and *Caryophyllales*

Degree Programme: Ecological and evolutionary biology

Supervisor: prof. RNDr. Petr Bureš, Ph.D.

Year: **2024**

Number of Pages: 46

Keywords: Genome size; *Lamiales*; *Ericales*; *Caryophyllales*; carnivorous plants; stomatal size; flow cytometry; GC content

Abstrakt

Hlavním cílem této analytické studie je doplnění genomických údajů zejména u tropických a subtropických druhů z řádů *Ericales*, *Lamiales* a *Caryophyllales*. Pomocí průtokové cytometrie byla změřena velikost genomu a AT/GC genomový poměr bází u 97 taxonů. U většiny z těchto rostlin byla také naměřena délka průduchů a z literatury byla získána dostupná data o počtu jejich chromozomů.

Pomocí fylogenetického stromu, vygenerovaného pomocí nástroje TIMETREE byla provedena fylogeneticky korigovaná lineární regresní analýza testující: (1) vliv velikosti genomu na zastoupení GC bází, (2) vliv velikosti genomu na velikost průduchů, (3) vliv karnivorie na velikost genomu. Pro účely třetího z těchto testů byl dataset doplněn o dostupné genomické údaje dalších zástupců karnivorních i nekarnivorních rostlin z těchto tří řádů.

Očekávaný pozitivní vztah mezi velikosti genomu a zastoupením GC bází, resp. velikostí genomu a velikostí průduchů, byl potvrzen, avšak vliv karnivorie na velikost genomu nebyl prokázán.

Abstract

This analytical study primarily enhances new genomic data, focusing on tropical and subtropical species from the orders *Ericales*, *Lamiales*, and *Caryophyllales*. For 97 taxa, genome size, and the AT/GC base-pair ratio were determined using flow cytometry. Additionally, the length of stomatal guard cells was measured for most of these plants, and chromosome number information was extracted from literature sources.

Using a phylogenetic tree obtained from TIMETREE, phylogenetically corrected linear regression analysis was conducted to test: (1) how genome size impacts genomic GC content, (2) the relationship between genome size and stomatal length, and (3) the effect of carnivory on genome size. For the third analysis, the dataset was expanded to include additional genomic data from both carnivorous and non-carnivorous plants within the studied three orders.

The analyses confirmed expected positive correlations between genome size and GC content and stomatal length. However, no significant impact of carnivory on genome size was observed.

MUNI
SCI

MASARYKOVA UNIVERZITA
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
KOTLÁŘSKÁ 2, 611 37 BRNO
IČ: 00216224
DIČ: CZ00216224

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Akademický rok: 2023/2024

Ústav:	Ústav botaniky a zoologie
Student:	Jan Furch
Program:	Ekologická a evoluční biologie
Specializace:	Ekologická a evoluční biologie

Ředitel *ústavu* PřF MU Vám ve smyslu Studijního a zkušebního řádu MU určuje bakalářskou práci s názvem:

Název práce:	Velikost genomu a genomový poměr bází v řádech Lamiales, Ericales a Caryophyllales
Název práce anglicky:	Genome size and genomic base composition in the orders of Lamiales, Ericales, and Caryophyllales
Jazyk závěrečné práce:	čeština

Oficiální zadání:
Velikost genomu a genomový poměr bází (GC obsah) jsou druhově specifické, relativně stabilní znaky organizmů, často spojené s jejich ekologií, fyziologií, morfologií nebo geografickou distribucí. Kumulace těchto genomických dat u rostlin intenzivně narůstá zejména v posledních dekádách a nynější znalosti těchto parametrů u krytosemenných pokrývají v případě velikosti genomu ca 5 % druhové diverzity této linie. Hlavními cíli práce je: (i) doplnit tato genomická data zejména u tropických a subtropických zástupců řádů Lamiales, Ericales a Caryophyllales, na základě flow-cytometrického měření rostlinného materiálu získaného z botanických zahrad. (ii) Nově naměřená data integrovat s údaji pro velikosti genomu a GC obsahu (popř. počty chromosomů) excerpovanými z dostupné literatury a databází. (iii) Rekonstruovat evoluci velikosti genomu a GC obsahu v rámci zmíněných řádů. (iv) Znovu otestovat v minulosti analyzovaný vztah mezi velikostí genomu a nezávislým vznikem karnivorie v těchto řádech. (v) Prozkoumat vztah mezi délkou průduchových buněk a genomickými parametry.

Vedoucí práce:	prof. RNDr. Petr Bureš, Ph.D.
Konzultant:	Mgr. František Zedek, Ph.D. Ing. Jakub Šmerda, Ph.D.
Datum zadání práce:	12. 9. 2023
V Brně dne:	1. 5. 2024

Zadání bylo schváleno prostřednictvím IS MU.

Jan Furch, 12. 9. 2023
prof. RNDr. Petr Bureš, Ph.D., 12. 9. 2023
doc. Dipl. Biol. Jiří Schlaghamerský, Ph.D., 8. 11. 2023

Poděkování

Děkuji prof. RNDr. Petru Burešovi Ph.D. za vedení práce, konzultace a domluvení odběru vzorků z botanické zahrady, dále Mgr. Lucce Horové a Ing. Jakubovi Šmerdovi Ph.D. za pomoc a zaučení v laboratoři při práci s cytometrem, Mgr. Františkovi Zedkovi Ph.D. za pomoc se statistickými metodami v R. Dále bych rád poděkoval Vlastimilu Rybkovi a celému týmu z botanické zahrady Praha Troja za jejich čas a trpělivost při odběru rostlinných vzorků pro tuto práci.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem svoji bakalářskou práci vypracoval samostatně pod vedením vedoucího práce s využitím informačních zdrojů, které jsou v práci citovány.

V Brně 3. května 2024 ……

Jan Furch

Obsah

Seznam pojmů a zkratek 13

1 Úvod 14

1.1 Velikost genomu 14

1.1.1 Mechanismy ovlivňující velikost genomu 15

1.2 AT/GC poměr bází 16

1.3 Cíle práce 17

2 Materiál a metodika 18

2.1 Materiál 18

2.2 Průtoková cytometrie 18

2.2.1 Měření materiálu 19

2.2.2 Výpočet velikosti genomu, chromozomů a AT/GC poměru bází 20

2.3 Měření délky průduchových buněk 21

2.4 Vytvoření fylogenetického stromu 22

2.5 Statistické zpracování dat 22

3 Výsledky 23

3.1 Velikost genomu ve vztahu k obsahu GC bází 23

3.2 Velikost genomu ve vztahu k délce svěracích buněk průduchů 25

3.3 Karnivorie ve vztahu k velikosti genomu 26

4 Diskuse 34

4.1 Karnivorie a velikost genomu 35

4.2 Kam dále směřovat výzkum 36

5 Závěr 37

6 Použitá literatura 38

Příloha A 44

Seznam pojmů a zkratek

C	–	Cytosin
G	–	Guanin
A	–	Adenin
T	–	Thymin
U	–	Uracil
PGLS	–	Phylogenetic Generalized Least Squares (fylogeneticky korigovaná lineární regrese)
OLS	–	Ordinary Least Squares (lineární regrese)
CV	–	Koeficient variance

1 Úvod

Bakalářská práce je primárně zaměřena na stanovení velikosti genomu a poměrového zastoupení AT a GC bází v jaderné DNA pomocí průtokové cytometrie. Cílovou skupinou byli tropičtí a subtropičtí zástupci řádů *Lamiales*, *Ericales* a *Caryophyllales*. Tyto tři řády byly vybrány z jednoho důvodu, který je všechny spojuje a tím je nezávislý vývin masožravosti, alespoň v jedné čeledi v těchto řádech. Dalším kritériem také bylo, že tyto řády zahrnují druhy, které jsou dostupné v pražské botanické zahradě v Troji a samozřejmě to, že velikost genomu u nich nebyla dosud měřena.

Právě masožravost byla studována v práci Adama Veleby (2020), kde bylo testováno, zdali masožravost stojí za zmenšením genomu. Již dříve byly publikovány studie, které poukazují na malé genomy masožravých rostlin (Veleba et al. 2014; Veleba et al. 2017), vždyť i nejmenší rostlinný genom byl naměřen u zástupce z čeledi *Lentibulariaceae*, jejíž všichni zástupci jsou masožraví. Zmenšení genomu u masožravých rostlin by mohlo být zapříčiněno substrátem na kterém rostou. Vyskytují se totiž na živinami-chudých půdách (Givnish 1984; Givnish et al. 2018), kde je nedostatek fosforu a dusíku. Právě dostupnost živin by mohla být faktorem limitujícím velikost genomu (Hanson et al. 2001; Leitch & Leitch 2008; Guignard et al. 2017). I přes tyto skutečnosti, však nebyl vztah masožravosti na zmenšování genomu ve studii (Veleba et al. 2020) potvrzen. Jedním z důvodů může být i limitovaná znalost velikosti genomu v těchto řádech, zejména tropických druhů, u nichž je velikost genomu méně prozkoumaná než u druhů temperátních oblastí severní polokoule (Bureš et al. 2024). Proto byl po doplnění nových dat o velikostech genomu možná souvislost mezi masožravostí a zmenšováním genomu znovu testována.

