Univerzita Karlova

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Botanika

Bc. Martin Kivader

Symetrie a rozdíly v utváření receptakul chaluhy *Fucus serratus* mezi Baltskými a Atlantickými populacemi

Symmetry and differences in shaping of receptacles of *Fucus serratus* between Baltic and Atlantic populations

Typ závěrečné práce:

Diplomová práce

Vedoucí práce: prof. RNDr. Jiří Neustupa, Ph.D.

Praha, 2026

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci sepsal samostatně, všechny použité zdroje a literatura jsou v práci řádně citovány a práce nebo její podstatná část nebyla využita jako závěrečná práce k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Martin Kivader

Poděkování

Chtěl bych poděkovat Jiřímu Neustupovi za trpělivost a pochopení při vedení této práce.

Dále bych rád poděkoval svým přátelům, zvláště pak těm v domečku, Václavovi a Jonášovi, všem zbylým členům KMPJK, svojí rodině a v neposlední řade Sofii a Folče.

Nakonec děkuji Mohylovému duchovi a Muminkům za to, že se tak starostlivě starají o Baltské moře.

Abstrakt

Receptakula představují jeden charakteristických znaků chaluh řádu Fucales. Tyto reprodukční útvary se vytvářejí na terminálních částech jejich stélek, a ukončují tak jejich další růst. V rámci tělního plánu těchto chaluh se receptakula jeví jako bilaterálně symetrická a během morfogeneze vedoucí k vrcholu vegetační sezóny jako pravidelně organizovaná do terminálních čtveřic.

Ačkoliv centrum rozšíření *F. serratus* leží v severovýchodním Atlantiku, zhruba před 3–8 tisíci lety imigroval do oblasti dnešního Baltského moře, které je pro něj dnes marginálním prostředím. Hlavním faktorem limitujícím jeho tamní rozšíření je výrazný gradient salinity, který má negativní vliv na jeho individuální morfogenezi a reprodukci.

V této diplomové práci se snažím prozkoumat morfologii populací *F. serratus* ze dvou regionů na pobřeží Baltského moře s výrazným rozdílem salinity. Za pomoci metod geometrické morfometriky se snažím prověřit tvarovou variabilitu receptakul na různých úrovních v rámci regionů a rostlin, jejich relativní pozice v rámci terminálních čtveřic a dynamiku jejich symetrie.

Výsledky práce ukázaly, že celková tvarová variabilita receptakul *F. serratus* je ovlivněna zejména jejich individuální variabilitou. Tento efekt byl výrazně významnější než efekty rostliny, populace a regionu. Silný efekt regionu zodpovídal za poměrně malé množství celkové variability. Poziční symetrie párů receptakul odhalila slabý nenáhodný rozdíl vnější a vnitřní dvojice v rámci terminální čtveřice. Analýza dynamiky symetrie receptakul pak odhalila výrazný efekt fluktuační asymetrie a naznačila nové vzory symetrie v rámci čtveřic.

Klíčová slova: geometrická morfometrika, Fucus serratus, receptakulum, Baltské moře

Abstract

The receptacles represent one of the characteristic features of brown algae of the order Fucales. These reproductive structures form at the apical parts of their thalli, terminating further growth. Within the body plan of these seaweeds, the receptacles appear to be bilaterally symmetrical and, during morphogenesis leading up to the peak of the reproductive season, organised into regular sets of four.

Although the centre of distribution of *F. serratus* lies in the north-eastern Atlantic, around 3000–8000 years ago it migrated into the area of what is now the Baltic Sea, which is today the species' marginal habitat. The main factor limiting its distribution there is a prominent salinity gradient, which has a negative impact on its individual morphogenesis and reproduction.

In this masters thesis, I aim to investigate the population morphology of *F. serratus* from two regions on the Baltic Sea coast characterised by a marked difference in salinity. Using geometric morphometrics, I seek to examine the shape variability of receptacles at various levels within the regions and among plants, their relative positions within terminal quartets, and the dynamics of their symmetry.

The results of the thesis showed that the overall morphological variability of *F. serratus* receptacles is influenced primarily by their individual variability. This effect was significantly more pronounced than the effects of plant, population and region. The strong effect of region accounted for a relatively small proportion of the overall variability. The positional symmetry of receptacle pairs revealed a weak, non-random difference between the outer and inner pairs within the terminal quartet. Analysis of receptacle symmetry dynamics revealed a pronounced effect of fluctuating asymmetry and suggested new symmetry patterns within the quartet.

Keywords: Geometric morphometrics, Fucus serratus, Receptacle, Baltic Sea

1 Úvod 7
1.1 *Fucus serratus* a Baltské moře 7
1.1.1 Baltské moře jako marginální prostředí 7
1.1.2 Receptakula 8
1.2 Cíle práce 9
2 Teoretická část 10
2.1 Symetrie 10
2.2 Geometrická morfometrika 11
2.2.1 Symetrie v geometrické morfometrice 12
2.2.2 Asymetrie a vývojová nestabilita 14
3 Materiál a metody 16
3.1 Struktura odběrů 16
3.2 Sběr a digitalizace dat 16
3.3 Prokrustovská superimpozice (GPA) 18
3.4 Vizualizace tvarových změn 20
3.5 Analýza relativních deformací (RWA) 21
3.6 Prokrustovská hierarchická analýza variance (ANOVA) 22
3.6.1 Tvarová variabilita receptakul 22
3.6.2 Vzory poziční symetrie v rámci větvičky 23
3.6.3 Tvarová symetrie receptakul 23
3.7 Software 24
4 Výsledky 25
4.1 Analýza hlavních komponent (PCA) 25
4.2 Analýza tvarové variability receptakul 27
4.2.1 Lineární diskriminační analýza (LDA) 28
4.3 Analýza vzorů poziční symetrie 30
4.4 Analýza dynamiky symetrie receptakul 30
4.4.1 Dynamika symetrie receptakul dle pozice 31
5 Diskuze 33
5.1 Tvarová variabilita receptakul 33
5.2 Vzory poziční symetrie párů receptakul ve větvičce 34
5.3 Dynamika symetrie receptakul 36
6 Závěr 37
7 Literatura 39

1 Úvod

1.1 *Fucus serratus* a Baltské moře

Řasa *Fucus serratus* (Phaeophyceae, Fucaceae) je mořská chaluha s centrem rozšíření v severovýchodním Atlantském oceánu. Jeho přirozené rozšíření pokrývá pobřeží od severu Pyrenejského poloostrova po Bílé moře, včetně západních a jižních částí Baltského moře (Brodie et al., 2016; Lüning, 1990). Lidskou činností byl dále introdukován na pobřeží Islandu a Faerských ostrovů (Coyer et al., 2006; Jónsson, 1903) a koncem 19. století na pobřeží Nového Skotska a Zálivu svatého Vavřince v severozápadním Atlantiku (Hay & MacKay, 1887; Robinson, 1903). Vytváří víceleté pomalu rostoucí makroskopické stélky, které mohou dorůstat velikosti přes 60 cm a dožívají se zhruba 3–4 let (Knight & Parke, 1950; Malm et al., 2001). Typicky roste na skalnatém podloží mezi spodním intertidálem a horním sublitorálem, primárně v hloubce 0,5–5 m, kde společně s druhým nejběžnějším druhem, *F. vesiculosus*, vytváří rozsáhlé ekologicky významné porosty nazývané belty (Kautsky & Kautsky, 2000; Kornmann & Sahling, 1977). V Baltském moři, kde z důvodu absence kompetitorů mohou tyto druhy pronikat hlouběji do sublitorálu, do hloubek 10–20 m (Malm et al., 2001; Pedersén & Snoeijs, 2001; Snoeijs, 1999; Waern, 1952), jsou tyto řasy klíčovými druhy umožňujícími formování těchto biotopů, poskytujících substrát, potravu a úkryt pro řadu druhů organismů (Haage & Jansson, 1970; Kautsky et al., 1986, 1992; Kersen et al., 2011; Malm & Kautsky, 2003; Seed & O'Connor, 1981; Vogt & Schramm, 1991).

1.1.1 Baltské moře jako marginální prostředí

V současnosti je v Baltském moři výrazný gradient salinity, 1,8–30,2 psu, způsobený na jedné straně přísunem slané vody z oceánu a na druhé straně sladké vody z pevniny (Snoeijs-Leijonmalm et al., 2017). Snížená salinita dnešního Baltského moře je jednou z bariér omezujících geografické rozšíření a introdukci mořských druhů (Kautsky & Kautsky, 2000; Snoeijs, 1999). Ve svojí geologické historii však prošlo hned několika „mořskými" fázemi, které umožnily řadu invazí (Ignatius et al., 1981; Svensson, 1991). Organismy současně žijící v Baltském moři jsou z většiny pozůstatkem postglaciální imigrace během fáze Litorinového moře před 3–8 tisíci lety (Russell, 1985; Snoeijs, 1999; Sohlenius et al., 1996). Mezi baltskými makroskopickými řasami dominují euryhalinní mořské druhy, mezi něž se řadí také chaluhy rodu *Fucus*, které do Baltského moře expandovaly během jediné rekolonizační vlny (Coyer et al., 2004; Hoarau et al., 2007; Snoeijs, 1999). Brakické Baltské moře je pro tyto řasy stále marginálním prostředím. Bylo pozorováno, že nízká salinita má vedle snížené vitality také řadu negativních vlivů na jejich sexuální reprodukci, jmenovitě množství, motilitu a životnost vypouštěných gamet, sníženou míru oplození a zvýšenou pravděpodobnost polyspermie (Malm et al., 2001; Malm & Kautsky, 2003; Nellen, 1966; Serrão et al., 1996, 1999a). Míra tolerance jednotlivých druhů na nízké úrovně salinity jsou tak reflektovány jejich geografickým rozšířením (Hällfors et al., 1981; Malm et al., 2001).

Nejtolerantnějším druhem rodu *Fucus* v Baltském moři je *F. vesiculosus*, který je zde schopný generativního růstu až po střední Balt o povrchové salinitě 4–6 psu (Malm et al., 2001; Malm & Kautsky, 2003; Tatarenkov et al., 2005), vegetativně až po Botnický a Finský záliv o povrchové salinitě 3,5–4 psu, díky čemuž je rozšířen prakticky v rámci celého Baltského moře (Bergström & Bergström, 1999; Kautsky et al., 1992; Malm & Kautsky, 2003; Serrão et al., 1996; Waern, 1952). Baltské a atlantické populace tohoto druhu vykazují jak fyziologické, tak morfologické odlišnosti, především směřující k menšímu vzrůstu marginálních populací (Bäck et al., 1992; Hällfors et al., 1981; Russell, 1985; Ruuskanen & Bäck, 1999; Waern, 1952). Druh *F. vesiculosus* disponuje velkou mírou fenotypové plasticity i v rámci Baltského moře, která vedla mimo jiné k popsání tzv. „trpasličího morfotypu" v Botnickém zálivu (Bäck, 1993; Kautsky et al., 1992; Waern, 1952), později odděleného do samostatného druhu *F. radicans* (Bergström et al., 2005; Forslund & Kautsky, 2013; Pereyra et al., 2009), jehož pozice v rámci fylogeneze je však v recentní literatuře zčásti zpochybňována, a tyto populace *F. radicans* jsou tak opět považovány za morfotyp *F. vesiculosus* (Pereyra et al., 2025).

Oproti *F. vesiculosus*, druh *F. serratus* projevuje výrazně nižší úroveň fenotypové plasticity (Wahl et al., 2011). Ačkoliv v rámci gradientu Baltského moře nebyla pozorována patrná systematická změna morfologie stélky *F. serratus*, bylo pozorováno, že změny salinity mohou způsobovat dilataci receptakul (Knight & Parke, 1950). U baltských populací *F. serratus* byly pozorovány adaptace na brakické prostředí, avšak ve výrazně menší míře než u *F. vesiculosus*. Protože *F. serratus* není schopen vegetativního rozmnožování, je jeho schopnost disperze výrazně omezena (Arrontes, 1993; Coyer et al., 2003). Zatímco baltské populace jsou schopny úspěšného oplození a vyklíčení v zygoty až po salinitu ≥7 psu, atlantické populace za srovnatelných podmínek vykazují sníženou míru reprodukce (Malm et al., 2001; Russell & Thomas, 1988). Tento limit je také reflektován rozšířením baltských populací *F. serratus* v západních a jižních částech Baltského moře s hranicí na jihovýchodním pobřeží Švédska (Hällfors et al., 1981; Malm et al., 2001; Malm & Kautsky, 2003; Nielsen et al., 1995; Serrão et al., 1999b).

1.1.2 Receptakula

Rostliny druhu *F. serratus* jsou dvoudomé a na rozdíl od *F. vesiculosus* u nich reprodukce probíhá pouze sexuálně (Decaisne & Thuret, 1845; Malm et al., 2001). Přírodní populace typicky na vrcholu vegetačního období vytváří obrovské množství sexuálních reprodukčních struktur, tzv. receptakul, která mohou v pohlavní dospělosti činit až 38–50 % biomasy rostliny (Arrontes, 1993; Brenchley et al., 1996). K formaci receptakul dochází na distálních částech stélky v místech nejmladších větvení, zatímco v níže položených starších částech stélky mohou vrcholky přetrvávat ve vegetativním stavu. Receptakula vznikají z apikálních částí stélky jejich zduřením, během nějž dochází k terminaci apikálního meristému a produkci konceptakul (Knight & Parke, 1950; Meichssner et al., 2021; Moss, 1967).Receptakula samčích a samičích rostlin lze poměrně spolehlivě rozeznat. Zatímco receptakula samičích rostlin mají hnědozelenou barvu, která je způsobena chloroplasty ve vaječných buňkách, receptakula samčích rostlin

vykazují až červenooranžovou barvu díky karotenoidům ve stigmatech dvoubičíkatých spermatozoidů (Decaisne & Thuret, 1845; Whitaker, 1931). Po vypuštění gamet receptakula a vegetativní stélka pod nimi degraduje, až po úroveň nejbližší větvičky s vegetativním vrcholem, kde je zachovalý meristém. Takto dochází k formaci receptakul a degradaci až u 70–100 % větviček (Knight & Parke, 1950; Meichssner et al., 2021; Moss, 1967).

Ačkoliv se větvení stélky *F. serratus* na první pohled jeví jako dichotomické, jak popisují Knight & Parke (1950), jedná se spíše o pseudokryptickou monopodii, kdy boční větvička vzniká v těsné blízkosti apikální buňky. Dceřiné větvičky vykazují rozdílné růstové potenciály a po každém větvení přebírá střídavě buď levá nebo pravá roli vůdčí větvičky, přičemž míra tohoto rozdílu klesá se zvyšujícím se počtem větvení a rostoucí vzdáleností od bazální části stélky. Tato deviace od pravidelné dichotomie by však mohla být na úrovni receptakul zastíněna přetrvávající aktivitou apikální buňky, která zůstává ještě po čas formování receptakula aktivní, a může tak zodpovídat za jeho prodlužování (Knight & Parke, 1950).

1.2 Cíle práce

Náplní této diplomové práce je prozkoumat tvarovou variabilitu apikálních generativních částí stélky (receptakul) chaluhy *F. serratus*. Receptakula byla odebrána z populací *Fucus serratus* v horním sublitorálu ve dvou regionech v rámci Baltského moře. Jednak se jedná o pobřeží švédského Göteborgu u samého okraje Baltského moře, průlivu Kattegatu, která s povrchovou salinitou přibližně 14,8–15,8 psu přibližuje podmínkám přirozeného atlantského rozšíření tohoto druhu, a naproti tomu pobřeží dánského ostrova Bornholmu ležícího ve středním Baltu v oblasti se sníženou salinitou cca 7,5 psu, nacházející se tedy poblíž hranice rozšíření tohoto druhu (HELCOM, 2026). V rámci této diplomové práce pokouším prozkoumat vliv regionu, populace, jedince a jeho částí na tvarovou variabilitu receptakul, prozkoumat potenciální zákonitosti poziční symetrie v rámci terminálních čtveřic receptakul a porovnat míru jejich symetrie a asymetrie. V neposlední řadě se snažím odkrýt a kvantifikovat potenciální systematické vzory direkční asymetrie a srovnat je s vlivem individuální fluktuační asymetrie.