1.1 Velikost genomu

Genom je soubor veškeré genetické informace nacházející se v DNA jádře buňky u konkrétního organismu. Obsah jaderné DNA se obvykle uvádí v párech bází (bp) nebo v pikogramech (pg), kde se pro přepočet používá nejčastěji vztah 1 pg = 978 Mbp (Doležel et al. 2003). Dnes jsou k dispozici údaje pro něco málo přes 12000 druhů rostlin napříč všemi odděleními dostupné v databázi Plant DNA C-values database

(Leitch et al. 2019); ještě o něco větší je datový soubor zahrnující velikosti genomu více než 16000 druhů krytosemenných, jenž je součástí práce, kterou zpracovali Bureš et al. (2024). Rozdíly mezi nejmenším genomem, který byl naměřen u rostliny *Genslisea tuberosa* 1C = 61Mbp (Fleischmann et al. 2014) a největším genomem rostliny *Paris japonica* 1C = 148,852 Gbp (Pellicer et al. 2010) jsou opravdu obrovské, zejména pokud je srovnáme s jinými mnohobuněčnými eukaryotními liniemi, jakými jsou třeba houby nebo živočichové. Není tedy divu, že velikost genomu má nemalý vliv na morfologii, fyziologii, ekologii a geografickou distribuci rostlin.

Právě z morfologické a fyziologické stránky hraje velikost genomu důležitou roli jakým způsobem ovlivňuje velikost buněk, protože obrovský genom se nevejde do malé buňky (Faizullah et al. 2021), tak je nejmenší velikost buňky limitovaná velikostí genomu, znamená to tedy, že do malých buněk se "vejdou" pouze malé genomy, zatímco velké buňky mohou hostit jak genomy malé, tak i velké. Nejčastěji byla korelace mezi velikostí genomu a buněk studovaná na svěracích buňkách průduchů (Beaulieu et al. 2008). Protože velikost, šířka a hloubka průduchů zase ovlivňují rychlost fotosyntézy listů (Veselý et al. 2020). Také je známo, že menší genom souvisí s rychlejším dokončení buněčného cyklu, a tedy i rychlejším růstem rostlin, což se zdá být jako důležitá vlastnost invazních rostlin (Lučanová et al. 2010; Greilhuber & Leitch 2013). U geofytů jsou genomy naopak větší, díky zásobám živin, které jsou stále dostupné v zásobních orgánech rostliny, neboť přísun živin je důležitý pro syntézu DNA (Veselý et al. 2013). Jak už bylo dříve zmíněno velikost genomu souvisí i s geografickou distribucí a klimatem, bylo zjištěno, že rostliny s velkým rozšířením mají vždy malé genomy a nikdy velké, tak rostliny s malým rozšířením mohou mít jak velké tam malé genomy (Bureš et al. 2024). Malé genomy jsou také častější u rostlin rostoucích v tropických oblastech, kde to může být zapříčiněno, tím že jsou větší buňky energeticky náročnější (Bureš et al. 2024).

1.1.1 Mechanismy ovlivňující velikost genomu

K základním mechanismům genomové a karyotypové evoluce zodpovědným za jejich velikostní změny patří polyploidie (Soltis et al. 2015; Guignard et al. 2016; Clark & Donoghue 2018), která mění velikost genomu především na jemné fylogenetické škále – uvnitř rodů a čeledí. Na velké fylogenetické škále – napříč krytosemennými – se však její efekt vytrácí stejně jako korelace mezi počtem chromozomů a velikostí genomu (Roddy et al. 2020). Je to způsobeno procesy postpolyploidní diploidizace

(Mandáková et Lysák 2018) někdy nazývané také jako genomová frakcionace nebo jen rediploidizace. Je to tedy proces, při kterém se chromozomové počty vrací do diploidního stavu, poté co byly navýšeny vlivem polyploidie. Na jemné i hrubé fylogenetické škále tak hlavním mechanismem zodpovědným za velikost genomu je dynamika repeatomu, především LTR-retrotransposonů, která tvoří podílem nejvýznamnější složku rostlinných genomů (Bennetzen & Wang 2014; Wendel et al. 2016; Novák et al. 2020; Almojil et al. 2021; Boissinot 2022). Nedávná studie Nováka et al. 2020 však ukázala, že těsný téměř lineární vztah mezi proporcí repeatomu a velikostí genomu platí jen pro genomy menších a středních velikostí (do 1C = 10 Gbp), zatímco u větších genomů nad touto hranicí již proporce repeatomu není tak vysoká a tvoří např. u *Viscum album* (genomem největší druh české flóry - 14867 Gbp) jen asi 55 % (Novák et al. 2010).

1.2 AT/GC poměr bází

Nukleové kyseliny jsou tvořeny pyrimidinovými bázemi (cytosin, thymin a v případě RNA uracil) a purinovými bázemi (adenin a guanin), které se párují pomocí vodíkových vazeb, dvojnou pro A=T, A=U nebo trojnou pro G≡C. Díky trojné vazbě jsou GC páry teplotně stabilnější proti AT párům, udávají tak i vyšší vyšším strukturám DNA a RNA transkriptům (Šmarda & Bureš 2012), jsou však energeticky náročnější na tvorbu. Právě zvýšené požadavky na energii, se zdají být jako důvod proč je menší zastoupení GC bází u druhů s obrovskými genomy, alespoň mezi geofyty (Veselý et al. 2012).

Nejranější studie byly prováděny u prokaryot, kde se zjistilo, že obsah GC bází je ovlivňován přítomností nebo absencí některých chemických prvků (Bolhuis et al. 2006). U jednoděložných rostlin bylo objeveno, že vyšší zastoupení GC bází je adaptace na chladné a suché klima, případně na stres z vysychání (Šmarda et al. 2014). Celkově se nejvyšší obsah GC bází připisuje čeledi *Poaceae*, kde se zastoupení pohybuje od 43–50 % (Šmarda & Bureš 2012), naproti tomu jsou zástupci s holocentrickými chromozomy z čeledi *Cyperaceae*, kde se ukazuje, že je zastoupení GC bází nízké (Lipnerová et al. 2013; Šmarda et al. 2014).

1.3 Cíle práce

1) Doplnit genomická data (velikost genomu a genomový poměr bází) zejména u tropických a subtropických zástupců řádů *Lamiales*, *Ericales* a *Caryophyllales*.
2) Nově naměřená data integrovat s údaji pro velikosti genomu a GC obsahu (popř. počty chromozomů) excerpovanými z dostupné literatury a databází.
3) Pomocí dostupné fylogeneze rekonstruovat evoluci velikosti genomu a GC obsahu v rámci těchto zmíněných řádů.
4) Znovu otestovat v minulosti analyzovaný možný vztah mezi velikostí genomu a nezávislým vznikem karnivorie v těchto řádech.
5) Prozkoumat vztah mezi délkou průduchových buněk a genomickými parametry.

2 Materiál a metodika

2.1 Materiál

Rostliny měřené v této bakalářské práci byly získány v letech 2023 až 2024. Jelikož se jedná hlavně o tropické a subtropické druhy, tak jejich odběr proběhl v botanické zahradě Praze. Celkem bylo na cytometru analyzováno 97 taxonů (Tab. 1) a velikost průduchů byla naměřena u 83 z nich. Měřené taxony, byly z těchto čeledí: *Acanthaceae*, *Pedaliaceae*, *Gesneriaceae*, *Lamiaceae*, *Oleaceae*, *Orobanchaceae*, *Plantaginaceae*, *Bignoniaceae*, *Stilbaceae*, *Lecythidaceae*, *Ericaceae*, *Actinidaceae*, *Sapotaceae*, *Didieraceae*, *Petiveraceae*, *Verbenaceae* a jeden zástupce z čeledi *Stenomuriaceae* z řádu *Aquifoliales*. Z každé rostliny bylo odebráno několik listů případně i stonek nebo květ, tak jak to bylo možné, aby rostlina v kultivaci přežila, neboť se jednalo o odběr materiálu z botanické zahrady. U rostlin, kde bylo možné odebrat dostatek listů, byl jeden list navíc použit pro otisky stomat pomocí mikroreliéfové metody. Dále byly pořízeny fotografie těchto rostlin přímo v botanické zahradě (Elektronická příloha A).

2.2 Průtoková cytometrie

Průtoková cytometrie je jedna z možností, jak zjistit velikost genomu, ačkoliv byla původně využívána hlavně v lékařství pro počítání lymfocytů. Dnes však pronikla do řady jiných odvětví vědy, od buněčné biologie přes genetiku až k molekulární biologii a dalším.

Principem průtokové cytometrie je měřit fyzikální a chemické vlastnosti (velikost buněk, složení DNA, exprese proteinů, aj.) buněk, buněčných jader nebo jakýchkoli jiných částic srovnatelných rozměrů, které jsou v kapalině unášeny a následně analyzovány specifickým zdrojem záření (nejčastěji laserovým paprskem). Tyto unášené částice se vlivem vysoké rychlosti unášecí kapaliny řadí lineárně za sebe tak, že jedna za druhou jednotlivě procházejí analyzačním paprskem zdroje záření. Tlak vzorku má zde velký vliv na to, jak výsledný naměřený peak bude vypadat, obecně platí, že při příliš vysokém tlaku a vyšší rychlosti proudění jsou peaky širší, a tím mají

menší výpovědní hodnotu, nízký tlak vzorku naopak učiní peaky užšími, čímž zvýší míru jejich interpretovatelnosti.

Oproti klasickým karyologickým metodám vycházejícím z počítání chromozomů nabízí průtoková cytometrie řadu výhod, mezi něž patří zejména vysoká rychlost analýzy, umožňující získat výsledky během několika minut, ale také možnost využít současnou analýzu více parametrů na jedné buňce nebo částici. Naopak hlavní překážkou pro práci s touto metodou je její vyšší pořizovací cena samotného cytometru. Tím, že po roce 2000 začaly být komerčně dostupné cytometry, specializované na stanovení velikosti genomu, klesla jejich cena na úroveň řádu jednotek milionů korun. Z těchto důvodů je v posledních dvou dekádách stala průtoková cytometrie často používanou metodou v rostlinné biologii.