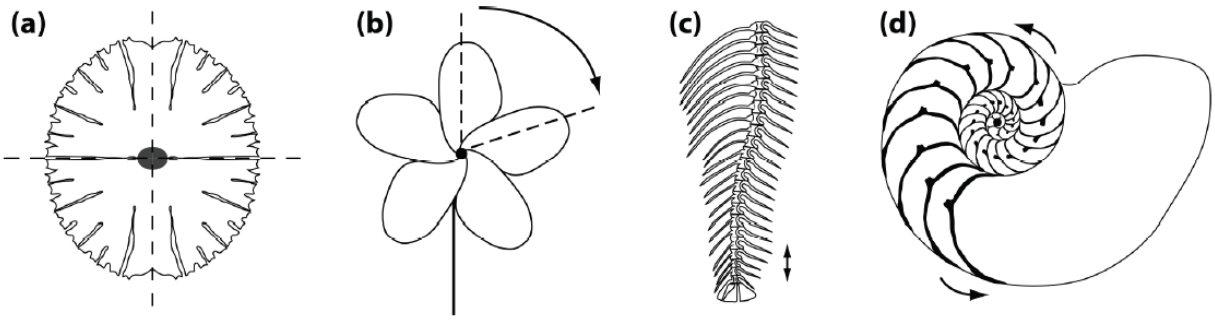
2 Teoretická část

2.1 Symetrie

Symetrie je základním znakem tělních plánů naprosté většiny organismů. V biologii se symetrií rozumí opakování struktur, které jsou vzájemně vůči sobě umístěny v různých pozicích a orientacích. Definice jednotlivých typů symetrie stojí na formálním matematickém základě, v němž významnou roli hrají transformace. Pod pojmem transformace se v matematice transformace rozumí operace, která přenáší každý bod objektu někam do plochy či do prostoru, přičemž pro každou transformaci existuje jiná transformace, která zvrátí efekt transformace první – jsou tedy vratné (Klingenberg, 2015; Rosen, 1989). Objekt je symetrický za předpokladu, že pro něj existuje transformace, která přenese jeho body v ploše či prostoru tak, že jeho tvar zůstane beze změny, tedy tvary původního a přeneseného objektu jsou od sebe vzájemně nerozlišitelné. Takovéto transformaci se říká symetrická transformace (Klingenberg, 2015; Martin, 1982).

Symetrickými jsou reflexe (zrcadlení), rotace (otočení), translace (posunutí) a identita. Rotace může nabývat různých řádů v závislosti na tom, kolik kroků pokryje celou kružnici. Například květ rostliny na ilustraci Obr. 1b je charakterizován rotací 5. řádu, neboť jednotlivé korunní lístky mezi sebou svírají úhly 72°, 144°, 216°, 288° a 360° (alternativně 0°). Jednotlivé typy symetrií lze popsat pomocí charakteristických kombinací jejich příslušných symetrických transformací. Těmito kombinacemi, které jsou nazývány jako grupy symetrií. Jednou z podstatných vlastností grupy symetrie je, že kterákoliv kombinace transformací v ní obsažených je sama o sobě transformací příslušné grupy (Armstrong, 1988; Klingenberg, 2015; Martin, 1982; Rosen, 1975).

Jednotlivé grupy symetrií lze názorně demonstrovat na tzv. komplexních symetriích. Tyto symetrie pracují s více než dvěma jednotkami, které jsou vůči sobě vzájemně uspořádané podle příslušných symetrických transformací jejich grupy. Mezi komplexní symetrie spadají symetrie biradiální (také



Obr. 1 Ukázky typů komplexních symetrií. (a) Biradiální symetrie *Micrasterias rotata*. (b) Rotační symetrie květu rostliny. (c) Translační symetrie obratlů v páteři ryby. (d) Spirální symetrie komůrek schránky loděnky. Upraveno ze Savriama & Klingenberg (2011).

zvaná disymetrie) a rotační, jejichž symetrické grupy mají konečný počet transformací, a symetrie translační a spirální, u nichž lze transformace teoreticky aplikovat donekonečna, aniž by došlo k jejich opakování (Klingenberg, 2015). Krásivky rodu *Micrasterias* jsou například symetrické podél dvou na sebe kolmých os symetrie, a vykazuje tak symetrii biradiální (Obr. 1a). V Schoenfliesově zápisu je tento typ symetrie značen C_{2v} (kde písmeno *C* značí rotační symetrii, číslo 2 řád rotace a počet os *v* procházejících skrze osu rotace). Její symetrická grupa je tvořena čtyřmi prvky, které kombinují dvě transformace, reflexi a rotaci 2. řádu (180° a 360° či 0°). Čistě rotační symetrie o rotaci 5. řádu na Obr. 1b je tvořena pěti prvky. Obecně *n* prvky dle rotace řádu *n*, jejím obecným zápisem je C_n (Savriama & Klingenberg, 2011). U translační symetrie (Obr. 1c) je struktura rozdělena na jednotky, které se translací opakují podél osy. Spirální symetrie (Obr. 1d) je kombinací rotační a translační symetrie, při níž zároveň dochází ke zvětšování jednotek. Rozlišení mezi symetriemi s konečným a nekonečným množstvím transformací je zásadní pro správnou volbu dalších analýz (Klingenberg, 2015; Savriama & Klingenberg, 2011).

V biologii, zejména v zoologii, se setkáváme nejčastěji se symetrií bilaterální. Bilaterální symetrie je charakterizována grupou symetrií o pouhých dvou prvcích – identitě a reflexi. Právě reflexe umožňuje zrcadlit jednu polovinu objektu podle osy/plochy symetrie na polovinu druhou. Bilaterální symetrie tedy pracuje právě se dvěma jednotkami, které jsou svými vzájemnými zrcadlovými obrazy, a je tak symetrií nejjednodušší. Identita pak odpovídá jak dvěma reflexím podle téže osy, tak rotaci o 360° včetně násobků. V tomto druhém případě pak lze pro bilaterální symetrii užít specifického případu rotační symetrie 1. řádu se zápisem C_{1v} (Klingenberg, 2015; Savriama, 2018; Savriama & Klingenberg, 2011).

Pravou symetrii v živé přírodě zpravidla nenajdeme a pouze ji aproximujeme. Veškeré odchylky od ní, tedy asymetrie, mohou být zjevné, např. klepeta krabů, nebo i pouhým okem nepostihnutelné. Geometrická morfometrika poskytuje nástroje, kterými asymetrii detekovat, kvantifikovat a separovat systematické trendy (direkční asymetrie) a prvky nahodilé individuální variability (fluktuační asymetrie). V současnosti geometrická morfometrika nejčastěji využívá tzv. p*rokrustovské metody* (Bookstein, 2018; Klingenberg, 2015).

2.2 Geometrická morfometrika

Základním prvkem veškerých metod geometrické morfometriky je tvar objektu. Definice tvaru, s níž geometrická morfometrika pracuje, je striktně geometrická. Tvar je v zde definován jako soubor veškerých geometrických vlastností objektu oproštěných o velikost, pozici a orientaci (Dryden & Mardia, 2016; Klingenberg, 2015). V praxi jsou tyto pro tvar nevýznamné rozdíly normalizovány prokrustovskou superimpozicí (Mardia et al., 2000), jejímž výstupem jsou porovnatelné konfigurace souřadnic nesoucí pouze tvarovou informaci a které se podrobněji věnuji v kapitole 3.3.

Tradiční morfometrika pracovala s dvourozměrnými lineárními vzdálenostmi či úhly mezi landmarky, mezními body jedinců či jejich částí, měřenými zpravidla rovnoběžně s osou souměrnosti jedince nebo

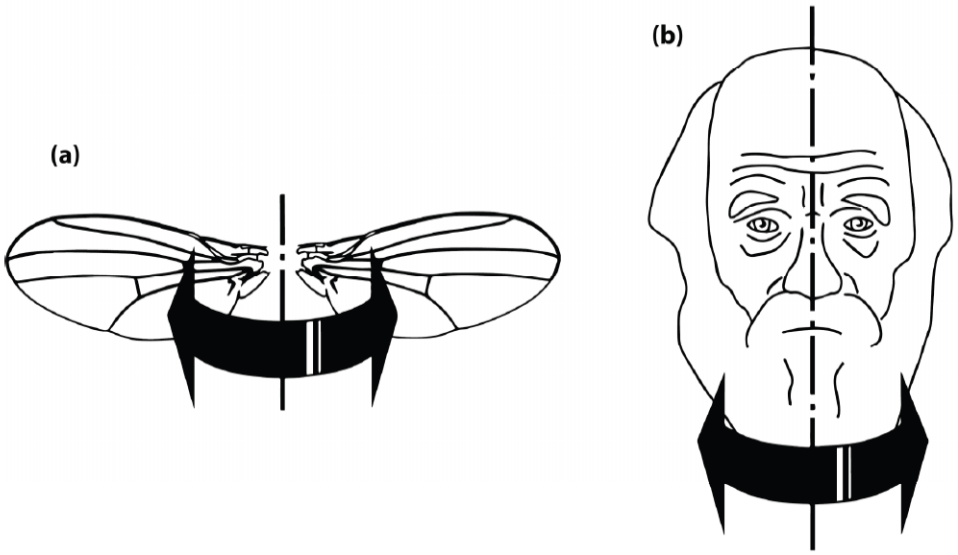
kolmo na ni (Dryden & Mardia, 2016; MacLeod, 2017). V geometrické morfometrice slouží k postihnutí formy studovaného objektu soubor význačných bodů (landmarků), umisťovaných dle nějakého pravidla. Jako landmarky jsou vybírány takové body objektu, které lze s jistotou rozpoznat napříč souborem objektů, tedy jsou diskrétní a lze je nějak pojmenovat (Bookstein, 1992). Významným předpokladem landmarků totiž je, aby si napříč studovanými strukturami vzájemně odpovídaly, byly takzvaně strukturně homologní. Ve dvourozměrném prostoru je každý takový bod vyjádřen párem karteziánských souřadnic. Týž soubor landmarků je použit k postihnutí formy každého ze studovaných objektů v souboru. Každý studovaný objekt je tak vyjádřen konfigurací tvořenou shodným počtem landmarků, které jsou umístěny ve shodném pořadí na body shodných anatomických struktur. Oproti tradiční morfometrice je hlavní výhodou přístupu geometrické morfometriky při analýze tvaru možnost práce s celkovým geometrickým objektem, nikoliv pouze řadou vzdáleností od něj odvozených. Geometrický přístup tak vedle statistické inference, možné i v tradiční morfometrice, poskytuje navíc nástroje, pomocí nichž lze popsat a zejména vizualizovat konkrétní tvarové změny (Dryden & Mardia, 2016).

Nicméně řada biologických struktur, které chceme studovat, nedisponuje dostatkem diskrétních pojmenovatelných anatomických struktur, které by představovaly zřetelné body pro umístění landmarků (Bookstein, 1997). Typicky se jedná o hladké křivky, případně plochy ve trojrozměrném prostoru. K vyjádření forem podobných struktur se proto využívá tzv. semilandmarků, které jsou na rozdíl od landmarků rozmístěny seriálně podél křivky či plochy dle určeného pravidla, nejčastěji shodné vzdálenosti mezi body (Bookstein, 1997). Semilandmarky mohou do prokrustovské superimpozice vstupovat jako landmarky (MacLeod, 2017; Neustupa & Nemcova, 2018), avšak v některých metodikách je jejich pozice během superimpozice upravována posouváním (klouzáním) po tečně křivky obrysu v bodě jeho původních souřadnic, zpravidla dokud není mezi konfiguracemi semilandmarků jednotlivých objektů a referenční konfigurací (zpravidla průměrný tvar) minimalizováno stanovené kritérium, nejčastěji deformační energie (BE, z angl. *bending energy*) nebo prokrustovské vzdálenosti (PD, z angl. *Procrustes distance*) (Klingenberg, 2015; Neustupa & Nemcova, 2018). Deformační energie slouží k popisu prostorových podobností a odlišností mezi tvary a její velikost je inverzně úměrná rozsahu deformace, tedy čím je deformace lokalizovanější, tím vyšší je deformační energie (Bookstein, 2018). Prokrustovská vzdálenost, která je rovna druhé odmocnině součtu druhých mocnin vzdáleností mezi odpovídajícími si landmarky, je mírou odlišnosti mezi konfiguracemi souřadnic (Bookstein, 2018; Klingenberg, 2015).

2.2.1 Symetrie v geometrické morfometrice

V geometrické morfometrice jsou dále symetrie rozlišovány na dva typy s ohledem na strukturu studovaného objektu (Obr. 2). Těmito typy jsou tzv. *matching symmetry* a *object symmetry* (Mardia et al., 2000). Rozhodnutí, zda studovaný objekt vykazuje jeden či druhý typ symetrie (či jejich kombinaci), poukazuje na biologickou funkci a podstatu jeho částí a předurčuje další metodologický postup při analýzách. Morfologická data totiž musejí být před prokrustovskou superimpozicí konfigurací (na níž

je moderní morfometrika postavena, viz. kapitola 3.3) náležitě upravena v souladu s transformacemi danými grupou symetrií. (Klingenberg, 2015; Mardia et al., 2000; Savriama, 2018)



Obr. 2 Ukázky dvou typů bilaterální symetrie. (a) *Matching symmetry* dvou struktur, které jsou svými zrcadlovými kopiemi. Osa symetrie prochází mezi nimi. (b) *Object symmetry* lidského obličeje, který je sám o sobě symetrický. Osa symetrie prochází skrze něj. Převzato z Klingenberg et al. (2002).

Matching symmetry je takový typ symetrie objektů, kde bod, osa či plocha symetrie leží mimo dané objekty. Jedná se o objekty fyzicky oddělené, jako jsou například křídla hmyzu, kališní listy rostlin či obratle živočichů (Mardia et al., 2000; Savriama, 2018). Objekty jsou jednotkami, které jsou vůči sobě uspořádány podle symetrických transformací příslušné grupy symetrie. Kupříkladu křídla mouchy tse-tse (*Glossina palpalis gambiensis*) projevují bilaterální *matching symmetry* reflexí podle osy jejího těla (Klingenberg & McIntyre, 1998).

Pro *matching symmetry* je každá jednotka samostatným objektem s vlastní landmarkovou konfigurací. Jedna z těchto konfigurací je jedna vybrána jako vzor, podle nějž jsou zbylé konfigurace dále podrobeny takovým transformacím, vycházejícím z jejich grupy symetrií, aby výsledné konfigurace co nejlépe „lícovaly“. Translace, rotace a změna velikosti jsou zahrnuty v prokrustovské superimpozici, proto v případě rotační, translační či spirální (kombinace rotace a translace) *matching symmetry* nevyžadují správně označené konfigurace žádné zvláštní úpravy. Oproti tomu v případě bilaterální *matching symmetry*, u níž je tradičně vzorem konfigurace z pravé strany objektu, předchází GPA reflexe všech levých konfigurací podle osy symetrie a spolu s tím přeznačení (*relabelling*) jednotlivých landmarků (Savriama, 2018).

Object symmetry je takový typ symetrie, kde osa či rovina symetrie prochází skrz objekt, a relativní uspořádání levé a pravé strany má tedy vliv na symetrii celé struktury (Klingenberg, 2015). Protože obě poloviny jsou součástí jedné nadřazené struktury, rozdíl ve velikosti je pohlcen geometrií

prokrustovského tangenciálního prostoru (Mardia et al., 2000). *Object symmetry* je aplikovatelná pouze u typů symetrie, které jsou definovány grupami symetrií o konečném počtu transformací, jimiž jsou rotace, reflexe či jejich kombinace (Armstrong, 1988; Martin, 1982; Savriama & Klingenberg, 2011).

Pro studium tvarové variability a trendů mezi objekty s *object symmetry* je pro řadu studií centrem zájmu symetrická komponenta tvarové variability. V případě bilaterální symetrie je pro každou konfiguraci vytvořena její zrcadlová kopie, jejíž body jsou přeznačeny tak, aby odpovídaly původní konfiguraci – jednotlivé landmarky byly na pozicích odpovídajících struktur a byly tak homologní napříč datovým souborem. Originální a reflektovaná přeznačená kopie jsou následně podrobeny společné GPA a jednotlivé objekty do dalších analýz vstupují jakožto konfigurace vytvořené zprůměrováním konfigurací originálních a jejich zrcadlových kopií. Tyto konfigurace, a tedy i konsenzuální konfigurace, jsou ze své podstaty dokonale symetrické (Klingenberg et al., 2002).

2.2.2 Asymetrie a vývojová nestabilita

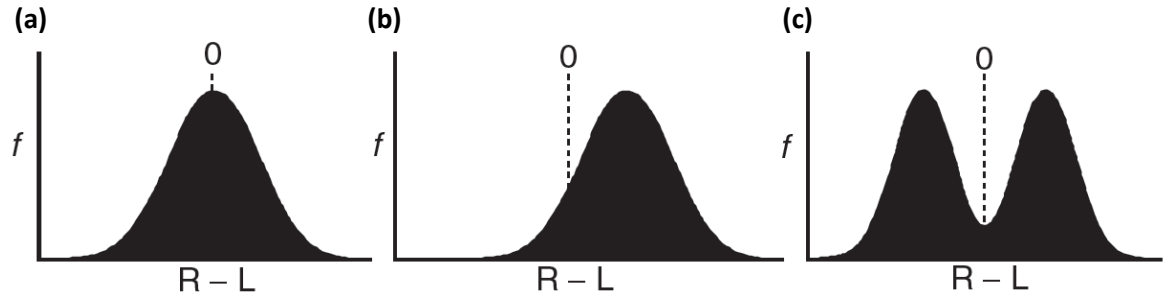
Analýzy asymetrie pracují s představou, že jelikož vzájemně si odpovídající části na levé a pravé straně bilaterálně symetrických struktur živých organismů sdílejí tentýž genom a jsou vystaveny týmž vnějším podmínkám, mělo by u nich v idealizovaném případě v rámci plně deterministické ontogeneze docházet k identickým morfologickým změnám, následkem čehož by byly svými zrcadlovými obrazy (Klingenberg, 2003). V živých organismech však v rámci individuální ontogeneze dochází k drobným náhodným výkyvům, označovaných jako vývojový šum, vedoucím k deviaci od tohoto idealizovaného systému (McAdams & Arkin, 1999). Schopnost organismu odolávat tendenci k morfologickým změnám způsobených těmito vlivy jsou označovány za vývojovou stabilitu. Naopak pokud u organismu dochází k morfologickým změnám vlivem tohoto vývojového šumu, jsou tyto změny interpretovány jako vývojová nestabilita (Klingenberg & Nijhout, 1999).

V analýzách tvarové variability bilaterálně symetrických objektů představuje asymetrie rozdíl mezi jejich levou a pravou stranou. V rámci celkové asymetrie lze však u souborů více objektů dále rozlišovat rozdíly systematické, označované jako direkční asymetrie, a rozdíly dané individuální variabilitou, nazývané fluktuační asymetrie. Podle rozdělení rozdílů mezi levou a pravou stranou je tradičně vedle unimodální fluktuační a direkční asymetrie rozlišován ještě třetí typ asymetrie, jímž je bimodální antisymetrie (Obr. 3) (Bookstein, 2018; Graham et al., 1993; Palmer & Strobeck, 1986; Valen, 1962).

Direkční asymetrie u bilaterálně symetrických objektů vyjadřuje průměrnou asymetrickou deviaci od perfektně symetrického tvaru. Jedná se o systematickou asymetrii mezi jeho stranami, vyjádřenou jako průměrné individuální odchylky mezi levou a pravou stranou (případně rozdíl mezi průměrnou levou a pravou stranou). Rozdíly mezi levou a pravou stranou mají v souboru unimodální rozdělení, jehož průměr je nenulový (Graham et al., 1993; Palmer & Strobeck, 1986; Valen, 1962). U tvarových dat představuje direkční asymetrii vektor rozdílů souřadnic znázorňující průměrnou změnu tvaru mezi levými a pravými stranami objektu. Velikost tohoto vektoru je dána prokrustovskými vzdálenostmi

průměrných tvarů levých a pravých stran. Jeho směr je dán relativními velikostmi a směrem posunů jednotlivých landmarků (Klingenberg, 2015).

Takový typ asymetrie, kdy je soubor tvořen objekty s direkční asymetrií v obou směrech, tedy objekty vykazují direkční asymetrii buď doleva nebo doprava, se nazývá antisymetrie. Rozdíly levých a pravých stran objektů mají v idealizovaném případě bimodální, případně platykurtické rozdělení s průměrem rovným nule (Graham et al., 1993; Palmer & Strobeck, 2003; Valen, 1962). Antisymetrie je zpravidla obtížné demonstrovat pomocí geometrické morfometriky, neboť je-li efekt antisymetrie slabý, k čemuž dochází v případě, kdy jsou projevy asymetrií malé, nemusí být bimodální rozdělení odchylek zřejmé, a může se tak jevit jako fluktuační asymetrie (Klingenberg, 2015; Palmer, 2005; Palmer & Strobeck, 1986).



Obr. 3 Frekvence (*f*) rozdělení rozdílů pravých (*R*) a levých (*L*) stran u tří typů asymetrie. (a) Fluktuační asymetrie s unimodálním rozdělením o průměru (R – L) = 0. (b) Direkční asymetrie s unimodálním rozdělením o průměru (R – L) ≠ 0. (c) Antisymetrie s bimodálním rozdělením o průměru (R – L) = 0. Převzato z Palmer (2005).

Fluktuační asymetrie vyjadřuje drobné odchylky individuální asymetrie objektu od průměrné asymetrie (Klingenberg, 2003; Palmer & Strobeck, 1986). Rozdíly levých a pravých stran v souboru mají taktéž unimodální rozdělení, ale průměrem je nula (Graham et al., 1993; Valen, 1962). V literatuře je fluktuační symetrie běžně považována za projev vývojové nestability v rámci individuální ontogeneze. Řada studií vychází z předpokladu, že stresové či jiné nepříznivé podmínky či nižší celková fitness organismu vede k vyššímu stupni vývojového šumu, který se navenek projeví jako fluktuační asymetrie (Klingenberg & McIntyre, 1998; Møller & Swaddle, 1997; Palmer, 1994; Palmer & Strobeck, 1986). Vývojovou nestabilitu je však obtížné odhalit pouze na základě fluktuační asymetrie, která je pouhým projevem jiných biologických procesů. Ačkoliv se vývojová nestabilita významně na náhodné variabilitě podílí, individuální odchylky asymetrie mohou být zapříčiněny i jinými faktory, zejména náhodnými podmínkami prostředí (Klingenberg, 2015; Palmer & Strobeck, 2003).

3 Materiál a metody

3.1 Struktura odběrů

Receptakula byla odebrána *in situ* ze samičích rostlin *Fucus serratus* v horním sublitorálu celkem na 8 lokalitách, 4 v každém ze dvou regionů. Jako region bylo vybráno jednak pobřeží dánského ostrova Bornholm ležícího v jihozápadní části Baltského moře, jednak pobřeží v okolí švédského Göteborgu situovaného u průlivu Kattegat, který vymezuje hranici mezi Baltským mořem a Atlantikem (HELCOM, 1992). Tyto regiony byly vybrány jakožto oblasti ohraničující rozšíření druhu *F. serratus* v rámci Baltského moře, které zároveň reflektují jeho gradient salinity. Povrchová salinita vody v těchto regionech činí zhruba 7,5 psu u pobřeží Bornholmu a 14,8–15,8 psu u pobřeží Göteborgu (HELCOM, 2026). Rostliny *F. serratus* byly odebrány na čtyřech lokalitách na východním pobřeží ostrova Bornholm mezi 28. a 30. říjnem 2024 a na čtyřech lokalitách podél pobřeží jižně od Göteborgu mezi 12. a 13. zářím 2025. Rostliny byly touto dobou již za vrcholem letního vegetačního období. Na marginálních částech stélek byla již plně vyvinutá a „dozrálá“ receptakula. U konceptakul došlo již k částečnému či úplnému vypuštění gamet, zároveň však dosud nepočala degradace receptakul.

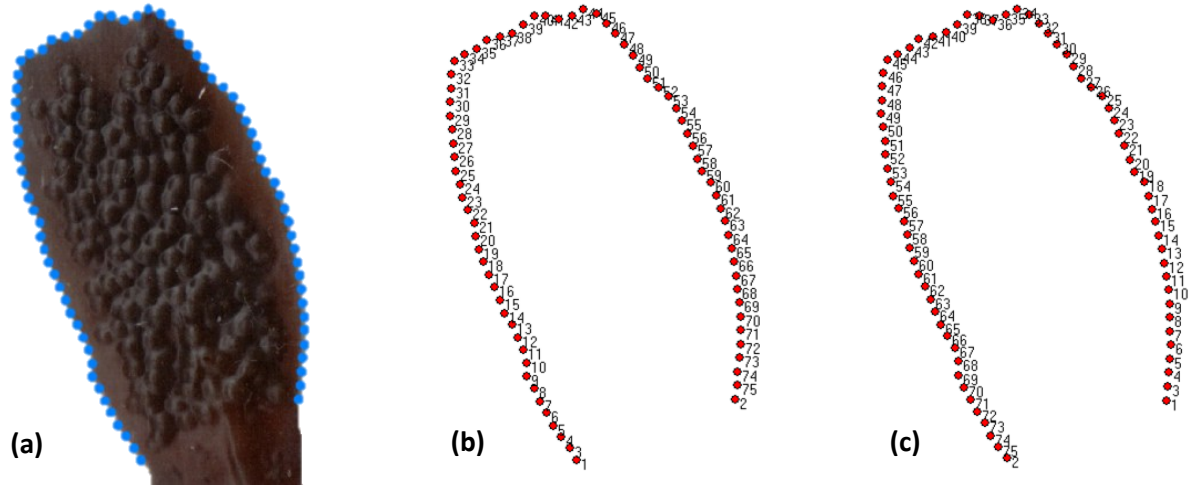
Vzdálenost mezi lokalitami v rámci jednotlivých regionů činila nejméně 2 km. Na každé lokalitě byly v hloubce cca 1,5 m na ploše o rozloze 5 × 5 m odebrány 4 dostatečně vzrostlé rostliny s vytvořenými receptakuly. Z každé rostliny byly následně odebrány 4 větvičky zakončené dvěma páry receptakul, tedy terminální čtveřicí receptakul. Na stanovené ploše byly rostliny vybrány náhodně, avšak s přihlédnutím k vybalancovanému hierarchickému designu odběrů. Rostliny se stélkou poškozenou herbivorií, příbojem či jinými disturbancemi nebo rostliny, kde nedošlo u všech terminálních částí stélky k formaci receptakul, byly do experimentu zahrnuty, pakliže tyto okolnosti nebyly v rozporu s vybalancovaným designem. Tedy rostliny byly zahrnuty, bylo-li na nich možné náhodně odebrat 4 větvičky zakončené dvěma páry nepoškozených receptakul.

Z každé ze 32 rostlin byly odebrány 4 větvičky, každá zakončená dvěma vidličkami tvořenými párem receptakul. Dohromady tedy bylo odebráno 512 receptakul ze 128 větviček z 32 rostlin z 8 lokalit ve 2 regionech.

3.2 Sběr a digitalizace dat

Konce větviček nesoucí receptakula byly ustřiženy, orientovány středním žebrem vzhůru a přitištěné na savém papíru naskenovány pomocí přenosného skeneru Doxie Flip při rozlišení 600 DPI (Olsen et al., 2023). Snímky byly pořízeny z čerstvě odebraných rostlin, aby bylo předejito potenciálním tvarovým změnám z důvodu vysychání stélky (Klingenberg, 2015). Vnější obrysy receptakul byly následně digitalizovány pomocí programu tpsDig2 ver. 2.32 (Rohlf, 2015).

Prvním krokem digitalizace bylo označení dvou pevných landmarků lokalizovaných na obvodu naskenovaného vrcholku stélky kolmém na spodní okraj receptakula daný hranicí mezi konceptákuly a vegetativní částí stélky. Mezi těmito landmarky byla následně nástrojem *draw background curves* vyznačena křivka o 75 semilandmarcích ekvidistantně rozložených po vnějším obrysu receptakula (Obr. 4a). Souřadnice prvního a posledního bodu této křivky byly identické se dvěma pevnými landmarky. Tyto pevné landmarky sloužily k ukotvení křivky, ve výsledném datasetu by však jejich souřadnice byly uměle zdvojeny, a tak byly následně z datasetu odebrány. Při digitalizaci fotografií jsou souřadnice landmarků ukládány postupně, proto je dodržovat stejnou posloupnost umisťování landmarků u každého objektu. Veškerá informace o tom, které body struktury jsou si homologní, je totiž pro analýzy uložena v pořadí souřadnic v textovém (TPS či NTS) souboru.



Obr. 4 Ukázka digitalizace receptakul, posloupnosti a přeznačení landmarků. (a) Fotografie receptakula *F. serratus* s digitalizovanými ekvidistantními landmarky. (b) Posloupnost značení první digitalizace. (c) Posloupnost značení druhé digitalizace před přeznačením. Po přeznačení je pořadí čísel identické jako v (b). Landmarky na pozicích 1 a 2 byly během digitalizace použity pro ukotvení křivky.