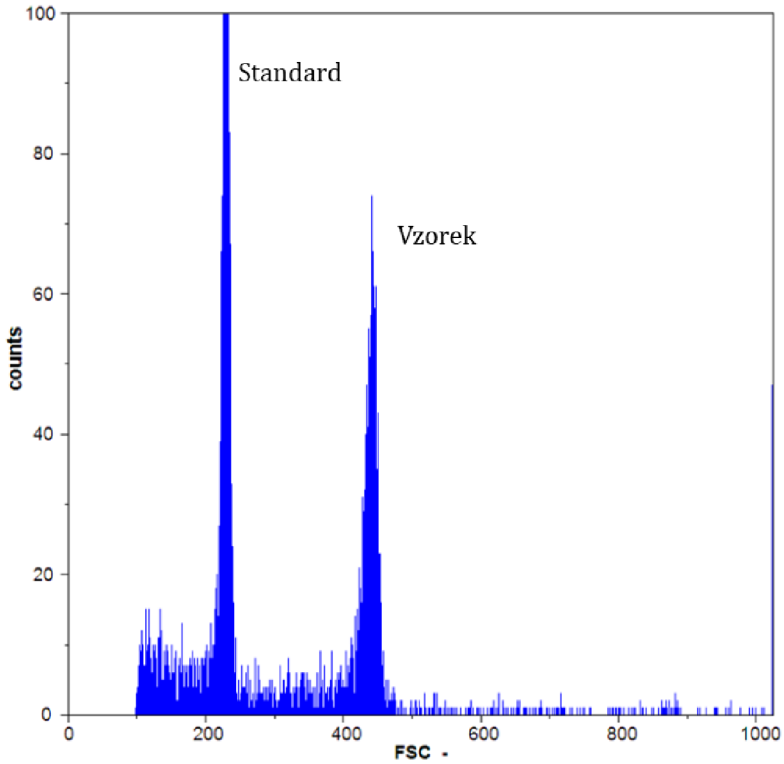
2.2.1 Měření materiálu

Veškerá měření na cytometru pro tuto bakalářskou práci proběhla v Laboratoři průtokové cytometrie na Ústavu botaniky a zoologie v Brně Bohunicích. Pro měření byly využity dva cytometry Cyflow ML od firmy Partec. Pro zjištění absolutní velikosti genomu bylo použit interkalární fluorochrom propidium jodid a pro zjištění poměru obsahu bází bylo v kombinaci s ním použito také barvivo DAPI, které se specificky váže na báze AT.

Použité standardy při měření byly: *Bellis perennis*, *Pisum sativum*, *Solanum lycopersicum*, *Carex acutiformis*, *Glycine max*, *Vicia faba*. Jaký standard bude vybrán k příslušnému vzorku se určilo tak, aby hodnoty vzorku vůči standardu nebyly větší než dvojnásobné, popř. menší než polovina, a aby naměřené peaky neinterferovaly.

Kousek listové čepele (občas také květu, stonku nebo řapíku) vzorku o velikosti přibližně 0,5 cm2 byl nasekán žiletkou v Petriho misce s asi dvakrát tak velkým kouskem listu standardu a bylo k nim přidáno 2 ml pufru Otto I (Otto 1990), případně jiného pufru (HCl+2% triton; 0,5ml OTTO I : 0,1M HCl 1 : 1 3 kapky Tweeen 20 na 2ml pufru; 0,1M HCL+Tween; HCl+4% triton), pokud fluorescenční signál nebyl dostatečně silný vlivem např. sekundárních metabolitů aj. Vzniklá suspenze byla dále přefiltrována přes 50 µm filtr a rozdělena přibližně stejným dílem do dvou kyvet. Do jedné z těchto kyvet bylo přidáno 0,8 ml fluorescenčního barviva DAPI – 4',6-diamidino-2-fenylindol (2 µg/ml) pro změření relativního zastoupení AT bází vůči standardu a do druhé kyvety bylo přidáno barvivo propidium jodid (50 µg/ml) pro změření absolutní velikosti genomu.

Takto připravené vzorky byly změřeny na dvojicích cytometrů zároveň. Počet měřených částic byl nastaven na 5000 na vzorek, avšak pokud této hodnoty nedosáhly, ale peaky byly dostatečně rozeznatelné, tak byla do tabulky zapsána i tato měření. Vzorky byly měřeny ve třech opakováních případně i více, tak aby se koeficient variance, počítaný ze všech výsledných poměrů vzorek/standard, dostal pod hodnotu 2. Koeficient variance je směrodatná odchylka standardizovaná na průměr, která se využívá také jako parametr přesnosti jednotlivých měření, ve kterých se jeho větší hodnoty projeví na obrazovce větší šířkou histogramů (fluorescenčních peaků). Ukázka, jak mohu vypadat histogramy dvou měřených rostlin v tomto případě se jedná o rostliny *Thunbergia mysorensis* (vzorek) a standard *Bellis perennis* (obr. 1).



Obr. 1: Dvojice histogramů vzorku a standardu měřené na cytometru.

2.2.2 Výpočet velikosti genomu, chromozomů a AT/GC poměru bází

Pro výpočet velikosti genomu byla použita průměrná hodnota poměru vzorek/standard ze tří nebo více nezávislých měření, která byla vynásobena velikostí genomu standardu použitého při měření vzorku. Na výpočet poměru AT/GC bází byla použit kalkulátor v MS Excelu vytvořený Petrem Šmardou (Šmarda et al. 2008), která

vychází z práce Barrow & Meister (2002), obsah GC bází byl vypočítán z průměrného poměru vzorek/standard (ze tří nebo více měření) pomocí DAPI děleného průměrným poměrem vzorek/standard (ze tří nebo více měření) pomocí propidium jodidu (= DF DAPI faktoru) a nebyl proto průměrován.

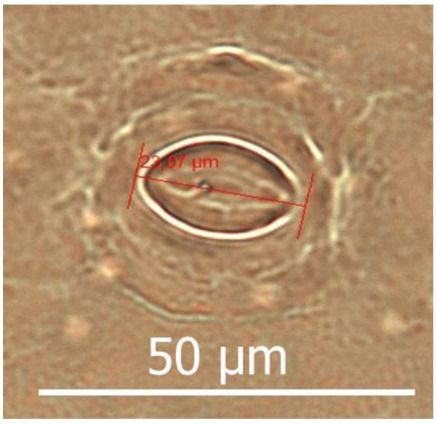
Údaje o počtu chromozomů byly excerpovány z databáze CCDB (Rice et al. 2015). V případě absence údajů pro některé taxony bylo do Tabulky 1 dosazeno NA. Pro výpočet průměrné velikosti chromozomu byl použit vzorec: 2C/2n, kde 2C je velikost genomu v Mbp a 2n je diploidní počet chromozomů.

2.3 Měření délky průduchových buněk

Měření velikosti průduchů proběhlo v Karyologické laboratoři, taktéž na Ústavu botaniky a zoologie v Brně Bohunicích. K měření byla použita mikroreliéfová metoda, která je standardně používaná pro mikroskopické analýzy otisků struktur na povrchu listu, tedy pro případ této práce svěracích buněk průduchů. Tato technika je využívána pro svou finanční úspornost, jednoduchost a rychlost provedení.

Průduchy se u krytosemenných rostlin nacházejí buď na obou stranách listů nebo pouze na straně spodní (abaxiální) - typicky u stromů. Pro své analýzy jsem využíval měření průduchů z abaxiální strany.

Abaxiální strana listu byla natřena bezbarvým lakem na nehty, který se nechal 30 až 40 minut zaschnout. Po dokonalém zaschnutí byla na nalakované místo listu přitlačena lepící páska a zaschlý lak byl s její pomocí strhnut. Takovýto otisk byl přenesen na podložní sklíčko, kde byla měřena délka průduchů (Obr. 2) pod mikroskopem Olympus BX-51 a za pomocí počítačového programu Cell^F. U každého vzorku bylo měřeno 50 průduchů a z naměřených hodnot byl vytvořen průměr a směrodatná odchylka.



Obr. 2: Ukázka změřeného průduchu rostliny *Cavendishia callista* (*Ericaceae*)

2.4 Vytvoření fylogenetického stromu

Příbuzné druhy se často podobají ve znacích a vlastnostech, a proto s nimi nejde pracovat jako s nezávislými proměnnými, právě proto je potřeba použít fylogenetickou korekci, pro kterou je třeba mít k dispozici fylogenetický strom, jehož pomocí fylogenetickou závislost v analýze odstraníme. Fylogenetický strom byl vytvořen přes webovou aplikaci dostupné na adrese: https://www.timetree.org/ (Kumar et al. 2022), případné dodatečné úpravy byly provedeny v programu MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11 (Tamura et al. 2021).

2.5 Statistické zpracování dat

Statistické zpracování dat bylo uskutečněno v programu RStudio (Posit team 2022), za pomocí balíčků caper (Orme 2013), phylolm (Ho LST, Ane C 2014), phytools (Revell L 2024).

Pro analýzu vztahu masožravosti a velikosti genomu, bylo potřeba doplnit data naměřená v této práci o data masožravých i nemasožravých rostlin z již zmíněných tří řádů z práce Adama Veleby (2020). Pro zjištění vztahu GC obsahu s velikostí genomu a délkou průduchů s velikostí genomu, nebyly použity žádná jiná měření než ta, která byla provedena v této práci. Jako statistický nástroj byla použita fylogeneticky korigovaná regrese.

Příslušné grafy byly vytvořeny také v RStudiu a v programu Microsoft Excel byly zpracovávány tabulky.

3 Výsledky

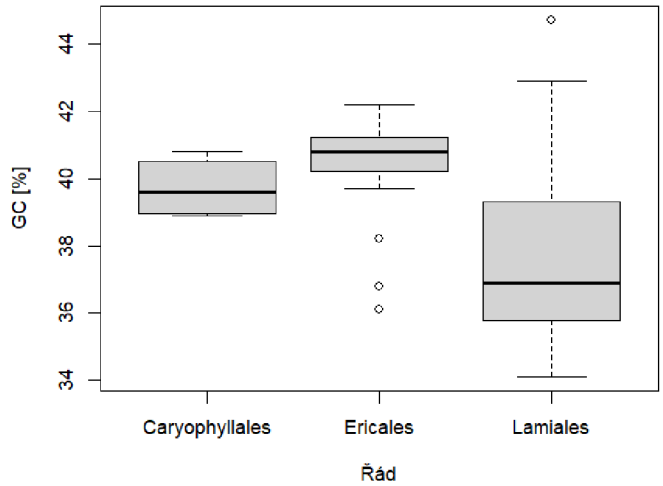
Velikost genomu a zastoupení AT/GC bází bylo stanoveno u 97 taxonů a délka svěracích buněk byla naměřena u 83 z nich. K naměřeným hodnotám byla dopočítána směrodatná odchylka a byly doplněny dostupné údaje z databáze CCDB o počtu chromozomů, ze kterých byla spočítána průměrná velikost chromozomu (Tab. 1).

Nejmenší genom byl zjištěn u rostliny *Uroskinnera spectabilis* (2C = 484 Mbp) z čeledi *Plantaginaceae* a největší u rostliny *Alluaudia montagnacii* (2C = 14656 Mbp) z čeledi *Didiereaceae*. Nejnižší procentuální obsah GC bází byl naměřen u *Nautilocalyx adenosiphon* (*Gesneriaceae*) 34,1 % a nejvyšší u *Aeginetia indica* 44,7 % (*Orobanchaceae*). Počet chromozomů se podařilo dohledat pro 64 taxonů, následně dopočítaná průměrná velikost chromozomu byla nejmenší u *Tetradenia riparia* (*Lamiaceae*) 21,74 Mbp a největší u *Littorella uniflora* (*Plantaginaceae*) 463,34 Mb. Poslední sloupec tabulky (Tab. 1) je věnován délce svěracích buněk průduchů u nichž nejmenší naměřená hodnota byla u rostliny *Synsepalum dulcificum* (*Sapotaceae*) s 12 µm a největší u *Monophyllaea horsfieldii* (*Gesneriaceae*) s 55,7 µm.

Celá řada rostlin obsahovala sekundární metabolity, což samozřejmě znamenalo náročnější přípravu vzorku na měření a zvyšovalo CV, proto některé druhy musely být dopočítány z dvou měření nebo s CV o něco málo vyšším než 2 %.

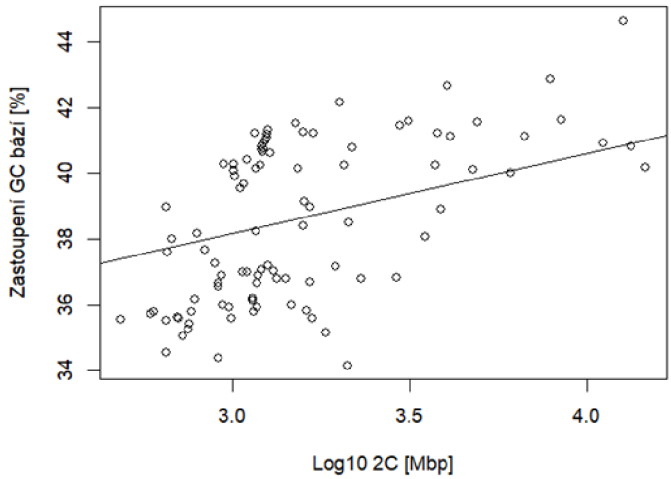
3.1 Velikost genomu ve vztahu k obsahu GC bází

Rozdíly v zastoupení GC bází lze vidět v grafu (Obr. 4). V řádu *Lamiales* byla nejnižší hodnota zjištěna u *Nautilocalyx adenosiphon* (*Gesneriaceae*) 34,1 % a nejvyšší u *Aeginetia indica* (*Orobanchaceae*) s 44,7 %, řád *Ericales* měl nejnižší hodnotu u *Synsepalum dulcificum* (*Sapotaceae*) s 36,1 %, nejvyšší u *Cavendishia bracteata* (*Ericaceae*) s 42,2 % a u řádu *Caryophyllales* byla nejnižší hodnota *Rivina humilis* (*Petiveriaceae*) s 38,9 %, naopak nejvyšší u *Alluaudia procera* (*Didiereaceae*) s 40,8 %. Průměrné hodnoty zastoupení GC bází pak byly: *Lamiales* 37,6 %, *Ericales* 40,4 % a *Caryophyllales* 39,7 %. Počet měřených druhů se v rámci řádů lišil, pro řád *Lamiales* bylo nameřeno 63 taxonů, pro *Ericales* 29 taxonů a pro *Caryophyllales* 4 taxony.



Obr. 3: Graf znázorňující zastoupení GC bází v jednotlivých řádech

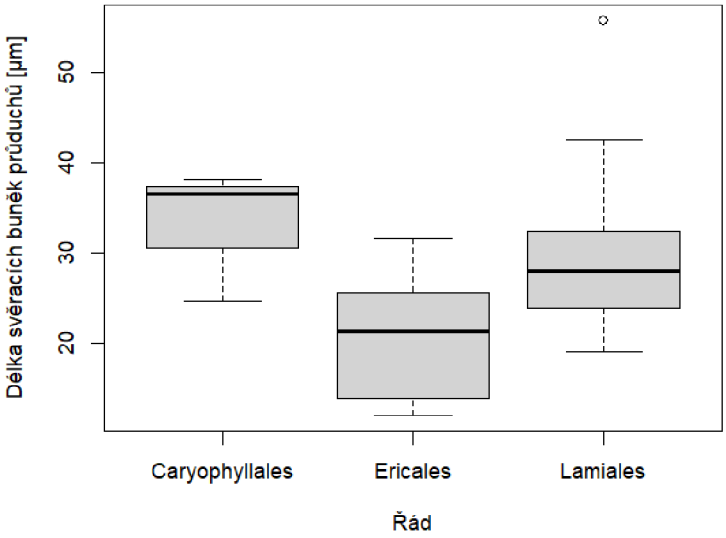
Vztah velikosti genomu se zastoupením GC bází byl zde testován s daty všech tří řádů najednou. Za použitý fylogeneticky korigované regrese vyšel testovaný vztah jako průkazný (PGLS; F54 = 15,85; R2 = 0,2269; p = 0,0002064). V grafu (Obr. 4) lze pozorovat, že s velikostí genomu se dá předpovídat zastoupení GC bází, tedy čím větší genom tím více GC bází.



Obr. 4: Velikost genomu ve vztahu k zastoupení GC bází s regresní přímkou z PGLS modelu

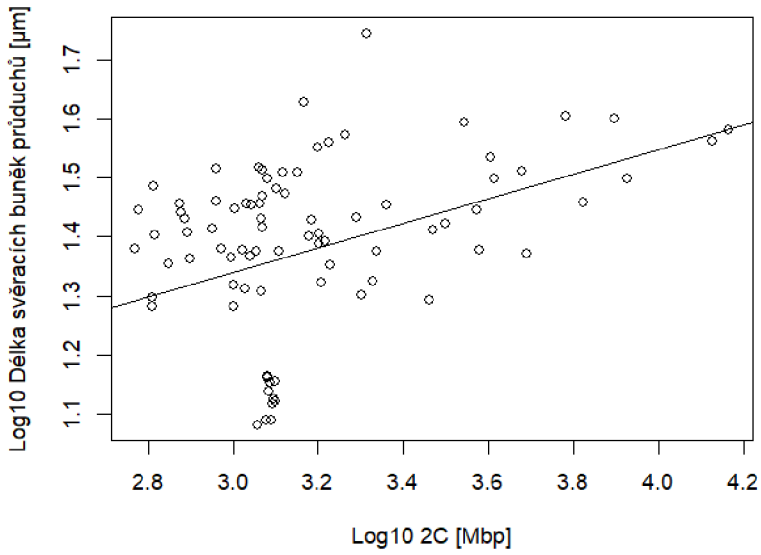
3.2 Velikost genomu ve vztahu k délce svěracích buněk průduchů

V grafu (Obr. 5) lze vidět rozpětí délek svěracích buněk studovaných řádů. Nejmenší průduchy v řádu *Lamiales* byly naměřeny u *Uncarina decaryi* (*Pedaliaceae*) s 19,1 µm a největší *Monophyllaea horsfieldii* (*Gesneriaceae*) 55,7 µm, v řádu *Ericales* byly nejmenší průduchy u rostliny *Synsepalum dulcificum* (*Sapotaceae*) 12 µm, největší *Macleania cordifolia* (*Ericaceae*) 31,6 µm a pro řád *Caryophyllales* byly nejmenší průduchy viděny u *Petiveria alliacea* (*Petiveriaceae*) 24,7 µm a největší *Alluaudia montagnacii* (*Didiereaceae*) 38,2 µm. Průměrná hodnota byla 29 µm u řádu *Lamiales*, 20,5 µm pro *Ericales* a pro *Caryophyllales* 33,1 µm. U každého z řádů byl opět rozdílný počet měřených taxonů pro *Lamiales* 51, *Ericales* 28, *Caryophyllales* 3.