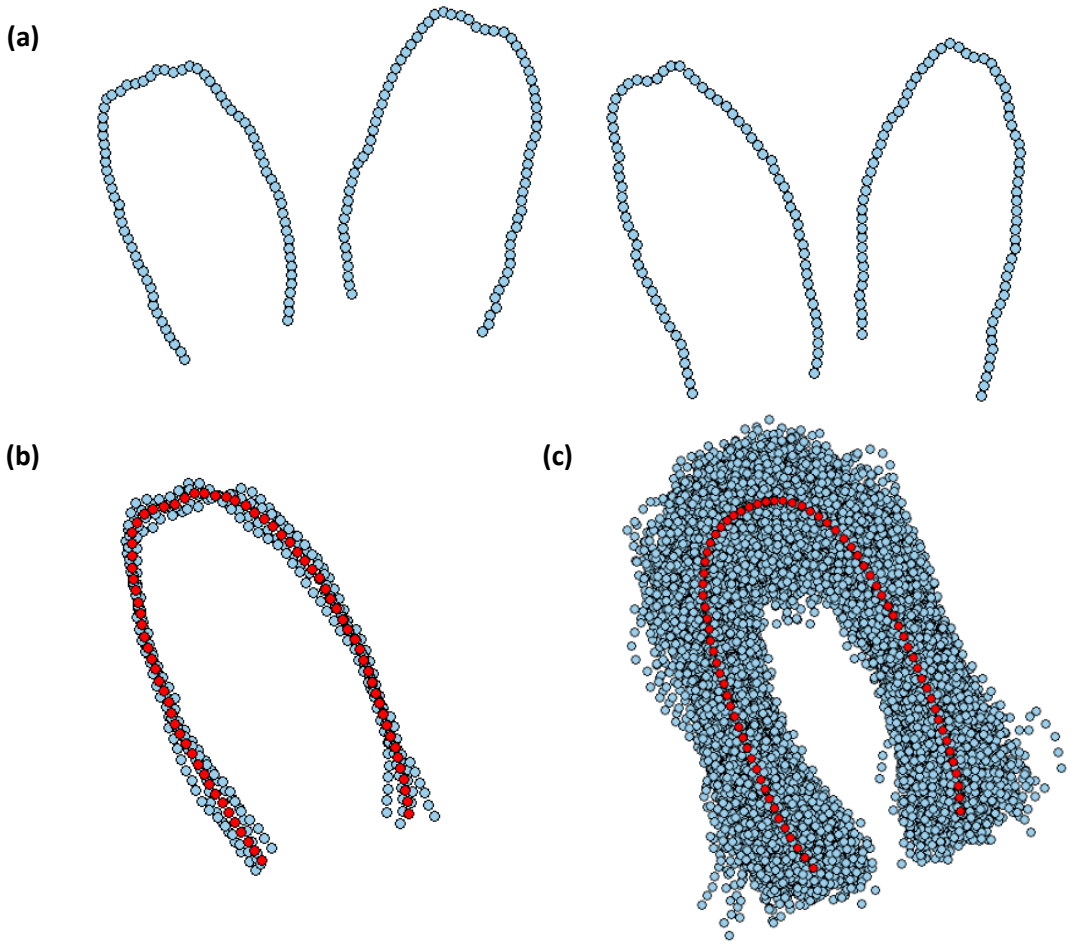
Receptakula byla digitalizována ve dvou kopiích z důvodu korektní kvantifikace efektu digitalizační chyby na pozorovanou tvarovou variabilitu (Neustupa & Nemcova, 2022; Savriama & Gerber, 2018). První digitalizace byla provedena po směru hodinových ručiček (Obr. 4b) a druhá proti směru hodinových ručiček (Obr. 4c). Aby byla zachována korespondence landmarků, byla druhá digitalizace přeznačena tak, aby jednotlivá pořadí bodů odpovídala pořadím bodů první digitalizace. V případě 75 bodů, z nichž však první dva sloužily jako body kotvící začátek a konec křivky, byly vzájemně přeznačeny nejdříve body 1 a 2 a následně body 3 a 75, 4 a 74 atd. viz. Obr. 4 (Klingenberg et al., 2002; Mardia et al., 2000) Korespondence bodů je dána posloupností jejich souřadnic v textovém souboru, přeznačení je tedy zajištěno změnou pořadí těchto souřadnic. Výsledný dataset pro prokrustovskou hierarchickou analýzu variance tedy sestával z 512 × 2 = 1024 konfigurací obrysů určených dvourozměrnými souřadnicemi 75 bodů.

V rámci této diplomové práce se vedle výzkumu tvarové variability mezi receptakuly zaměřuji také na dynamiku symetrie a asymetrie mezi levou a pravou polovinou receptakul, tzv. *object symmetry*. Při analýzách konfigurací vyznačujících se tímto typem symetrie je tvarová variabilita rozdělena na symetrickou a asymetrickou složku. Do prokrustovské superimpozice zde vstupuje soubor originálních konfigurací a jejich transformovaných a přeznačených kopií. V případě bilaterální symetrie jde pouze o transformaci reflexe – zrcadlená kopie je vytvořena změnou znaménka *x* souřadnic bodů konfigurací. Tato kopie je následně přeznačena tak, aby čísla bodů odpovídaly příslušným transformovaným souřadnicím původní konfigurace, a byla tak zachována homologie bodů (Dryden & Mardia, 2016).

Pro analýzy symetrie v rámci receptakula byl proto vytvořen zdvojnásobený dataset složený z originálních konfigurací a jejich zrcadlových kopií vytvořených reflexí originálních konfigurací podle osy bilaterální symetrie a jejich přeznačením. Tento dataset tedy sestává celkem z $512 \times 2 \times 2 = 2048$ konfigurací. Pro potřeby analýzy tvarové variability párů receptakul dle vzájemných pozic v terminálních čtveřicích byl vytvořen soubor reprezentující symetrickou složku variability. K tvorbě tohoto souboru byl využit soubor 2048 konfigurací pro analýzy *object symmetry*. Originální konfigurace a jejich zrcadlové kopie byly zprůměrovány, výsledkem čehož byl soubor 1024 symetrizovaných konfigurací (Klingenberg et al., 2002; Neustupa & Nemcova, 2022).

3.3 Prokrustovská superimpozice (GPA)

Veškeré morfometrické analýzy pracují s prokrustovskými souřadnicemi. Prvním krokem prokrustovské analýzy je superimpozice souřadnicových dat konfigurací vzájemně si odpovídajících objektů. Té je docíleno pomocí transformace škálování, posunutí a rotace (Obr. 5). Nejprve je vypočten tzv. centroid těchto konfigurací. Ten je roven průměru párů karteziánských souřadnic jejich landmarků. Velikost jednotlivých konfigurací je následně uniformována, zvětšena či zmenšena tak, aby se součet druhých mocnin význačných bodů (landmarků) od jejich centroidu rovnal jedné. Nakonec je provedena superimpozice centroidů a rotace jedné konfigurace vůči druhé minimalizováním výsledného součtu druhých mocnin vzdáleností mezi vzájemně si odpovídajícími význačnými body. (Smith et al., 1997). U souborů s více než dvěma konfiguracemi se využívá algoritmus *generalised Procrustes analysis* (GPA), který funguje jako rekurzivně opakovaná prokrustovská analýza. Nejprve jsou všechny konfigurace transformovány podle jedné, zpravidla první konfigurace, jsou přeškálovány, aby jejich centroidová velikost byla rovna jedné a je vypočítána průměrná konsenzuální konfigurace této superimpozice. Následně je provedena další superimpozice, tentokrát však podle konsenzuální konfigurace vytvořené v předešlém kroku, a je vypočítána nová konsenzuální konfigurace. Tento postup je opakován tak dlouho, dokud není konsenzuální konfigurace neměnná (Dryden & Mardia, 2016; Goodall, 1991; Gower, 1975; Klingenberg, 2015).



Obr. 5 Ukázka GPA na jedné čtveřici receptakul (a, b) a celého souboru 512 receptakul (c). (a) Konfigurace před GPA. (b, c) Konfigurace po GPA (červeně znázorněny konsenzuální konfigurace).

Výsledné souřadnice landmarků jednotlivých konfigurací, které získáme prokrustovskou superimpozicí, jsou tedy rovné odchylkám souřadnic jednotlivých landmarků od odpovídajících landmarků konsenzuální konfigurace. Těmto souřadnicím se říká prokrustovské (nebo též tvarové) souřadnice (Bookstein, 2018). Hodnoty prokrustovských souřadnic nesou čistě informaci o tvaru jedince, který může být shrnut následnými mnohorozměrnými analýzami.

Přestože souřadnice semilandmarků jsou ovlivněny zažitou konvencí, typicky jejich ekvidistantním rozmístěním podél hladké křivky, a jejich přesná pozice je ovlivněna pozicí sousedních semilandmarků a ne striktně anatomickou homologií bodů (Zelditch et al., 2012), proces klouzání semilandmarků, který cílí na to tento aspekt redukovat, sám vnáší do souřadnicových dat umělou variabilitu vytvářením tvarových dat, která neodpovídají skutečným přírodním pozorováním, umožněním posunu souřadnic semilandmarků mimo původní křivku obrysu struktury (MacLeod, 2013). Proces klouzání zároveň, dokud je zvolen dostačující počet semilandmarků k věrné reprezentaci tvaru křivky, nevede zpravidla k významným úpravám souřadnic bodů křivky (MacLeod, 2017; Neustupa & Nemcova, 2018). Z tohoto

důvodu byly v rámci této diplomové práce semilandmarky určené svým ekvidistantním rozmístěním podél křivky receptakul a nebyly dále vystaveny procesu klouzání, tedy do analýz vstupovaly jako landmarky (Neustupa & Nemcova, 2018).

Všechny superimponované konfigurace obývají týž *Kendallův tvarový prostor*. Jde o mnohorozměrný prostor daný souřadnicemi objektů upravených prokrustovskou procedurou, v němž jsou zahrnuty veškeré možné tvary konfigurací. Vzdálenosti bodů v tomto prostoru odpovídají prokrustovským vzdálenostem jednotlivých tvarů. Jelikož tento prostor obsahuje veškeré možné konfigurace, každá z konfigurací datasetu v něm má přesné místo, které je dané prokrustovskými vzdálenostmi od ostatních konfigurací (Klingenberg, 2015)

Jelikož tvarové změny biologických dat jsou poměrně malé v porovnání s tvarovými změnami v celém tomto prostoru, a tedy koncentrované jen v jeho malé části, lze tuto část prostoru lokálně aproximovat pomocí lineárního tangenciálního prostoru (Dryden & Mardia, 2016; Goodall, 1991; Marcus et al., 2000). Průměrný tvar (konsenzuální konfigurace) z předcházející GPA představuje tečný bod Kendallova tvarového prostoru a tohoto tangenciálního prostoru. Na rozdíl od zakřiveného tvarového prostoru představuje tangenciální prostor rovina, čímž umožňuje využití standartních statistických metod (Klingenberg, 2015; Savriama & Gerber, 2018). Body reprezentující jednotlivé konfigurace v tvarovém prostoru jsou promítány do tangenciálního prostoru a eukleidovské vzdálenosti mezi nimi jsou velmi blízké prokrustovským vzdálenostem tvarů příslušných konfigurací (Dryden & Mardia, 2016; Marcus et al., 2000). GPA a její tangenciální projekce tak představují věrnou aproximaci relativního uspořádání dat v jinak komplexním tvarovém prostoru. (Klingenberg, 2015)

3.4 Vizualizace tvarových změn

Tvarové změny mezi konfiguracemi, ať již pocházejících z konkrétních přírodních pozorování nebo extrapolované z Kendallova tvarového prostoru vypočítaného z naměřených pozorování, lze vizualizovat několika možnými způsoby. Nejjednodušším, ale zároveň nejméně názorným je prosté promítnutí bodů referenční a cílové konfigurace nad sebe. Pro snadnější čitelnost posunu jednotlivých bodů pak slouží zobrazení druhé – pomocí vektorů, ukazujících jak směr, tak velikost posunutí. Třetí metodou, která je v současné morfometrice hluboce zakořeněna, je využití transformačních mřížek pomocí metody TPS (z angl. *Thin-plate spline*) (Bookstein, 1989, 1992).

Inspirací pro tuto metodu byly transformační mřížky vytvořené počátkem 20. století D'Arcy Thompsonem v jeho rozsáhlé eseji *On Growth and Form* (1917), ve které na kresbách zvířat či jejich částí znázorňoval tvarovou změnu pomocí jednoduchých víceméně uniformních deformací pravidelné mřížky jakožto projev jakéhosi „systému sil". Thompson znázorňoval transformace obrysů mezi dvěma kresbami a jeho mřížky byly značně zjednodušeným a mnohdy nepřesným znázorněním tvarových změn, a neslouží tak jako základ pro žádné současné metody v geometrické morfometrice (Bookstein, 2018; Medawar, 1944; Sokal & Sneath, 1963). Protože však transformační mřížky D'Arcyho

Thompsona názorně poskytovaly potenciální interpretace tvarových změn, byla v jejich duchu pro analytické modelování a vizualizace Fredem Booksteinem (1989, 1992) vytvořena matematická funkce *thin-plate spline* (TPS), která dala základ výše zmíněné stejnojmenné metodě. Tato funkce pracuje s metaforou teoretické nekonečně tenké a ohebné kovové vrstvy, na níž můžeme vykreslit body referenční konfigurace a jejíž následnou deformací získáme konfiguraci cílovou. Referenční (zpravidla konsenzuální) konfigurace je pro názornost zobrazena na mřížce tvořené pravidelnými čtverci. Po transformaci v cílovou konfiguraci dostaneme spolu s ní také transformovanou mřížku, jejíž křivky jsou postupně posunuty a deformovány ve směrech posunutí každého landmarku. Tam, kde se od sebe mezi referenční a cílovou konfigurací landmarky oddalují, tedy se konfigurace „natahuje“, se natahuje také mřížka. Naopak tam, kde se landmarky přibližují, se mřížka smršťuje. V závislosti na míře lokalizace efektu deformace jsou křivky transformované mřížky více či méně nepravidelně nahuštěné (Bookstein, 1992, 2014; Dryden & Mardia, 2016).

3.5 Analýza relativních deformací (RWA)

Na rozdíl od idealizovaných příkladů D’Arcyho Thompsona jsou tvarové změny přírodních struktur znázorňované v transformačních mřížkách mnohem komplexnější (Bookstein, 2018; Sokal & Sneath, 1963). Diagramy mřížek takových konfigurací ukazují, že tvarové změny nejsou uniformní, ale že jsou tvořeny kombinací různých deformací, které se navíc v různých částech mřížky liší (Mardia et al., 1979). Tvarové změny samotných transformací (jejich parciálních deformace) tak nejde ve své komplexnosti redukovat do jednoduchého slovního popisu (Bookstein, 2018).

Protože se konfigurace srovnané GPA nacházejí v mnoharozměrném tvarovém prostoru (počet rozměrů je pro konfigurace dvourozměrných souřadnic roven dvojnásobku počtu landmarků mínus čtyři, v tomto případě tedy 146), používá se k efektivnímu shrnutí trendů tvarových změn analýza hlavních komponent (PCA). Při té dochází k rozkladu celkové tvarové variability na dílčí lineární tvarové trendy (Klingenberg, 2015). Většina variability datového souboru je zpravidla vysvětlena jen několika málo PC osami, zatímco většina os zodpovídá za zanedbatelné množství variability. Komplexní variabilita tak může být detailněji prozkoumána a pro jednodušší interpretaci redukována pouze na několik nejvýznamnějších PC os (Klingenberg & McIntyre, 1998; Mardia et al., 1979).

Hlavní komponenty tvarových dat mohou být také označovány jako relativní deformace („warpy“) (Bookstein, 1992). Toto označení vychází z alternativní metody k PCA – analýzy relativních deformací (RWA, z angl. *Relative warp analysis*). Tato metoda je jakousi nadstavbou klasické PCA, rozšiřující ji o možnost popisovat neafinní tvarovou variabilitu v případě, že jsou hlavním předmětem zájmu výzkumu efekty na velkém či naopak malém měřítku (Dryden & Mardia, 2016). Na velkém měřítku umožňují relativní deformace zdůraznit variabilitu skrze PCA s ohledem k matici deformační energie (BE), zatímco variabilitu na malém měřítku skrze PCA s ohledem k inverzní matici deformační energie.

V případě, že je PCA relativních deformací provedena s ohledem k jednotkové matici, pak je totožná s klasickou PCA prokrustovských tangenciálních souřadnic (Bookstein, 1996; Dryden & Mardia, 2016).