Obr. 5: Graf znázorňující délku svěracích buněk průduchů v jednotlivých řádech

Za pomocí PGLS byl testován vztah velikosti genomu a délce svěracích buněk průduchů, který se ukázal statisticky průkazný (PGLS; F46 = 17,98; R2 = 0,281; p = 0,0001065). Graf (Obr. 6) zobrazuje regresní přímku, která stoupá, což naznačuje pozitivní korelaci mezi velikostí genomu a délkou svěracích buněk průduchů. Body kolem této přímky pak ilustrují individuální pozorované hodnoty, přičemž je patrné, že s rostoucí velikostí genomu dochází k nárůstu délky svěracích buněk průduchů.

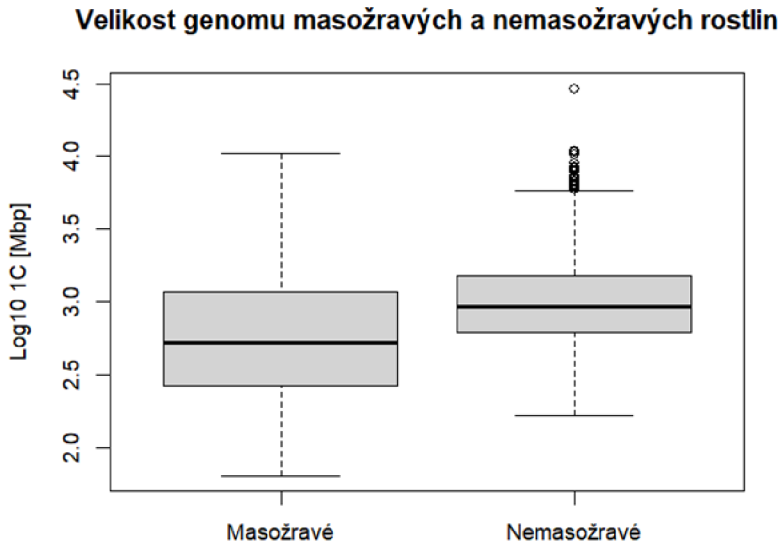


Obr. 6: Velikost genomu ve vztahu k délce svěracích buněk průduchů s regresní přímkou z PGLS modelu

3.3 Karnivorie ve vztahu k velikosti genomu

Ačkoliv se z grafu (Obr. 7) může zdát, že masožravé rostliny mají menší genomy, tak testovaný vliv karnivorie na velikost genomu nebyl jednoznačně prokázán, ale ukázal se jako marginálně signifikantní (PGLS; F644 = 3,717; R2 = 0,005738; p = 0,05431). Byl zde taktéž zjištěn silný fylogenetický signál (λ = 0,9237725), což naznačuje, že příbuzné druhy mají tendenci být si velikostí genomu podobné.

Celkově tedy toto zjištění naznačuje, že i když existuje trend k menším genomům u masožravých rostlin, samotná karnivorie nemusí být hlavním faktorem ovlivňujícím velikost genomu.



Obr. 7: Porovnání velikostí genomu masožravých a nemasožravých rostlin

Tabulka 1: Velikost genomu, obsah GC bází, počet chromozomů a délka průduchů pro 97 taxonů naměřených v této práci. Použité standardy: B = *Bellis perennis*, C = *Carex acutiformis*, G = *Glycine max*, S = *Solanum lycopersicum*, P = *Pisum sativum*, V = *Vicia faba*

Taxon	Čeleď	Standard	2C ± S.D. [Mbp]	GC [%]	Počet chromozomů 2n	Velikost chromozomu [Mbp]	Délka průduchů ± S.D. [µm]
Aeginetia indica	*Orobanchaceae*	P	12649 ± 31	44,7	30	421,62	NA
Aegiphila bogotensis	*Lamiaceae*	B	1617 ± 13	35,8	NA	NA	21 ± 2,7
Achimenes admirabilis	*Gesneriaceae*	C	601 ± 5	35,8	NA	NA	28 ± 4,2
Achimenes antirrhina	*Gesneriaceae*	S	722 ± 19	35,1	22	32,81	NA
Achimenes candida	*Gesneriaceae*	S	781 ± 6	36,2	22	35,48	25,5 ± 3,1
Achimenes flava	*Gesneriaceae*	S	751 ± 18	35,2	22	34,13	28,6 ± 3,1
Achimenes mexicana	*Gesneriaceae*	S	757 ± 9	35,4	22	34,39	27,6 ± 3,4
Achimenes mexicana 'Caerulea'	*Gesneriaceae*	S	768 ± 6	35,8	22	34,89	27 ± 3,3
Achimenes misera	*Gesneriaceae*	C	587 ± 6	35,7	22	26,69	24 ± 3,1
Achimenes patens f. *major*	*Gesneriaceae*	S	1148 ± 18	35,8	22	52,16	33 ± 3
Achimenes pedunculata	*Gesneriaceae*	S	1176 ± 9	36,9	34	34,59	32,6 ± 4,7
Alluaudia montagnacii	*Didiereaceae*	V	14656 ± 47	40,2	192	76,33	38,2 ± 3,2
Alluaudia procera	*Didiereaceae*	P	13377 ± 40	40,8	240	55,74	36,5 ± 2,7
Alsobia dianthiflora	*Gesneriaceae*	S	649 ± 11	35,5	NA	NA	30,7 ± 2,8
Aphelandra aurantiaca	*Acanthaceae*	S	4030 ± 69	42,7	28	143,94	34,2 ± 3,2
Arbutus andrachne	*Ericaceae*	B	1013 ± 12	39,9	26	38,97	28 ± 2,4
Arbutus unedo	*Ericaceae*	B	1077 ± 15	39,7	26	41,41	28,6 ± 3,1
Arbutus unedo 'Compacta'	*Ericaceae*	S	1101 ± 6	40,4	26	42,35	28,4 ± 2,9
Arctous alpina	*Ericaceae*	B	1157 ± 12	41,2	26	44,49	28,6 ± 4,1
Barleria albostellata	*Acanthaceae*	B	8454 ± 106	41,6	NA	NA	31,5 ± 2,4

Taxon	Čeleď	Standard	2C ± S.D. [Mbp]	GC [%]	Počet chromozomů 2n	Velikost chromozomu [Mbp]	Délka průduchů ± S.D. [µm]
Barleria alluaudii	*Acanthaceae*	B	7878 ± 75	42,9	NA	NA	39,8 ± 4,2
Cavendishia allenii	*Ericaceae*	B	1510 ± 20	41,5	NA	NA	25,1 ± 2,1
Cavendishia bracteata	*Ericaceae*	B	2010 ± 9	42,2	48	41,88	20 ± 1,6
Cavendishia callista	*Ericaceae*	B	1688 ± 17	41,2	NA	NA	22,5 ± 1,9
Ceratostema callistum	*Ericaceae*	B	1589 ± 20	41,3	NA	NA	25,4 ± 2
Columnea arguta	*Gesneriaceae*	C	1329 ± 9	36,8	18	73,84	29,7 ± 2,5
Columnea glabra	*Gesneriaceae*	C	1309 ± 3	37,0	18	72,73	32,3 ± 3,1
Columnea hirta var. *mortonii*	*Gesneriaceae*	B	1466 ± 5	36,0	18	81,45	42,6 ± 4,9
Columnea linearis	*Gesneriaceae*	C	1171 ± 10	36,6	18	65,07	26 ± 3,1
Columnea microphylla	*Gesneriaceae*	C	1417 ± 6	36,8	18	78,74	32,2 ± 2,9
Columnea rubricaulis	*Gesneriaceae*	S	1205 ± 17	37,1	18	66,97	31,6 ± 3,7
Columnea schiedeana	*Gesneriaceae*	S	1263 ± 9	37,2	18	70,14	30,3 ± 4,4
Couroupita guianensis	*Lecythidaceae*	S	794 ± 2	38,2	36	22,05	23,1 ± 2,1
Drymonia serrulata	*Gesneriaceae*	S	1173 ± 4	35,9	18	65,17	29,4 ± 4
Drymonia strigosa	*Gesneriaceae*	S	892 ± 11	37,2	NA	NA	25,9 ± 2,4
Episcia lilacina	*Gesneriaceae*	B	1679 ± 14	35,6	NA	NA	36,3 ± 5,4
Fittonia albivenis	*Acanthaceae*	B	2170 ± 12	40,8	36	60,29	23,7 ± 2,5
Fittonia gigantea	*Acanthaceae*	P	3149 ± 36	41,6	36	87,48	26,4 ± 2,7
Gesneria reticulata	*Gesneriaceae*	S	836 ± 21	37,7	NA	NA	NA
Grias peruviana	*Lecythidaceae*	S	1163 ± 4	38,2	NA	NA	20,3 ± 1,6
Halleria lucida	*Stilbaceae*	C	647 ± 2	39,0	NA	NA	19,2 ± 2,1
Chamaedaphne calyculata	*Ericaceae*	B	942 ± 2	40,3	22	42,82	NA
Chionanthus virginicus	*Oleaceae*	B	2134 ± 32	38,5	46	46,39	21,1 ± 2,2