3.6 Prokrustovská hierarchická analýza variance (ANOVA)

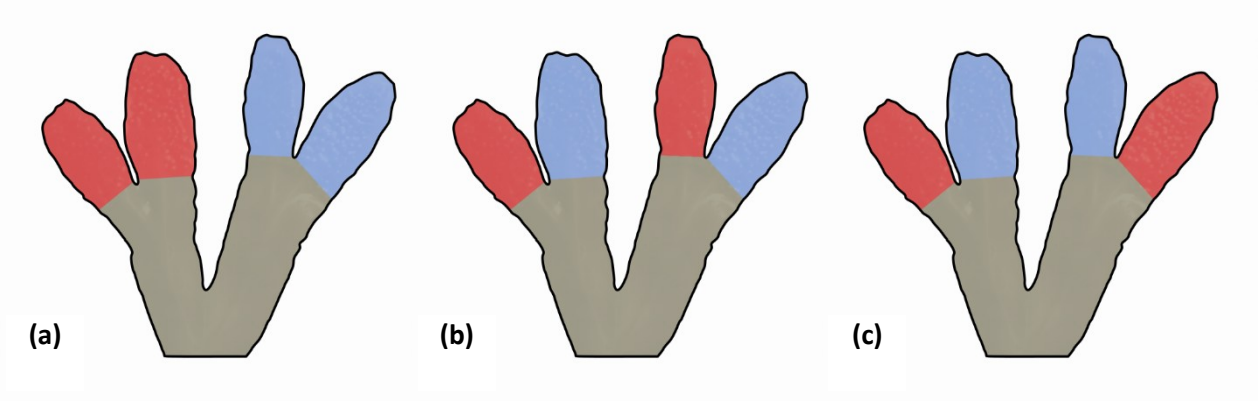
Prokrustovské vzdálenosti jsou během prokrustovské superimpozice vypočítány jako součty druhých mocnin vzdáleností mezi landmarky. Jsou tak kompatibilní se sumami čtverců využívanými v klasických analýzách variance (ANOVA), díky čemuž jsou v morfometrických studiích hojně využívány. Prokrustovská ANOVA umožňuje rozdělit tvarovou variabilitu, tedy variabilitu landmarkových konfigurací souřadnic srovnaných pomocí GPA (tzv. prokrustovské reziduály), na jednotlivé složky, podobně jako tradiční ANOVA (Goodall, 1991; Klingenberg, 2015; Klingenberg et al., 2002; Klingenberg & McIntyre, 1998). K odhadu pravděpodobností nulových hypotéz předpokládajících absenci vztahu mezi tvarovou variabilitou a jednotlivými faktory byl zvolen permutační test, který nepředpokládá normální rozdělení a není ovlivněn vysokou mnohorozměrností tvarových dat (Anderson, 2017; Cardini et al., 2015; Neustupa & Nemcova, 2022).

3.6.1 Tvarová variabilita receptakul

Celková tvarová variabilita receptakul byla rozdělena za pomoci prokrustovské analýzy variance (Klingenberg et al., 2002). Pro kvantifikaci poměrného vlivu regionu, populace, rostliny, větvičky a jednotlivého receptakula byla použita hierarchická prokrustovská PERMANOVA, do níž region vstupoval jako hlavní a populace, rostlina, větvička a receptakulum jako zahnízděné efekty. Pro ověření nenáhodnosti vlivu efektů byl proveden permutační test o 9999 permutacích. Jelikož faktory populace, rostlina, větvička a receptakulum byly zahnízděné ve faktorech na vyšších úrovních hierarchické struktury, musely být testová kritéria (F hodnoty) faktorů, v nichž byly zahnízděné, adekvátně upravena. Pro správný výpočet F hodnoty faktoru musely být upraveny jejich chybové členy. Ve jmenovateli rovnic pro výpočet F hodnot faktorů tak, namísto residuálních průměrných čtverců (MS_{res}), byly použity průměrné čtverce (MS) faktorů v daných efektech zahnízděných, tedy ležících v hierarchické struktuře designu o jednu úroveň níže. Chybovým členem faktoru region byl tedy MS faktoru populace, chybovým členem pro faktor populace MS faktoru rostlina. Obdobně bylo postupováno až po faktor receptakulum, jehož chybovým členem byly MS_{res} (Klingenberg & McIntyre, 1998; Neustupa & Nemcova, 2022; Viscosi, 2015).

3.6.2 Vzory poziční symetrie v rámci větvičky

Tvarová analýza receptakul v závislosti na pozici receptakula v rámci větvičky byla zaměřena na tvarovou variabilitu mezi kombinacemi dvojicí pozic ve větvičce. Pro tuto analýzu byla použita symetrická složka variability receptakul (Neustupa & Nemcova, 2022). Symetrická složka vyjadřuje variabilitu mezi jednotlivými objekty a získá se zprůměrováním původní kopie objektu a jeho kopie, která prošla transformacemi příslušné grupy symetrie a přeznačením. Pro každou landmarkovou konfiguraci byla tedy vytvořena reflektovaná a přeznačená kopie, jejichž zprůměrováním vznikla symetrizovaná konfigurace, která byla použita pro další analýzu (Klingenberg et al., 2002). Na datovém souboru symetrizovaných konfigurací byla provedena prokrustovská PERMANOVA o 9999 permutacích.



Obr. 6 Možné kombinace pozic párů receptakul v terminální větvičce. (a) Bilaterální symetrie 1. (b) Bilaterální symetrie 2. (c) Marginální symetrie.

V analýze byl testován vliv kombinací pozic párů receptakul v rámci čtveřice ve větvičce (Obr. 6). Páry receptakul byly označeny písmeny A a B a jejich relativní pozice v rámci větvičky byly kódovány jako samostatné faktory. Prvním faktorem, pojmenovaným bilaterální symetrie 1 (BS 1, Obr. 6a), byly porovnávány dvojice receptakul tvořené terminálními vidličkami, tedy pozice 1 a 2 s dvojicí 3 a 4. Druhým faktorem, pojmenovaným bilaterální symetrie 2 (BS 2, Obr. 6b), byly porovnávány receptakula na levých pozicích ve vidličkách (pozice 1 a 3) s receptakuly na pravých pozicích (pozice 2 a 4). Třetím, posledním faktorem, pojmenovaným marginální symetrie (MGS, Obr. 6c), pak byly porovnávány receptakula na vnějších pozicích čtveřice (pozice 1 a 4) s receptakuly ne vnitřních pozicích (pozice 2 a 3).

3.6.3 Tvarová symetrie receptakul

Odchylky prokrustovských souřadnic od konsenzuální konfigurace mohou být rozloženy na komponenty symetrické a asymetrické variability. Asymetrická složka vyjadřuje rozdíl mezi originální konfigurací a její transformovanou a přeznačenou kopií a může být dále rozložena na složky direkční a fluktuační asymetrie (Savriama et al., 2012; Savriama & Klingenberg, 2011).

Variabilita na úrovni receptakula byla rozložena na vliv efektů receptakula, reflexe a jejich interakce. Efekt receptakula reprezentuje symetrickou tvarovou variabilitu mezi receptakuly (např. některá jsou delší), efekt reflexe vyjadřuje direkční asymetrii v rámci receptakula (systematickou deviaci mezi jeho stranami) a interakce receptakulum × reflexe vyjadřuje fluktuační asymetrii (individuální deviace asymetrie od průměrné celkové asymetrie). Chyba měření je vyjádřena variabilitou mezi replikáty (digitalizace). K testování tvarové variability v rámci receptakul byla provedena prokrustovská obousměrná PERMANOVA se smíšenými efekty o 9999 permutacích (Klingenberg & McIntyre, 1998; Savriama & Klingenberg, 2011).

3.7 Software

GPA souřadnicových dat, PCA, hierarchická PERMANOVA napříč receptakuly, prokrustovská PERMANOVA poziční symetrie v rámci větviček a prokrustovská PERMANOVA v rámci receptakul byly provedeny v programu R ver. 4.5.3 pomocí funkcí z balíčku geomorph ver. 4.1.0 (Adams et al., 2026). GPA byly provedeny za pomoci funkce *gpagen*.

Vstupními daty pro PCA byl datový soubor jedné digitalizace, tedy 512 konfigurací, aby zdvojení souřadnicových dat zahrnutím replikátů nevnášelo do analýz zbytečný šum. Na těchto datech byla provedena PCA pomocí funkce *gm.prcomp*. Vstupními daty pro hierarchickou PERMANOVA mezi receptakuly byl z důvodu korektní kvantifikace a testování vlivu chyby měření použit soubor s dvojí digitalizací, tedy sestávající z 512 × 2 = 1024 konfigurací. Pro prokrustovskou PERMANOVA vzorů poziční symetrie v rámci větvičky (čtveřice receptakul) byl použit soubor dvojí digitalizace symetrizovaných receptakul, vytvořený zprůměrováním originálních a reflektovaných a přeznačených kopií, sestávající taktéž z 512 × 2 = 1024 symetrizovaných konfigurací receptakul. Pro prokrustovskou PERMANOVA *object symmetry* v rámci receptakul byl použit soubor s dvojí digitalizací a reflektovanými a přeznačenými kopiemi, sestávající z 512 × 2 × 2 = 2048 konfigurací. Nakonec, pro prokrustovskou PERMANOVA *object symmetry* dle relativní pozice ve čtveřici byly byl použit tentýž soubor s dvojí digitalizací a reflektovanými a přeznačenými kopiemi sestávající z 2048 konfigurací, jenž byl rozdělen na čtyři dílčí soubory o 128 × 2 × 2 = 512 konfiguracích, které byly před analýzou podrobeny vlastní GPA. Tyto čtyři analýzy byly provedeny pomocí funkce *procD.lm*. V hierarchické PERMANOVA mezi receptakuly a prokrustovských PERMANOVA *object symmetry* byla provedena korekce chybových členů pro výpočet F hodnot.

Efekt regionu hierarchické PERMANOVA mezi receptakuly byl následně podroben LDA v programu PAST ver. 5.3 (Hammer et al., 2001). Permutační test LDA byl proveden a transformační mřížky tvarových změn podél výsledné osy byly vizualizovány v programu tpsRegr ver. 1.50 (Rohlf, 2015).

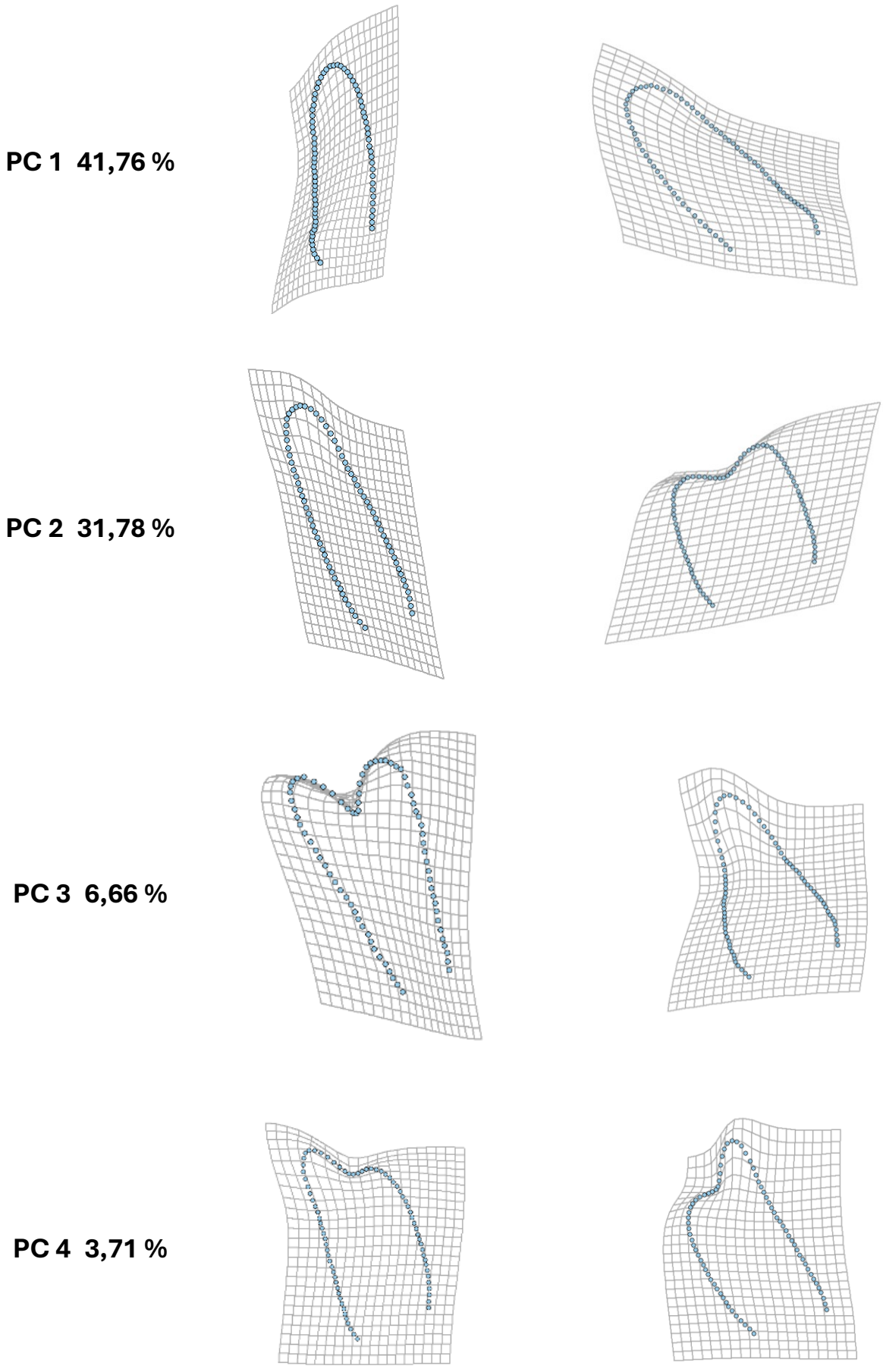
4 Výsledky

4.1 Analýza hlavních komponent (PCA)

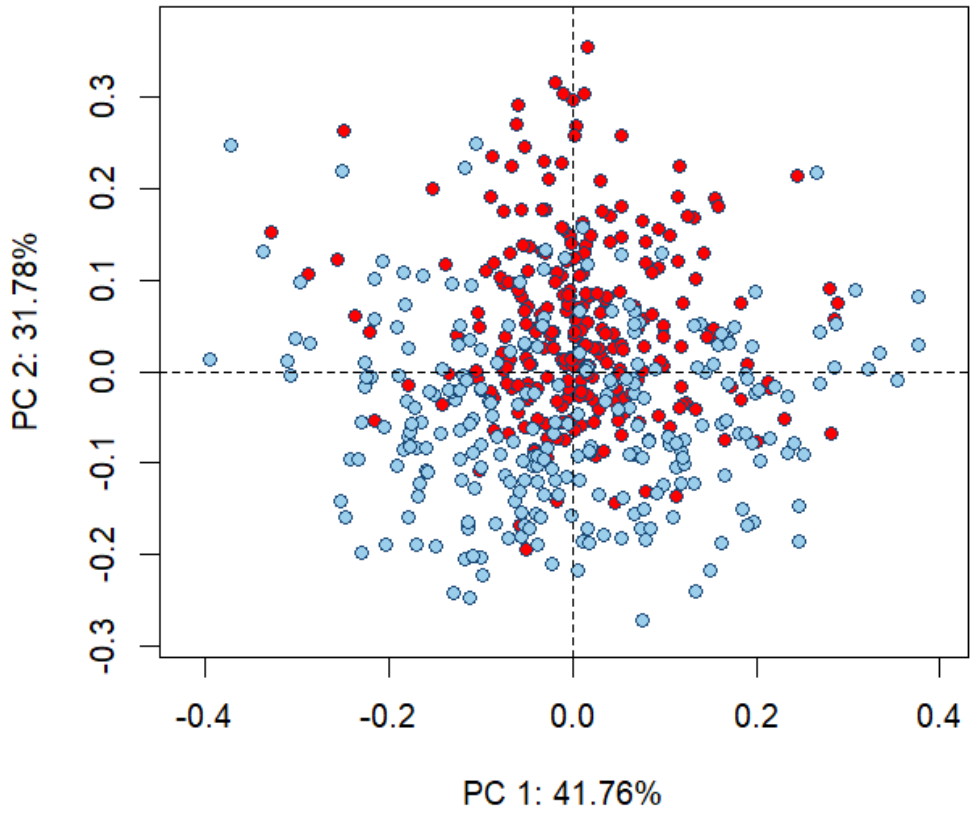
Mnohorozměrný tvarový prostor lze popsat pomocí hlavních trendů, podle nichž dochází v souboru ke změnám tvar. Tyto trendy byly kvantifikovány pomocí analýzy hlavních komponent (PCA). Vstupním souborem pro PCA byl datový soubor jedné digitalizace sestávající z 512 konfigurací souřadnic srovnaných pomocí GPA. K vizualizacím tvarových změn byly vytvořeny transformační mřížky extrémů nejvýznamnějších PC os pomocí funkce TPS.