Taxon	Čeleď	Standard	2C ± S.D. [Mbp]	GC [%]	Počet chromozomů 2n	Velikost chromozomu [Mbp]	Délka průduchů ± S.D. [µm]
Irvingbaileya australis	*Stemonuraceae*	B	1596 ± 16	39,1	NA	NA	24,5 ± 2
Kohleria amabilis var. *bogotensis*	*Gesneriaceae*	C	1651 ± 16	36,7	NA	NA	NA
Kohleria hirsuta var. *hirsuta*	*Gesneriaceae*	S	936 ± 3	36,0	26	35,99	24 ± 3,5
Kohleria spicata	*Gesneriaceae*	S	930 ± 5	36,9	26	35,76	NA
Kohleria villosa	*Gesneriaceae*	S	979 ± 16	35,9	NA	NA	NA
Kohleria warszewiczii	*Gesneriaceae*	S	914 ± 9	36,5	NA	NA	NA
Littorella uniflora	*Plantaginaceae*	P	11120 ± 55	40,9	24	463,34	NA
Macleania alata	*Ericaceae*	S	1277 ± 8	40,6	NA	NA	23,7 ± 1,9
Macleania coccoloboides	*Ericaceae*	P	2960 ± 21	41,5	NA	NA	25,8 ± 1,3
Macleania cordifolia	*Ericaceae*	G	4115 ± 17	41,1	NA	NA	31,6 ± 2,1
Macleania insignis	*Ericaceae*	B	4903 ± 91	41,5	NA	NA	23,5 ± 1,8
Manilkara zapota	*Sapotaceae*	C	2892 ± 36	36,8	26	111,24	19,6 ± 3,1
Monophyllaea horsfieldii	*Gesneriaceae*	B	2064 ± 19	40,2	20	103,22	55,7 ± 7,2
Nautilocalyx adenosiphon	*Gesneriaceae*	S	2111 ± 21	34,1	NA	NA	NA
Nautilocalyx forgetii	*Gesneriaceae*	S	912 ± 5	34,4	18	50,67	32,8 ± 2,2
Nautilocalyx lynchii	*Gesneriaceae*	P	1830 ± 25	35,1	34	53,81	37,5 ± 2,9
Nematanthus australis	*Gesneriaceae*	S	991 ± 8	35,6	NA	NA	23,2 ± 2,2
Nematanthus wettsteinii	*Gesneriaceae*	S	1136 ± 9	36,2	16	71,03	23,7 ± 2
Oxera sulfurea	*Lamiaceae*	B	1068 ± 7	37,0	NA	NA	20,5 ± 2
Petiveria alliacea	*Petiveriaceae*	B	1651 ± 10	39,0	36	45,87	24,7 ± 2,1
Petrea volubilis	*Verbenaceae*	B	1951 ± 12	37,2	34	57,37	27,1 ± 3,2
Pieris japonica 'Bisbee'	*Ericaceae*	S	1257 ± 19	41,3	24	52,37	13,2 ± 1,1
Pieris japonica 'Cupido'	*Ericaceae*	S	1194 ± 17	40,2	24	49,76	12,3 ± 1,1
Pieris japonica 'Debutante'	*Ericaceae*	S	1227 ± 12	40,9	24	51,13	12,3 ± 1,1

Taxon	Čeleď	Standard	2C ± S.D. [Mbp]	GC [%]	Počet chromozomů 2n	Velikost chromozomu [Mbp]	Délka průduchů ± S.D. [µm]
Pieris japonica 'Fuga'	*Ericaceae*	S	1225 ± 19	40,7	24	51,02	14,2 ± 1,3
Pieris japonica 'Chaconne'	*Ericaceae*	S	1250 ± 14	41,1	24	52,08	13,3 ± 0,9
Pieris japonica 'Nocturne'	*Ericaceae*	S	1215 ± 15	40,6	24	50,64	13,7 ± 1,3
Pieris japonica 'Passion'	*Ericaceae*	S	1242 ± 16	41,0	24	51,77	13,1 ± 1,4
Pieris japonica 'Sarabande'	*Ericaceae*	S	1207 ± 13	40,7	24	50,31	14,6 ± 1,3
Pieris japonica 'Sinfonia'	*Ericaceae*	S	1253 ± 5	41,2	24	52,20	14,3 ± 1,2
Pieris japonica 'Valley Rose'	*Ericaceae*	S	1202 ± 19	40,8	24	50,09	14,5 ± 1,6
Pyrostegia venusta	*Bignoniaceae*	B	2300 ± 22	36,8	60	38,33	28,4 ± 3,4
Rhytidophyllum leucomallon	*Gesneriaceae*	S	675 ± 10	38,0	NA	NA	NA
Rivina humilis	*Petiveriaceae*	G	3868 ± 62	38,9	108	35,81	NA
Russelia equisetiformis	*Plantaginaceae*	S	700 ± 3	35,6	20	35,02	NA
Saurauia napaulensis	*Actinidiaceae*	B	3736 ± 39	40,2	NA	NA	28 ± 3,1
Seemannia gymnostoma	*Gesneriaceae*	S	703 ± 4	35,6	NA	NA	22,7 ± 1,5
Seemannia sylvatica	*Gesneriaceae*	C	647 ± 1	34,5	26	24,90	19,9 ± 3,1
Sphyrospermum ellipticum	*Ericaceae*	B	3792 ± 42	41,2	NA	NA	23,9 ± 2,1
Synsepalum dulcificum	*Sapotaceae*	B	1141 ± 10	36,1	26	43,87	12 ± 1,3
Tecomanthe dendrophila	*Bignoniaceae*	S	1097 ± 16	37,0	NA	NA	23,2 ± 2,1
Tetradenia riparia	*Lamiaceae*	C	652 ± 9	37,6	30	21,74	25,4 ± 3,6
Tetranema roseum	*Plantaginaceae*	S	913 ± 1	36,6	20	45,63	28,9 ± 2,4
Thunbergia battiscombei	*Acanthaceae*	B	1581 ± 22	38,4	32	49,40	35,7 ± 2,7
Thunbergia grandiflora	*Acanthaceae*	B	4763 ± 15	40,1	56	85,05	32,5 ± 3,3
Thunbergia laurifolia	*Acanthaceae*	B	6665 ± 96	41,1	56	119,01	28,8 ± 4,1
Thunbergia mysorensis	*Acanthaceae*	B	6070 ± 55	40,0	28	216,77	40,3 ± 5,5

Taxon	Čeleď	Standard	2C ± S.D. [Mbp]	GC [%]	Počet chromozomů 2n	Velikost chromozomu [Mbp]	Délka průduchů ± S.D. [µm]
Titanotrichum oldhamii	*Gesneriaceae*	G	3493 ± 26	38,1	40	87,31	39,2 ± 3,8
Uncarina decaryi	*Pedaliaceae*	S	1006 ± 14	40,1	NA	NA	19,1 ± 1,9
Uncarina grandidieri	*Pedaliaceae*	S	1005 ± 5	40,3	36	27,93	20,8 ± 3,6
Uncarina leptocarpa	*Pedaliaceae*	S	1053 ± 12	39,6	NA	NA	23,8 ± 3
Uncarina perrieri	*Pedaliaceae*	S	1165 ± 13	40,1	NA	NA	26,9 ± 2,1
Uroskinnera spectabilis	*Plantaginaceae*	C	484 ± 4	35,5	NA	NA	NA
Whitfieldia elongata	*Acanthaceae*	B	1528 ± 10	40,1	34	44,94	26,8 ± 2,5

4 Diskuse

Tato práce přinesla nová data o velikosti genomu a obsahu GC bází pro řadu rodů, které v tomto ohledu nebyly nikdy dříve studovány (Tab. 2), a dokonce se podařilo změřit některé zástupce i z čeledí *Petiveriaceae* a *Stemonuraceae* (řád *Aquifoliales*, proto byl tento zástupce z testu vztahu karnivorie vyřazen, ale v práci je ponechán pro nové genomické údaje), u kterých nebyly dosud publikovány žádné genomické informace jejich zástupců.

Většina zjištěných genomů byla menší velikosti, nejčastěji spadaly do kategorie "very small" (C-values ≤1.4 pg), "small" (>1.4 to ≤3.5 pg), případně "intermediate" (>3.5 to <14.0 pg) (Bennet & Leitch 2005), což je v souladu s myšlenkou, že rostliny s menší velikosti genomu se častěji vyskytují v tropických oblastech (Bureš et al. 2024).

Tab. 2: Seznam analyzovaných rodů, které nebyly předtím měřeny na cytometru, čísla v závorce jsou počet akceptovaných druhů + počet hybridů, počty jsou získané z www.worldplants.de

Aeginetia (8)	*Couroupita* (3)	*Manilkara* (75)	*Seemannia* (4)
Aegiphila (132)	*Drymonia* (82)	*Monophyllaea* (38)	*Sphyrospermum* (30)
Achimenes (26)	*Episcia* (9)	*Nautilocalyx* (41)	*Synsepalum* (39)
Alluaudia (6)	*Fittonia* (2)	*Nematanthus* (32)	*Tecomanthe* (6)
Alsobia (6)	*Gesneria* (57+1)	*Oxera* (23)	*Tetradenia* (20)
Aphelandra (203)	*Grias* (14)	*Petiveria* (1)	*Tetranema* (5)
Arbutus (11+2)	*Halleria* (5)	*Petrea* (12)	*Thunbergia* (146)
Arctous (3)	*Chamaedaphne* (1)	*Pyrostegia* (2)	*Titanotrichum* (1)
Barleria (289)	*Chionanthus* (140)	*Rhytidophyllum* (25+1)	*Uncarina* (14)
Cavendishia (114)	*Irvingbaileya* (1)	*Rivina* (1)	*Uroskinnera* (4)

Ceratostema (36)	*Kohleria* (24)	*Russelia* (43)	*Whitfieldia* (13)
Columnea(8)	*Macleania*(8)	*Saurauia*(418)	

Zjištěný pozitivní vztah mezi velikostí genomu a délkou svěracích buněk je v souladu s dřívějšími studiemi (Beaulieu et al. 2008; Hodgson et al. 2010; Veselý et al. 2012). Z tohoto trendu se poněkud vymyká skupina bodů v grafu (Obr. 6) pod hodnotou 1,2 µm log10 délky svěracích buněk průduchů, které jsou si v obou analyzovaných parametrech velmi podobné. Ve skutečnosti jde ve všech případech o měření druhu *Pieris japonica*, přesněji řečeno jeho deseti různých kultivarů. Při testování hypotézy byly samozřejmě tyto hodnoty odstraněny použitím fylogenetické korekce, v grafu však zůstaly ponechány.

4.1 Karnivorie a velikost genomu

Již dříve analyzovaný vztah karnovorie a velikosti genomu testovaný v práci Veleba et al. (2020) se ani v této práci jednoznačně neprokázal, nicméně se ukázal jako marginálně signifikantní (p = 0,05431). Ovšem to je při použití PGLS, pokud bychom použili lineární regresi bez fylogenetické korekce, tak vztah by nám vyšel jako průkazný (OLS; F1206 = 62,05; R2 = 0,04894; p = 7,41-15), což samozřejmě není správně opomenout podobnost příbuzných druhů.

Pro budoucí studie by bylo dobré doplnit údaje nejen masožravých druhů, ale i jejich příbuzných nemasožravých druhů, což by mohlo pomoci objasnit testovaný vztah. Ovšem je zde také možnost, že negativní vliv nedostatku živin na velikost genomu, obzvláště dusíku (Hanson et al. 2001; Leitch & Leitch 2008; Guignard et al. 2017), může být vyvážen právě masožravostí, která dusík pro rostlinu získá a tím kompenzuje jeho nedostatek, na stanovišti, kde se masožravé druhy vyskytují. V tomto směru by bylo proto vhodné analyzovat, zda nemasožravé druhy vázané na stejné typy stanovišť jako druhy masožravé, mají oproti svým blízce příbuzným druhům jiných (živinami bohatších) stanovišť genomy výrazněji jiné, než je tomu za analogických podmínek u rostlin masožravých (jejich nemasožravých příbuzných).

4.2 Kam dále směřovat výzkum

Velikosti genomu jsou známy pro něco více než 16 tisíc druhů krytosemenných, tedy pro něco více než 5 % jejich druhové diverzity (Bureš et al. 2024). Pro budoucí studie by bylo dobré zaměřit se zejména na čeledi a řády, které nemají zjištěnou velikost genomu u žádného taxonu nebo jen pro naprosté minimum z nich.

Při nahlédnutí do datasetu s velikostmi genomu krytosemenných rostlin (Bureš et al. 2024) se jako nejméně prozkoumané řády zdají být: *Aquifoliales*, kde, byť jsou uvedena měření pro čeleď *Aquifoliaceae*, tak zbylé čeledi v tomto řádu *Cardiopteridaceae*, *Helwingiaceae*, *Phyllonomaceae*, *Stemonuraceae* nebyly v minulosti zkoumány s výjimkou poslední jmenované (u které první měření pro jeden taxon uvádí tato bakalářská práce). Dalším řádem vhodným pro studium může být *Austrobaileyales*, v kterém je jeho čeleď *Trimeniaceae* pouze minimálně prozkoumaná. To samé platí pro řád *Canellales*, kde taktéž čeledi *Canellaceae* a *Winteraceae* mají zaznamenaná data pouze pro jeden taxon. Z analyzovaného řádu *Caryophyllales* jsou pak málo prozkoumané čeledi *Molluginaceae*, *Portulacaceae* a *Petiveriaceae* (opět první naměřená data v této práci). V řádu *Celastrales* pak nemá čeleď *Lepidobotryaceae* také žádná data. Velké mezery jsou také v řádu *Crossosomatales*, kde *Aphloiaceae*, *Crossosomataceae*, *Geissolomataceae*, *Guamatelaceae* a *Strasburgeriaceae* nemají ani jeden údaj o velikosti genomu některého z druhů a *Staphyleaceae*, *Stachyuraceae* mají pouze pár změřených zástupců. *Ericales* také nabízí spoustu příležitostí v doplnění dat, například u čeledí: *Clethraceae*, *Lecythidaceae*, *Styracaceae*, *Cyrillaceae* a *Symplocaceae*. Málo prozkoumaným řádem je také *Icacinales* s jedním měřením v čeledi *Icacinaceae* ovšem s žádným v *Oncothecaceae*. Pro analyzovaný řád *Lamiales* by bylo vhodné se zaměřit na čeledi *Schlegeliaceae* a *Stilbaceae* (taktéž první měření v této práci). Další naměřená data je samozřejmě dobré doplnit i u již více prozkoumaných řádů a čeledí, ale zde byl krátký výpis těch, které jsou zatím jen velmi málo prostudované.

5 Závěr

Tato práce přinesla nové informace o genomických velikostech pro celou řadu rodů, dokonce i pro dvě zatím v tomto směru zcela neprozkoumané čeledi *Stemonuraceae* a *Petiveriaceae*.

Celkově byla naměřena velikost genomu pro 97 taxonů z čeledí *Acanthaceae* (10), *Pedaliaceae* (4), *Gesneriaceae* (36), *Lamiaceae* (3), *Oleaceae*(1), *Orobanchaceae* (1), *Plantaginaceae* (4), *Bignoniaceae* (2), *Stilbaceae* (1), *Lecythidaceae* (2), Ericaceae (24), *Actinidiaceae* (1), *Sapotaceae* (2), *Didieraceae* (2), *Petiveraceae* (2), *Verbenaceae* (1) a pro jednoho zástupce z čeledi *Stemonuraceae* z řádu *Aquifoliales*. Pro všechny z nich byl taktéž naměřen genomický obsah bází a pro 83 genomicky analyzovaných taxonů byla měřena i délka svěracích buněk průduchů. Průměrná velikost chromozomu byla spočítána u 64 z cytometricky analyzovaných taxonů, pro které byl dostupný počet chromozomů.

Testované pozitivní vztahy velikosti genomu se zastoupením GC bází a délkou svěracích buněk průduchů, byly prokázány za pomocí fylogeneticky korigované regrese. Naopak negativní vliv karnivorie na velikost genomu jednoznačně prokázán nebyl, nicméně se ukázal jako marginálně signifikantní ($p = 0{,}05431$).

6 Použitá literatura

Almojil D., Bourgeois Y., Falis M., Hariyani I., Wilcox J. & Boissinot S. (2021): The Structural, Functional and Evolutionary Impact of Transposable Elements in Eukaryotes. Genes 12: 918, doi:10.3390/genes12060918.

Barow M. & Meister A. (2002): Lack of correlation between AT frequency and genome size in higher plants and the effect of nonrandomness of base sequences on dye binding. Cytometry, Part A, 47: 1–7, doi:10.1002/cyto.10030.

Beaulieu J. M., Leitch I. J., Patel S., Pendharkar A. & Knight C. A. (2008): Genome size is a strong predictor of cell size and stomatal density in angiosperms. New Phytologist 179: 975–986, doi:10.1111/j.1469-8137.2008.02528.x.

Beaulieu J. M., Leitch I. J., Patel S., Pendharkar A., & Knight C. A. (2008): Genome size is a strong predictor of cell size and stomatal density in angiosperms. New Phytologist 179: 975–986, doi:10.1111/j.1469-8137.2008.02528.

Bennett M. D. & Leitch I. J. (2005): Genome size evolution in plants. In: TR Gregory, ed. The evolution of genome: 89–162, doi:10.1016/B978-012301463-4/50004-8.

Bennetzen J. L. & Wang H. (2014): The contributions of transposable elements to the structure, function, and evolution of plant genomes. Annual review of plant biology 65: 505–530, doi:10.1146/annurev-arplant-050213-035811.

Boissinot S. (2022): On the Base Composition of Transposable Elements. International journal of molecular sciences 23: 4755, doi:10.3390/ijms23094755.

Bolhuis H., Palm P., Wende A., Falb M., Rampp M., Valera F. R., Pfeiffer F. & Oesterhelt D. (2006): The genome of the square archaeon *Haloquadratum walsbyi*: life at the limits of water activity. BMC Genomics 7: 169, doi:10.1186/1471-2164-7-169.

Bureš P., Elliott T. L., Veselý P., Šmarda P., Forest F., Leitch I. J., Nic Lughadha E., Soto Gomez M., Pironon S., Brown M. J. M., Šmerda J. & Zedek F. (2024): The global distribution of angiosperm genome size is shaped by climate. New Phytologist 242: 744–759, doi:10.1111/nph.19544.

Clark J. W. & Donoghue P. C. J. (2018): Whole-Genome Duplication and Plant Macroevolution. Trends in plant science 23: 933–945, doi:10.1016/j.tplants.2018.07.006.

Doležel J., Bartoš J., Voglmayr H. & Greilhuber J. (2003): Nuclear DNA content and genome size of trout and human. Cytometry, Part A, 51: 127–128, doi:10.1002/cyto.a.10013.

Faizullah L., Morton J. A., Hersch-Green E. I., Walczyk A. M., Leitch A. R. & Leitch I. J. (2021). Exploring environmental selection on genome size in angiosperms. Trends in Plant Science 26: 1039–1049, doi:10.1016/j.tplants.2021.06.001.

Fleischmann A., Michael P. T., Rivadavia F., Sousa A., Wang W., Temsch M. E., Greilhuber J., Müller F. K. & Heubl G. (2014). Evolution of genome size and chromosome number in the carnivorous plant genus *Genlisea* (Lentibulariaceae), with a new estimate of the minimum genome size in angiosperms. Annals of Botany 114: 1651–1663, doi:10.1093/aob/mcu189.

Givnish T. J., Burkhardt E. L., Happel R. E. & Weintraub J. E. (1984): Carnivory in the bromeliad *Brocchinia reducta*, with a cost/benefit model for the general restriction of carnivorous plants to sunny, moist, nutrient-poor habitats. American Naturalist 124: 479–497, doi:10.1086/284289.