Analýza hlavních komponent odhalila, že většina tvarové variability datového souboru, celkem 73,54 %, je koncentrována do prvních dvou PC os, třetí až osmá osa vysvětlují řádově jednotky procent a zbylých 142 os méně než jedno procento variability. Transformační mřížky hlavních komponent byly vytvořeny v R pomocí funkce *plotRefToTarget* z balíčku geomorph (Adams et al., 2026). Tvarovým trendem podél první osy, popisující 41,76 % variability, bylo v jednom směru zkosení doprava, ve druhém zkosení doleva. V obou směrech zkosení doprovázelo částečné protažení a ztenčení celkového tvaru receptakula a zahnutí jeho špičky ve směru opačnému jeho zkosení. V mezních bodech druhé osy, popisující 31,78 % variability, pak bylo možné pozorovat na jedné straně receptakula symetricky podélně protažená a zúžená, zatímco na straně druhé byla receptakula celkově zkrácená, rozšířená a vykazující charakteristický zářez (Obr. 7). Pro hlubší exploraci toho, zdali se od sebe v míře či projevu hlavních tvarových trendů odlišují oba regiony, byly datové body vyneseny do bodového grafu na prvních dvou PC osách.

Z bodového grafu prokrustovských reziduálů celkového datasetu podél os prvních dvou hlavních komponent, vyjadřujících 41,78 % a 31,78 %, je patrné, že datové body jednotlivých regionů se ve tvarových trendech vyjádřených osami těchto hlavních komponent odlišují. Pro podrobnější prozkoumání a kvantifikaci těchto odchylek vlivem regionu a dalších proměnných byla následně provedena prokrustovská PERMANOVA.



Obr. 7 Deformační mřížky znázorňující nejvýznamnější tvarové trendy vysvětlené hlavními osami PCA. Mřížky zobrazují tvarovou změnu mezi konsenzuální konfigurací a mezními body jednotlivých PC os.



Obr. 8 Ordinační prostory rozložení datových bodů podél 2 nejvýznamnějších PC os. Barevně jsou odlišena receptakula podle regionů (červeně Bornholm, modře Göteborg).

4.2 Analýza tvarové variability receptakul

Tvarová variabilita celkového datového souboru byla testována na vlivu faktorů určujících, odkud byla receptakula odebrána na několika stupních, a na vliv digitalizační chyby. K testování byla zvolena hierarchická vícerozměrná prokrustovská permutační ANOVA o 9999 permutacích.

V rámci rostliny bylo vedle individuální variability receptakul testováno, jaký vliv na variabilitu má výběr větvičky. Ve vyšších úrovních, mezi rostlinami, bylo dále testováno, jak variabilitu ovlivňuje výběr rostliny v rámci lokality a jak ji ovlivňuje výběr lokality v rámci regionu. Nakonec bylo testováno, jakou mírou se na tvarové variabilitě podílí výběr samotného regionu. Z důvodu kvantifikace chyby měření (digitalizace) byl jako vstupní datový soubor pro analýzu variance použit soubor superimponovaných souřadnice dvou digitalizací, tedy dohromady 1024 konfigurací.

Protože faktor receptakulum byl zahnízděný uvnitř faktoru větvička, pro výpočet F hodnoty (jakožto chybový člen) faktoru větvička byl namísto MS reziduálů použit MS receptakulum. Obdobně pro výpočet F hodnoty faktoru rostlina, byl použit MS faktoru větvička. Adekvátní korekce výpočtů F hodnoty byly stejným způsobem, použitím MS faktoru přímo pod ním, provedeny pro všechny zbylé faktory, postupuje dle jednotlivých úrovní hierarchického designu odběrů.

	Df	SS	MS	Rsq	F	Z	Pr(>F)
region	1	2,787	2,78745	0,07232	10,1383	3,293	0,0004***
populace	6	1,650	0,27494	0,04280	2,0719	2,257	0,0114*
rostlina	24	3,185	0,13270	0,08263	2,1074	4,487	0,0001***
větvička	96	6,045	0,06297	0,15684	0,9817	-0,197	0,5797
receptakulum	384	24,632	0,06415	0,63905	133,8792	58,596	0,0001***
reziduály	512	0,245	0,00048	0,00636			
celkem	1023	38,544					

Tab. 2 Výsledky prokrustovské hierarchické PERMANOVA. F hodnoty byly upraveny s ohledem na zahnízdění úrovní hierarchického designu.

Výsledky prokrustovské PERMANOVA s F hodnotami upravenými podle zahnízdění jednotlivých faktorů (Tab. 1) ukázaly, že naprostá většina tvarové variability datového souboru je vysvětlena faktorem receptakulum. Faktor receptakula vyšel jako silně signifikantní ($p \leq 0,0001$) a zodpovídal za 63,91 % celkové variability souboru. Individuální variabilita v rámci receptakul tak popsala více než polovinu veškeré variability, zatímco druhý faktor v rámci rostliny, faktor větvičky, vyšel jako jediný nesignifikantně ($p = 0,5797$).

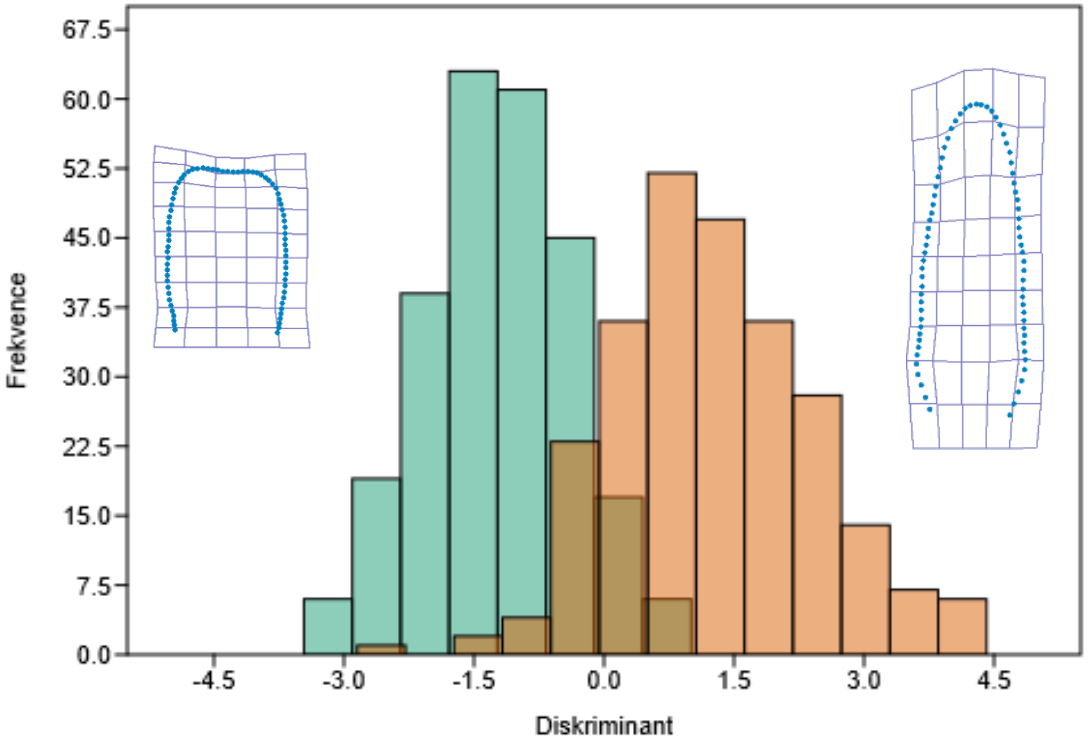
Faktory popisující variabilitu mezi rostlinami (region, populace a rostlina) zodpovídaly za vyšší jednotky procent variability. Nejméně tvarové variability receptakul (4,28 %) bylo vysvětleno faktorem populace ($p = 0,0114$). Faktor regionu vysvětloval 7,23 % variability ($p = 0,0004$), jen o něco málo méně než faktor rostliny s 8,26 % ($p \leq 0,0001$). Přestože efekt regionu popsal poměrně malou část variability těchto konkrétních dat, síla tohoto efektu vyšla několikanásobně vyšší než u jiných efektů ($MS = 2,78745$).

Vliv rozdílu mezi replikáty (dvěma digitalizacemi) na tvarovou variabilitu datového souboru je vyjádřen zbytkovou (reziduální) variabilitou analýzy, která tak kvantifikuje vliv digitalizační chyby. Výsledky prokrustovské PERMANOVA ukázaly, že digitalizační chyba zodpovídá za méně než 1 % celkové variability datového souboru (0,64 %), a je tedy v analýze zanedbatelná ve srovnání s variabilitou vysvětlenou zbylými faktory.

4.2.1 Lineární diskriminační analýza (LDA)

Prokrustovská PERMANOVA identifikovala region jakožto nejsilnější z testovaných efektů, ačkoliv zodpovídal pouze za 7,23 % tvarové variability souboru ($p = 0,0004$). V návaznosti na tuto analýzu byl vliv faktoru region testován pomocí lineární diskriminační analýzy (LDA). Do této analýzy byly použity výstupy PCA souřadnicových dat z první digitalizace obou regionů srovnaných pomocí GPA.

Jako vstupní data do LDA byla zvolena skóre prvních 39 hlavních os PCA. Tyto osy totiž vysvětlují většinu celkové tvarové variability (99,01 %). Faktorem skupiny pro tuto analýzu byla příslušnost receptakul k regionu. LDA rozložení datových bodů podél jednotlivých PC os byla provedena v programu PAST ver. 5.3 (Hammer et al., 2001). Výstupem LDA byla osa vyjadřující takovou lineární kombinaci zahrnutých PC os, která datový soubor dokázala co nejlépe rozdělit na dvě skupiny podle faktoru regionu. Výsledek LDA byl následně podroben permutačnímu statistickému testu o 999 permutacích pro ověření síly a signifikance v programu tpsRegr ver. 1.50 (Rohlf, 2015). Tvarové změny podél výsledné osy, a tedy mezi regiony, byly vizualizovány jako regrese souřadnicových dat na souřadnice této přímky v témže programu (Obr. 9).



Obr. 9 Výsledky LDA skóre prvních 39 PC os na region. Transformační mřížky ukazují extrémy lineární regrese souřadnicových dat na přímku LDA, (zeleně Bornholm, oranžově Göteborg).

LDA dokázala rozdělit data do příslušných regionů s úspěšností 89,84 % ($p \leq 0{,}0001$). *Confusion matrix* analýzy ukázala, že analýza chybně zařadila celkem 52 receptakul – 15 receptakul z regionu Bornholm bylo chybně zařazeno do regionu Göteborg a 37 receptakul v opačném směru (Obr. 9). Tento výsledek zachycuje vysoce spolehlivou rozlišitelnost jednotlivých regionů. Celková tvarová variabilita vysvětlená touto osou byla permutačními testy při 9999 permutacích určena jako 12,42 %.

4.3 Analýza vzorů poziční symetrie

Tvarová variabilita receptakul byla nakonec testována na vliv párů jejich pozic v rámci větvičky tvořené terminální čtveřicí receptakul. Na symetrizovaných datech byla provedena prokrustovská PERMANOVA o 9999 permutacích.

	Df	SS	MS	Rsq	F	Z	Pr(>F)
BS 1	1	0,0185	0,01851	0,00100	1,0234	0,48839	0,3239
BS 2	1	0,0095	0,00949	0,00051	0,5244	-0,30270	0,6062
MGS	1	0,0432	0,04324	0,00233	2,3904	1,42808	0,0820.
reziduály	1020	18,4493	0,01809	0,99615			
celkem	1023	18,5206					

Tab. 2 Výsledky prokrustovské PERMANOVA variability v závislosti na pozici receptakula v rámci větvičky. Faktory bilaterální symetrie 1 (BS 1), bilaterální symetrie 2 (BS 2) a marginální symetrie (MGS) označeny zkratkami.

Výsledné koeficienty determinace analýzy vzorů poziční symetrie (Tab. 2) ukázaly, že faktor bilaterální symetrie 1, porovnávající mezi sebou receptakula v levé a pravé terminální vidličce (pozice 1 a 2 a pozice 3 a 4), postihnul 0,1 % variability datového souboru, téměř dvakrát více než faktor bilaterální symetrie 2, porovnávající mezi sebou receptakula na levých a pravých pozicích v terminálních vidličkách (pozice 1 a 3 a pozice 2 a 4), který postihnul 0,05 % variability. Podle výsledných p-hodnot ovšem vliv těchto faktorů nelze odlišit od náhodné variability v souboru. Jinak tomu bylo u efektu marginální symetrie, porovnávajícího receptakula na vnějších a vnitřních okrajích čtveřice (pozice 1 a 4 a pozice 2 a 3). Tento efekt vyšel jako mírně signifikantní ($p = 0,082$), popisoval však pouhých 0,22 % celkové variability souboru.

4.4 Analýza dynamiky symetrie receptakul

Pro analýzu symetrie v rámci receptakul byla tvarová variabilita receptakul testována na vliv symetrické a asymetrické složky variability. Asymetrická složka byla dále rozdělena na efekt direkční asymetrie (DA) a fluktuační asymetrie (FA). K testování byla využita prokrustovská obousměrná PERMANOVA se smíšenými efekty o 9999 permutacích. Vstupním datovým souborem pro tuto analýzu byl soubor dvojí digitalizace originálních a reflektovaných a přeznačených kopií o 2048 konfiguracích srovnaných pomocí GPA.

Symetrická složka a složka direkční asymetrie byly reprezentovány pevnými efekty receptakulum a reflexe. Faktor fluktuační asymetrie, zastoupený interakcí receptakulum × reflexe, byl zahnízděný v obou zbylých faktorech. Pro výpočet F hodnot faktorů receptakulum a reflexe tak byl jako chybový člen použit MS této interakce.

	Df	SS	MS	Rsq	F	Z	Pr(>F)
receptakulum	511	36.132	0.070708	0.46785	0.8928	-2.422	0.9924
reflexe	1	0.139	0.139422	0.00181	1.7605	1.146	0.1351
receptakulum × reflexe	511	40.468	0.079194	0.52400	165.3071	74.131	0.0001***
reziduály	1024	0.491	0.000479	0.00635			
celkem	2047	77.230					

Tab. 3 Výsledky prokrustovské PERMANOVA symetrie receptakul. Faktor receptakulum reprezentuje symetrickou složku variability, faktor reflexe DA a interakce receptakulum × reflexe FA.

Výsledky analýzy symetrie odhalily pouze faktor fluktuační asymetrie (receptakulum × reflexe) jako signifikantní ($p \leq 0{,}0001$). Fluktuační asymetrie vysvětlovala 52,4 % celkové variability souboru.

4.4.1 Dynamika symetrie receptakul dle pozice

Symetrie receptakul byla následně podrobněji analyzována v rámci jednotlivých pozic na větvičce. Celkový datový soubor byl rozdělen na čtyři dílčí soubory, které byly následně podrobeny totožné prokrustovské PERMANOVA o 9999 permutacích s adekvátně upravenými F hodnotami.

V analýze symetrie receptakul na dílčích souborech, představujících jednotlivé pozice v terminální čtveřici, vyšel signifikantně ve všech čtyřech případech silný efekt faktoru reflexe, který představuje direkční asymetrii. Koeficienty determinace těchto dílčích analýz ukázaly, že variabilita vysvětlená efektem DA činila 11,81 %, 20,79 %, 13,06 % a 13,81 %. Efekt interakce receptakulum × reflexe, představující fluktuační asymetrii, vyšel signifikantně také ve všech čtyřech případech. Variabilita vysvětlená FA činila 38,32 %, 42,05 %, 32,64 % a 37,35 %. Ve třech případech, pro receptakula na pozicích 1, 3 a 4, vyšel signifikantně také efekt symetrické složky variability, který vysvětlil 48,81 %, 53,57 % a 48,48 % celkové variability dílčích souborů (Tab. 4).

	Df	SS	MS	Rsq	F	Z	Pr(>F)
receptakulum 1	127	8.8517	0.06970	0.48807	1.2735	2.552	0.0055**
reflexe	1	2.1429	2.14293	0.11816	39.1560	5.386	0.0001***
receptakulum × reflexe	127	6.9504	0.05473	0.38324	73.3893	43.706	0.0001***
reziduály	256	0.1909	0.00075	0.01053			
celkem	511	18.1360					
receptakulum 2	127	7.7238	0.0608	0.36725	0.8733	-1.309	0.9074
reflexe	1	4.3732	4.3732	0.20794	62.7999	5.300	0.0001***
receptakulum × reflexe	127	8.8439	0.0696	0.42051	197.0981	56.766	0.0001***
reziduály	256	0.0904	0.0004	0.0043			
celkem	511	21.0312					
receptakulum 3	127	10.8064	0.08509	0.53573	1.6413	5.239	1e-04***
reflexe	1	2.6352	2.63520	0.13064	50.8292	6.099	1e-04***
receptakulum × reflexe	127	6.5842	0.05184	0.32641	91.1213	38.742	1e-04***
reziduály	256	0.1457	0.00057	0.00722			
celkem	511	20.1715					
receptakulum 4	127	8.6044	0.06775	0.48481	1.298	2.915	0.0018**
reflexe	1	2.4509	2.45090	0.13809	46.954	5.873	0.0001***
receptakulum × reflexe	127	6.6292	0.05220	0.37352	210.375	71.093	0.0001***
reziduály	256	0.0635	0.00025	0.00358			
celkem	511	17.7480					

Tab. 4 Výsledky prokrustovské PERMANOVA symetrie receptakul na jednotlivých pozicích v rámci větvičky. Faktor receptakulum reprezentuje symetrickou složku variability, faktor reflexe DA a interakce receptakulum × reflexe FA.

5 Diskuze

5.1 Tvarová variabilita receptakul

Mnoharozměrný tvarový prostor dvourozměrných souřadnicových konfigurací digitalizovaných receptakul srovnaných pomocí prokrustovské superimpozice (GPA) byla analyzován pomocí analýzy hlavních komponent (PCA) pro redukci komplexní tvarové variability na několik málo popsatelných tvarových trendů (Bookstein, 2018; Klingenberg & McIntyre, 1998; Mardia et al., 1979). Většinu tvarové variability receptakul vysvětlily první dvě PC osy. Z celkové variability 41,76 % bylo popsáno zkosením receptakula doleva či doprava a mírným zahnutím jeho vrcholku v opačném směru, doprovozeném částečným protažením a zúžením receptakula a 31,78 % bylo popsáno celkovým protažením a zúžením receptakula či jeho zkrácením a rozšířením doprovozeným formací zářezu v místě jeho vrcholku (Obr. 7). Prokrustovské reziduály PCA, barevně rozlišené na jednotlivé regiony, byly vyneseny do bodového grafu podél prvních dvou PC os. Z výsledného diagramu je patrné, že ačkoliv mají oba regiony v tvarových trendech veliký překryv, nejsou v tvarových trajektoriích identické. Receptakula z Göteborgu byla více rozprostřena podél PC 1, projevovala tedy výraznější zkosení než receptakula z Bornholmu. Ta zato nabývala větších kladných hodnot podél PC 2, receptakula byla tedy kratší než receptakula z Göteborgu a jejich tvarová variabilita byla více ovlivněna vznikem apikálního zářezu (Obr. 7–8).

Tento rozdíl mezi tvarem receptakul *F. serratus* z oblasti Bornholmu a Göteborgu byl potvrzen a kvantifikován v následné prokrustovské PERMANOVA. Tvarová variabilita datového souboru byla testována na vliv šesti faktorů uspořádaných ve vybalancované hierarchické struktuře. Těmito faktory byl region, populace, rostlina, větvička, receptakulum a digitalizace (Tab. 1). Výsledky této analýzy ukázaly, že nejsilnějším efektem je faktor regionu a že tento faktor vysvětluje 7,23 % tvarové variability souboru. Efekt populace vysvětlil nejméně tvarové variability receptakul, 4,28 %, téměř o polovinu méně než faktor regionu a než následující faktor, faktor rostliny, který vysvětlil 8,26 % variability. Nejvíce tvarové variability, 63,91 %, pak připadlo na faktor receptakul, popisující jejich individuální variabilitu. Zbytková variabilita, vyjadřující vliv rozdílu dvou digitalizací, tedy chyby měření, odpovídala za pouhých 0,64 %. Faktor větvičky vyšel jako jediný nesignifikantní. Tento výsledek může být způsoben obrovskou variabilitou vysvětlenou faktorem receptakul.

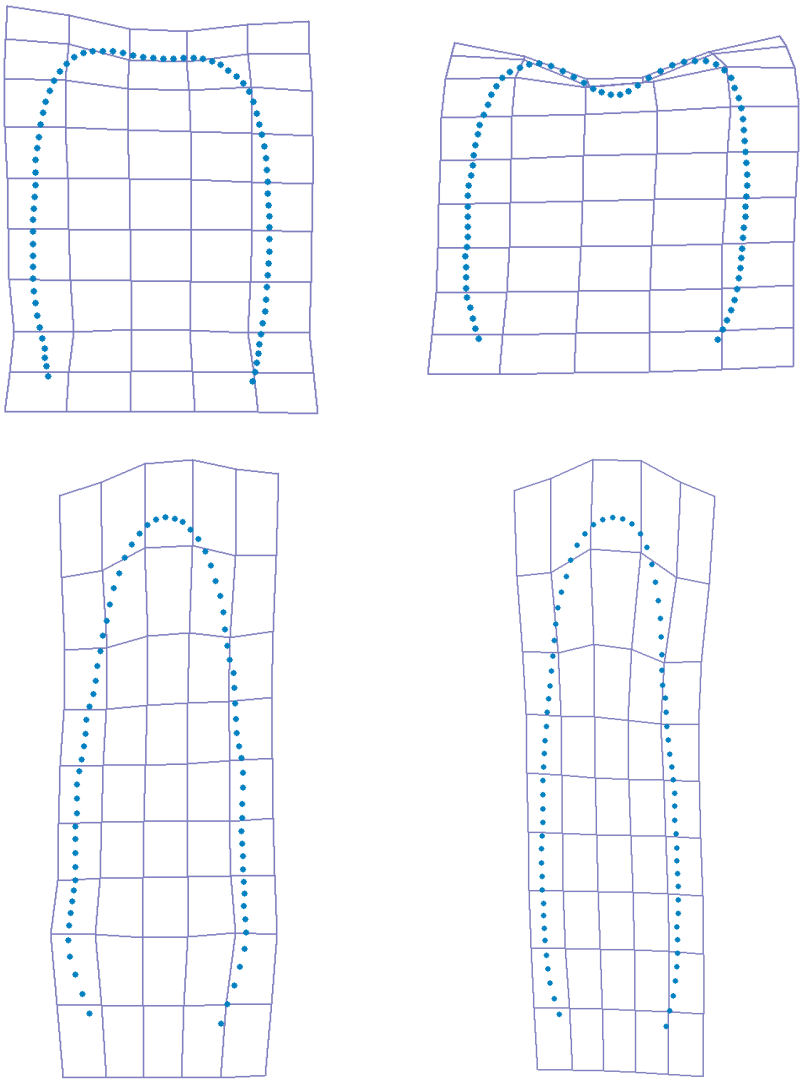
Vliv regionu byl dále testován lineární diskriminační analýzou (LDA), v níž byla prokrustovsky srovnaná souřadnicová data rozdělena do dvou regionů podél lineární osy vypočítané z PCA skórů hlavních komponent vysvětlujících ≥ 99 % tvarové variability souboru. LDA dokázala receptakula správně zařadit do příslušných regionů s 89,84% přesností. Výsledná osa pak vysvětlovala 12,42 % tvarové variability receptakul. Vizualizace krajních konfigurací této osy ukázaly, že hlavním rozdílem rozlišujícím oba baltské regiony byl poměr délky a šířky receptakula společně s tvarováním jeho vrcholku. Zatímco extrémní tvar receptakula z Bornholmu byl oproti průměrnému tvaru celkově

zkrácený a rozšířený, na bázi mírně se rozšiřující a na vrcholku zploštělý až prolomený, extrémní tvar receptakula z Göteborgu byl naopak oproti průměrnému tvaru celkově protažený a zúžený, na bázi mírně se sbíhající a na vrcholku dále protažený. Tento výsledek tak nejenže z velké části reflektoval předchozí výsledek PCA, kde druhá osa, vysvětlující 31,78 % variability, popisovala podobný tvarový trend (Obr. 10), ale také potvrzovala předchozí pozorování od Knight & Parke (1950), že snížená salinita vede k dilataci tvaru receptakul. Tento výsledek odpovídá také dřívějším pozorováním chaluh řádu Fucales, kdy jejich stélky za snížené salinity vykazovaly zkrácené vzdálenosti mezi větveními a celkově menší vzrůst (Knight & Parke, 1950; Malm et al., 2001; Malm & Kautsky, 2003; Ruuskanen & Bäck, 1999). Receptakula z oblasti Bornholmu byla celkovým tvarem kratší a širší než receptakula z oblasti Göteborgu. Tento trend evokuje jistou formu pomalejšího růstu. Potenciálním vysvětlením rozdílu tvarů receptakul mezi regiony je tak rozdíl salinity vody podél gradientu Baltského moře.

Pakliže by regiony nebyly součástí téže metapopulace, nabízí se pro vysvětlení rozdílu tvarové variability regionů alternativní hypotéza založená na prostorovém oddělení těchto populací. Lokality reprezentující populace v této diplomové práci byly zvoleny ve vzdálenosti ≥ 2 km, v průměru 2,6 km. Jelikož stélka *F. serratus* nevytváří žádné plovací struktury, takže uvolněné části stélky rychle klesají ke dnu, není schopen pravidelné disperze na dlouhé vzdálenosti (Malm et al., 2001). Genetická diferenciace populací *F. serratus* je tak závislá na vzdálenosti mezi nimi, kdy horním limitem pro panmixii je vzdálenost ≤ 2 km (Coyer et al., 2003). Jelikož však belt *F. serratus* pokrývá naprostou většinu pobřeží v obou regionech, tedy nejen na zvolených lokalitách, ale také mezi nimi, spadaly rostliny z jednotlivých lokalit v každém z regionů do téže panmiktické populace. Přesto analýza slabý, avšak signifikantní efekt populace odhalila. Ostrov Bornholm, který je v nejužším bodě od švédského pobřeží vzdálený více než 34 km, tak s výjimkou potenciálních antropogenních vlivů tuto hranici dalece předčí. Z těchto výsledků lze tedy předpokládat, že ačkoliv nelze efekt populací zcela vyvrátit, pro potenciální studie tvarové variability receptakul není při sběrech zdaleka tak důležité postihnout co největší plochu v rámci regionů, tedy mít zastoupeno co nejvíce populací, nejsou-li geograficky dostatečně oddělené, jako odebrat vzorky co nejvíce receptakul, pro co nejvěrnější postihnutí jejich tvarové variability, z dostatečného množství jedinců v rámci regionů, které jsou od sebe výrazně odděleny geografickou či jinou bariérou zabraňující pravidelnému genovému toku. Tyto hypotézy se nemusí vzájemně vylučovat, zároveň však nelze ze současných dat ani jednu s jistotou potvrdit.

5.1 Vzory poziční symetrie párů receptakul ve větvičce

Dále byl prokrustovskou PERMANOVA testován vliv vzorů poziční symetrie na symetrickou složku tvarové variability párů receptakul. Jelikož byla receptakula odebírána po větvičkách, která byla zakončena terminální čtveřicí receptakul, bylo možné testovat vliv jejich relativních pozic. Jako faktory pro analýzu byly vytvořeny tři potenciální vzory symetrie definované pozicemi párů receptakul (Obr. 6).



Obr. 10 Porovnání transformačních mřížek konfigurací ležících v mezních bodech podél osy LDA (nalevo) a osy PC 2 (napravo).

Srovnáním koeficientů determinace faktorů ukázalo, že faktor marginální symetrie s 0,22 % vysvětlené variability popsal více než dvojnásobek variability souboru oproti faktoru bilaterální symetrie 1 s 0,1 % a více než čtyřnásobek oproti faktoru bilaterální symetrie 2 s 0,05 %. P-hodnoty jednotlivých faktorů však ukázaly, že efekt bilaterální symetrie 1 a bilaterální symetrie 2 nelze odlišit od náhodné variabilit souboru. Jediným faktorem, který vyšel jako slabě signifikantní, byl faktor marginální symetrie. Variabilita vysvětlená tímto faktorem bylo pouhých 0,22 % celkové tvarové variability párů receptakul. Tento výsledek tedy ukazuje, že mezi tvary páry receptakul na vnějších a vnitřních pozicích v rámci terminální čtveřice, tedy pozic 1 a 4 a pozic 2 a 3, je velice malý, avšak statisticky prokazatelný rozdíl (Tab. 2).

S ohledem na pozorování Knight & Parke (1950), že dceřiné větvičky po rozvětvení disponují nestejnými růstovými potenciály, může být skutečnost, že analýza variance neodhalila signifikantní rozdíl mezi páry receptakul v levé a pravé vidličce (faktor bilaterální symetrie 1) potenciálně překvapující. Pakliže by měl totiž tento efekt vliv nejen na velikost, ale také na tvarovou variabilitu receptakul, nabízí se možné vysvětlení v designu odběrů. Ve zmíněné studii bylo pozorováno, že po větvení stélky *F. serratus* přebírá zpravidla jedna z dceřiných větviček roli tzv. vůdčí větvičky, která disponuje větším růstovým potenciálem, že tento zvýšený růstový potenciál alternuje s každým dalším větvením mezi levou a pravou dceřinou větvičkou a že rozdíl růstových potenciálů se zmenšuje směrem od báze stélky k její periferii. V rámci této diplomové práce byly odebírány větvičky charakterizované dvěma úrovněmi větvení, avšak nebyl zaznamenáván počet větvení ani vzdálenost mezi touto větvičkou a bází stélky. Ačkoliv tak byly odebírány větvičky z obdobně vzrostlých rostlin, nelze s jistotou vyvrátit, že ve výsledném souboru receptakul byla receptakula jak z větviček s výrazným rozdílem růstových potenciálů, tak z větviček, kde se růstové potenciály příliš nelišily. Slabé či nesignifikantní efekty, stejně jako nízké koeficienty determinace analýzy tak mohou být zčásti či zcela způsobeny touto redukcí stélky *F. serratus* na koncové větvičky.