Givnish T. J., Sparks K. W., Hunter S. J. & Pavlovič A. (2018): Why are plants carnivorous? Cost/benefit analysis, whole-plant growth, and the context-specific advantages of botanical carnivory. In: Ellison A. M. & Adamec L. [eds], Carnivorous plants: Physiology, ecology, and evolution, pp 232–255. Oxford University Press, Oxford, UK, doi:10.1093/oso/9780198779841.003.0018.

Greilhuber J. & Leitch I.J. (2013): Genome size and the phenotype. In: Greilhuber J., Dolezel J. & Wendel J. [eds] Plant Genome Diversity. Vol. 2: 323–344, Springer, Vienna, doi:10.1007/978-3-7091-1160-4_20.

Guignard M. S., Leitch A. R., Acquisti C., Eizaguirre C., Elser J. J., Hessen D. O. & Leitch I. J. (2017): Impacts of nitrogen and phosphorus: From genomes to natural ecosystems and agriculture. Frontiers in Ecology and Evolution 5: 1–9, doi:10.3389/fevo.2017.00070.

Guignard M. S., Nichols R. A., Knell R. J., Macdonald A., Romila C. A., Trimmer M., Leitch I. J. & Leitch A. R. (2016): Genome size and ploidy influence angiosperm species' biomass under nitrogen and phosphorus limitation. The New phytologist 210: 1195–1206, doi:10.1111/nph.13881.

Hanson L., McMahon K. A., Johnson M. A. T. & Bennett M. D. (2001): First nuclear DNA C-values for 25 angiosperm families. Annals of Botany 87: 251–258, doi:10.1006/anbo.2000.1325.

Hassler M. (1994–2024): World Plants. Synonymic Checklist and Distribution of the World Flora. Version 19.2; last update April 1st, 2024. – www.worldplants.de.

Ho L. S. T. & Ane C. (2014): "A linear-time algorithm for Gaussian and non-Gaussian trait evolution models." Systematic Biology 63: 397–408.

Hodgson J. G., Sharafi M., Jalili A., Díaz S., Montserrat-Martí G., Palmer C., Cerabolini B., Pierce S., Hamzehee B., Asri Y. & Jamzad Z. (2010): Stomatal vs. genome size in angiosperms: the somatic tail wagging the genomic dog?. Annals of Botany 105: 573–84, doi:10.1093/aob/mcq011.

Kang M., Wang J. & Huang H. (2015): Nitrogen limitation as a driver of genome size evolution in a group of karst plants. Scientific Reports 5: 11636, doi:10.1038/srep11636.

Kumar S., Suleski M., Craig J. E., Kasprowicz A. E., Sanderford M., Stecher M. Li, G., & Hedges S. B. (2022): TimeTree 5: An Expanded Resource for Species Divergence Times. Molecular Biology and Evolution 39: msac174, doi:10.1093/molbev/msac174.

Leitch A. R. & Leitch I. J. (2008): Genomic plasticity and the diversity of polyploid plants. Science 320: 481–483, doi:10.1126/science.1153585.

Leitch I. J., Johnston E., Pellicer J., Hidalgo O. & Bennett M. D. (2019): Plant DNA C-values database (release 7.1, Apr 2019) https://cvalues.science.kew.org/

Lipnerová I., Bureš P., Horová L. & Šmarda P. (2013): Evolution of genome size in *Carex* (Cyperaceae) in relation to chromosome number and genomic base composition. Annals of Botany 111: 79–94, doi:10.1093/aob/mcs239.

Lučanová M., Moravcová L., Suda J., Jarošík V. & Pyšek P. (2010): Naturalized plants have smaller genomes than their non-invading relatives: A flow cytometric analysis of the Czech alien flora. Preslia 82: 81–96.

Mandáková T. & Lysak M. A. (2018): Post-polyploid diploidization and diversification through dysploid changes. Current opinion in plant biology 42: 55–65, doi:10.1016/j.pbi.2018.03.001.

Novák P., Guignard M. S., Neumann P., Kelly L. J., Mlinarec J., Koblížková A., Dodsworth S., Kovařík A., Pellicer J., Wang W., Macas J., Leitch I. J. & Leitch A. R. (2020): Repeat-sequence turnover shifts fundamentally in species with large genomes. Nature plants 6: 1325–1329, doi:10.1038/s41477-020-00785-x.

Orme D., Freckleton R., Thomas G., Petzoldt T., Fritz S., Isaac N. & Pearse, W. (2013): CAPER: Comparative Analyses of Phylogenetics and Evolution in R. Methods in Ecology and Evolution 3: 145-151.

Otto F. (1990): DAPI staining of fixed cells for high–resolution flow cytometry of nuclear DNA. In: Crissman H. A. & Darzynkiewicz Z. [eds], Methods in cell biology 33: 105–110, Academic Press, New York, doi:10.1016/s0091-679x(08)60516-6.

Pellicer J., Fay F. M. & Leitch J. I. (2010): The largest eukaryotic genome of them all? Botanical Journal of the Linnean Society 164: 10–15, doi:10.1111/j.1095-8339.2010.01072

Posit team (2022): RStudio: Integrated Development Environment for R. Posit Software, PBC, Boston, MA. URL http://www.posit.co/.

Revell L. (2024): "phytools 2.0: an updated R ecosystem for phylogenetic comparative methods (and other things)." PeerJ 12: e1650, doi:10.7717/peerj.16505.

Rice A., Glick L., Abadi S., Einhorn M., Kopelman NM., Salman-Minkov A., Mayzel J., Chay O. & Mayrose I. (2015): The Chromosome Counts Database (CCDB) – a community resource of plant chromosome numbers. New Phytologist 206: 19–26.

Roddy A. B., Theroux-Rancourt G., Abbo T., Benedetti J., Brodersen C., Castro M., Castro S., Gilbride A., Jensen B., Jiang G.-F., Perkins J., Perkins S., Loureiro J., Syed Z., Thompson R., Kuebbing S. & Simonin K. (2019): The Scaling of Genome Size and Cell Size Limits Maximum Rates of Photosynthesis with Implications for Ecological Strategies. International Journal of Plant Sciences 181, doi:10.1086/706186.

Soltis P. S., Marchant D. B., Van de Peer Y. & Soltis D. E. (2015): Polyploidy and genome evolution in plants. Current opinion in genetics & development 35: 119–125, doi:10.1016/j.gde.2015.11.003.

Šmarda P. & Bureš P. (2012): The variation of base composition in plant genomes. In: Wendel J., Greilhuber J., Dolezel J. & Leitch I. [eds], Plant Genome Diversity. Vol. 1: 209–235, Springer, Vienna, doi:10.1007/978-3-7091-1130-7_14.

Šmarda P., Bureš P., Horová L., Foggi B. & Rossi G. (2008): Genome size and GC content evolution of Festuca: ancestral expansion and subsequent reduction. Annals of Botany 101: 421–433, doi:10.1093/aob/mcm307.

Šmarda P., Bureš P., Horová L., Leitch I. J., Mucina L., Pacini E., Tichý L., Grulich V. & Rotreklová O. (2014): Ecological and evolutionary significance of genomic GC content diversity in monocots. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 111: E4096–E4102, doi:10.1073/pnas.1321152111.

Tamura K., Stecher G. & Kumar S. (2021): MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. Molecular Biology and Evolution 38: 3022–3027.

Veleba A., Bureš P., Adamec L., Šmarda P., Lipnerová I. & Horová L. (2014): Genome size and genomic GC content evolution in the miniature genome-sized family Lentibulariaceae. New Phytologist 203: 22–28, doi:10.1111/nph.12790.

Veleba A., Šmarda P., Zedek F., Horová L., Šmerda J. & Bureš P. (2017): Evolution of genome size and genomic GC content in carnivorous holokinetics (Droseraceae). Annals of Botany 119: 409–416, doi:10.1093/aob/mcw229.

Veleba A., Zedek F., Horová L., Veselý P., Srba M., Šmarda P. & Bureš P. (2020): Is the evolution of carnivory connected with genome size reduction? American Journal of Botany 107: 1253–1259, doi:10.1002/ajb2.1526.

Veselý P., Bureš P. & Šmarda P. (2013): Nutrient reserves may allow for genome size increase: evidence from comparison of geophytes and their sister non-geophytic relatives. Annals of Botany 112: 1193–1200, doi:10.1093/aob/mct185.

Veselý P., Bureš P., Šmarda P. & Pavlíček T. (2012): Genome size and DNA base composition of geophytes: The mirror of phenology and ecology? Annals of Botany 109: 65–75, doi:10.1093/aob/mcr267.

Veselý P., Bureš P., Šmarda P. & Pavlíček T. (2012): Genome size and DNA base composition of geophytes: The mirror of phenology and ecology? Annals of Botany 109: 65–75, doi:10.1093/aob/mcr267.

Veselý P., Šmarda P., Bureš P., Stirton C., Muasya A. M., Mucina L., Horová L., Veselá K., Šilerová A., Šmerda J. & Knápek O. (2020): Environmental pressures on stomatal size may drive plant genome size evolution: evidence from a natural experiment with Cape geophytes. Annals of Botany 126: 323–330, doi:10.1093/aob/mcaa095.

Wendel J. F., Jackson S. A., Meyers B. C. & Wing R. A. (2016): Evolution of plant genome architecture. Genome biology 17: 37, doi:10.1186/s13059-016-0908-

Přílohy

Elektronická příloha A – Fotografie rostlin
Elektronická příloha B – Excelový soubor s měřeními z cytometru
Elektronická příloha C – Soubor s kódem do R