Pro komplexní analýzu vzorů poziční symetrie párů receptakul v rámci větviček, popřípadě celé rostliny, tak zřejmě nelze rostlinu redukovat na pouhou větvičku, nýbrž přinejmenším odběr doplnit o diskrétní záznam počtu jí předcházejících větvení či konkrétní záznam vzdálenosti od báze rostliny. Alternativně by bylo možné provést stejnou analýzu, ovšem na větvičkách odebíraných z rostlin ve stejných či podobných vzdálenostech od báze. Při analýze kompletní stélky by bylo zajímavé prozkoumat tvarovou variabilitu receptakul s přihlédnutím ke stupni větvení stélky pro zodpovězení otázky, zdali se jejich tvarová variabilita zmenšuje se zvyšujícím se stupněm větvení, podobně jako celkový růstový potenciál dceřiných větviček.

5.2 Dynamika symetrie receptakul

Dynamika symetrie receptakul byla testována pomocí prokrustovské PERMANOVA, do níž jako faktory vstupovaly jednotlivé složky tvarové variability. Symetrická složka variability byla reprezentována faktorem receptakula. Asymetrická složka variability byla rozdělena na vliv direkční asymetrie (DA) a fluktuační asymetrie (FA). Direkční asymetrie byla reprezentována faktorem reflexe a fluktuační asymetrie interakcí receptakulum × reflexe. Výsledky analýzy odhalily jako jediný signifikantní efekt vliv interakce receptakulum × reflexe. Podle tohoto výsledku tak fluktuační asymetrie zodpovídala za 52,4 % celkové tvarové variability receptakul, zatímco efekt direkční asymetrie a symetrické složky nebyl rozlišitelný od náhodné variability.

Receptakula byla následně rozdělena do čtyř dílčích datových souborů podle jejich relativní pozice v rámci terminální čtveřice. Na dílčích datových souborech byla provedena stejná prokrustovská PERMANOVA, testující efekty symetrické složky a složek direkční a fluktuační asymetrie. Ve všech

čtyřech případech analýza odhalila signifikantní efekt faktoru reflexe, odpovídajícího za direkční asymetrii. Koeficienty determinace těchto dílčích analýz ukázaly, že variabilita vysvětlená efektem DA činila v průměru 14,87 % tvarové variability, zatímco variabilita vysvětlená efektem FA se snížila průměrně na 37,59 %. Z těchto výsledků je patrné, že variabilita vysvětlená DA v dílčích analýzách receptakul v jednotlivých pozicích větvičky byla v analýze celkového souboru zahrnuta pod variabilitu vysvětlenou FA. Potenciální interpretací tohoto jevu je, že receptakula v terminálních čtveřicích představují dva páry receptakul odklánějících se po větvení ve vidličce doleva a doprava od stélky. Toto vychýlení od osy je pravděpodobně doprovázeno DA tvaru receptakula. Protože však jsou efekty DA levých a pravých receptakul protichůdné, v celkovém souboru se projevila jakožto FA. Při analýze celkového souboru tak receptakula formálně projevují pravidelnou antisymetrii (Valen, 1962). Výsledky těchto analýz tedy ukazují, že terminální čtveřice receptakul, jevící v rámci celé stélky jako ucelená jednotka víceméně pravidelných struktur s *object symmetry*, pravděpodobně vykazuje dodatečnou *matching symmetry* v rámci terminálních párů. Tuto hypotézu podporuje také výsledek PCA.

Informace, že terminální vidličky receptakul *F. serratus* vykazují *matching symmetry* otevírá dveře dalším potenciálně zajímavým analýzám symetrií v rámci vidličky a vidliček v rámci větvičky, popřípadě komplexním analýzám symetrií receptakul v rámci celé rostliny. Alternativně, pokud by se člověk chtěl zabývat pouze *object symmetry* receptakul, bylo by podstatné vzít tuto skutečnost na vědomí již při designování experimentu a specificky při sběrech, kde by byla odebírána receptakula pouze z levé nebo pouze z pravé pozice ve vidličkách.

6 Závěr

V této diplomové práci byla za pomoci nástrojů geometrické morfometriky prozkoumána tvarová variabilita receptakul chaluhy *Fucus serratus* z východního pobřeží dánského ostrova Bornholmu (7,5 psu) a západního pobřeží okolí švédského Göteborgu (14,8–15,8 psu), jakožto dvou lokalit poblíž hranic rozšíření tohoto druhu v Baltském moři (HELCOM, 2026; Malm et al., 2001; Malm & Kautsky, 2003; Nielsen et al., 1995).

Výsledky ukázaly, že zvolené regiony mají silný efekt vysvětlující 7,23 % tvarové variability receptakul a že regiony lze podle hlavních tvarových trendů receptakul spolehlivě rozlišit s úspěšností 89,84 %. Hlavní trendy vysvětlující variabilitu receptakul byly porovnány s tvarovým trendem oddělujícím oba regiony. Receptakula utvářená rostlinami *F. serratus* z oblasti Bornholmu byla kratší a širší, v souladu s předchozími pozorováními celkového menšího vzrůstu a zkrácenými intervaly mezi větveními v řádu Fucales. Většina tvarové variability souboru, 63,91 %, byla způsobena individuální variabilitou na úrovni receptakul. Ačkoliv výsledky odhalily nenáhodný efekt populace na tvarovou variabilitu, v porovnání s efekty regionu, rostliny a zejména receptakul samotných byla síla tohoto efektu nízká.

Toto zjištění může být potenciálně hodnotné při stanovování vhodných úrovní v rámci plánování designu dalších podobných morfometrických studií.

Tvarové analýzy kombinací vzájemných pozic párů receptakul v rámci terminálních čtveřic odhalil pouze slabý nenáhodný efekt při porovnání receptakul na vnějších pozicích a receptakul na vnitřních pozicích, zde nazývaných jako marginální symetrie. Tento efekt by mohl být potenciálně zapříčiněn tendencí rostliny rozprostřít reprodukční struktury v prostoru, avšak ze současných dat nelze vyvozovat bezpečné závěry. Analýzy odhalily potenciální nutnost studia rostlin *F. serratus* ve svém celku, nikoliv redukovaných na pouhé jejich části. Tato část této diplomové práce tak může do budoucna posloužit jako pilotní studie pro podrobný výzkum těchto rostlin na malém měřítku.

Analýzy dynamiky symetrie na úrovni *object symmetry* receptakul ukázaly veliký vliv fluktuační asymetrie na jejich tvarovou variabilitu. Zatímco analýza symetrie ve smíšeném souboru receptakul neodhalila efekt direkční asymetrie, po rozdělení datového souboru na základě relativních pozic v terminální čtveřici odhalil, že DA zodpovídala průměrně za 14,87 % a FA průměrně za 37,59 % tvarové variability. Jelikož v analýze celkového souboru vysvětlovala FA 52,4 % variability, vykazují terminální čtveřice *matching symmetry*, jak naznačuje i výsledek PCA, pravděpodobně na úrovni terminálních vidliček.

Nakonec byly na základě poznatků získaných v průběhu diplomové práce navrženy nové alternativní či doplněné designy odběrů a analýz včetně nových statistických otázek, s přihlédnutím k povaze studovaného organismu a jeho částí a jejich vzájemných interakcí.

7 Literatura

Adams, D. C., Collyer, M. L., Kaliontzopoulou, A., & Baken, E. K. (2026). *Geomorph: Software for geometric morphometric analyses. R package version 4.1.0*. https://cran.r-project.org/package=geomorph

Anderson, M. J. (2017). Permutational Multivariate Analysis of Variance (PERMANOVA). In *Wiley StatsRef: Statistics Reference Online* (pp. 1–15). https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9781118445112.stat07841

Armstrong, M. A. (1988). *Groups and Symmetry*. Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-4034-9

Arrontes, J. (1993). Nature of the distributional boundary of Fucus serratus on the north shore of Spain. *Marine Ecology Progress Series*, *93*(1/2), 183–193. http://www.jstor.org/stable/24832819

Bäck, S. (1993). Morphological variation of northern Baltic Fucus vesiculosus along the exposure gradient. *Annales Botanici Fennici*, *30*(4), 275–283. http://www.jstor.org/stable/23726463

Bäck, S., Collins, J. C., & Russell, G. (1992). Effects of salinity on growth of Baltic and Atlantic Fucus vesiculosus. *British Phycological Journal*, *27*(1), 39–47. https://doi.org/10.1080/00071619200650061

Bergström, L., & Bergström, U. (1999). Species diversity and distribution of aquatic macrophytes in the Northern Quark, Baltic Sea. *Nordic Journal of Botany*, *19*(3), 375–383. https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.1999.tb01131.x

Bergström, L., Tatarenkov, A., Johannesson, K., Jönsson, R. B., & Kautsky, L. (2005). Genetic and morphological identification of Fucus radicans sp. nov. (Fucales, Phaeophyceae) in the brackish Baltic Sea. *Journal of Phycology*, *41*(5), 1025–1038. https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2005.00125.x

Bookstein, F. L. (1989). Principal warps: thin-plate splines and the decomposition of deformations. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, *11*(6), 567–585. https://doi.org/10.1109/34.24792

Bookstein, F. L. (1992). *Morphometric Tools for Landmark Data: Geometry and Biology*. Cambridge University Press. https://doi.org/DOI: 10.1017/CBO9780511573064

Bookstein, F. L. (1996). Biometrics, biomathematics and the morphometric synthesis. *Bulletin of Mathematical Biology 1996 58:2*, *58*(2), 313–365. https://doi.org/10.1007/BF02458311

Bookstein, F. L. (1997). Landmark methods for forms without landmarks: morphometrics of group differences in outline shape. *Medical Image Analysis*, *1*(3), 225–243. https://doi.org/10.1016/S1361-8415(97)85012-8

Bookstein, F. L. (2014). *Measuring and Reasoning: Numerical Inference in the Sciences*. Cambridge University Press. https://doi.org/DOI: 10.1017/CBO9781139161923

Bookstein, F. L. (2018). *A Course in Morphometrics for Biologists: Geometry and Statistics for Studies of Organismal Form*. Cambridge University Press. https://doi.org/DOI: 10.1017/9781108120418

Brenchley, J. L., Raven, J. A., & Johnston, A. M. (1996). A comparison of reproductive allocation and reproductive effort between semelparous and iteroparous fucoids (Fucales, Phaeophyta). *Hydrobiologia*, *326*(1), 185–190. https://doi.org/10.1007/BF00047805

Brodie, J., Wilbraham, J., Pottas, J., & Guiry, M. D. (2016). A revised check-list of the seaweeds of Britain. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, *96*(5), 1005–1029. https://doi.org/DOI: 10.1017/S0025315415001484

Cardini, A., Seetah, K., & Barker, G. (2015). How many specimens do I need? Sampling error in geometric morphometrics: testing the sensitivity of means and variances in simple randomized selection experiments. *Zoomorphology*, *134*(2), 149–163. https://doi.org/10.1007/s00435-015-0253-z

Coyer, J. A., Hoarau, G., Skage, M., Stam, W. T., & Olsen, J. L. (2006). Origin of Fucus serratus (Heterokontophyta; Fucaceae) populations in Iceland and the Faroes: a microsatellite-based assessment. *European Journal of Phycology*, *41*(2), 235–246. https://doi.org/10.1080/09670260600652820

Coyer, J. A., Hoarau, G., Stam, W. T., & Olsen, J. L. (2004). Geographically specific heteroplasmy of mitochondrial DNA in the seaweed, Fucus serratus (Heterokontophyta: Phaeophyceae, Fucales). *Molecular Ecology*, *13*(5), 1323–1326. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2004.02128.x

Coyer, J. A., Peters, A. F., Stam, W. T., & Olsen, J. L. (2003). Post-ice age recolonization and differentiation of Fucus serratus L. (Phaeophyceae; Fucaceae) populations in Northern Europe. *Molecular Ecology*, *12*(7), 1817–1829. https://doi.org/https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2003.01850.x

Decaisne, J., & Thuret, G. (1845). LVII.—On the antheridia and spores of some species of Fucus. *Annals and Magazine of Natural History*, *14*(94), 480–481. https://doi.org/10.1080/037454809495230

Dryden, I., & Mardia, K. (2016). Statistical shape analysis, with applications in R: Second edition. In *Statistical Shape Analysis, with Applications in R: Second Edition*. https://doi.org/10.1002/9781119072492

Forslund, H., & Kautsky, L. (2013). Reproduction and reproductive isolation in Fucus radicans (Phaeophyceae). *Marine Biology Research*, *9*(3), 321–326. https://doi.org/10.1080/17451000.2012.731694

Goodall, C. (1991). Procrustes Methods in the Statistical Analysis of Shape. *Journal of the Royal Statistical Society Series B: Statistical Methodology*, *53*(2), 285–321. https://doi.org/10.1111/J.2517-6161.1991.TB01825.X

Gower, J. C. (1975). Generalized procrustes analysis. *Psychometrika*, *40*(1), 33–51. https://doi.org/10.1007/BF02291478/METRICS

Graham, J. H., Freeman, D. C., & Emlen, J. M. (1993). Antisymmetry, directional asymmetry, and dynamic morphogenesis. *Genetica*, *89*(1), 121–137. https://doi.org/10.1007/BF02424509

Haage, P., & Jansson, B.-O. (1970). Quantitative investigations of the Baltic Fucus belt macrofauna. *Ophelia*, *8*(1), 187–195. https://doi.org/10.1080/00785326.1970.10429558

Hällfors, G., Niemi, Å., Ackefors, H., Lassig, J., & Leppäkoski, E. (1981). Biological Oceanography. In Voipio, A. (Ed.), *The Baltic Sea* (1st ed., Vol. 30, pp. 219–274). Elsevier. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0422-9894(08)70142-9

Hammer, O., Harper, D., & Ryan, P. (2001). PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica*, *4*, 1–9.

Hay, G. U., & MacKay, A. H. (1887). *Marine algae of New Brunswick* (Vol. 5). Transactions of the Royal Society of Canada. https://www.biodiversitylibrary.org/item/126948

HELCOM. (1992). *Convention on the Protection of the Marine Environment of the Baltic Sea Area*.

HELCOM. (2026). *Surface salinity mean, HELCOM Map and Data Service*. https://maps.helcom.fi

Hoarau, G., Coyer, J. A., Veldsink, J. H., Stam, W. T., & Olsen, J. L. (2007). Glacial refugia and recolonization pathways in the brown seaweed Fucus serratus. *Molecular Ecology*, *16*(17), 3606–3616. https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03408.x

Ignatius, H., Axberg, S., Niemistö, L., & Winterhalter, B. (1981). Quaternary geology of the Baltic Sea. In Voipio, A. (Ed.), *The Baltic Sea* (1st ed., Vol. 30, pp. 54–105). Elsevier.

Jónsson, H. (1903). The marine algae of Iceland II. Phaeophyceae. *Botanisk Tidesskrift*, *25*, 141–195.

Kautsky, H., Kautsky, L., & Kautsky, N. (1992). Studies on the Fucus vesiculosus community in the Baltic Sea. *Acta Phytogeographica Suecica*, *78*. https://www.researchgate.net/publication/29723648

Kautsky, L., & Kautsky, N. (2000). The Baltic Sea, including Bothnian Sea and Bothnian Bay. In Sheppard, C. (Ed.), *Seas at the Millenium: An Environmental Evaluation* (pp. 121–133). Pergamon Press of Elsevier Science. https://www.researchgate.net/publication/281350826

Kautsky, N., Kautsky, H., Kautsky, U., & Waern, M. (1986). Decreased depth penetration of Fucus vesicolosus (L.) since the 1940's indicates eutrophication of the Baltic Sea. *Marine Ecology Progress Series*, *28*(1), 1–8. https://doi.org/10.3354/meps028001

Kersen, P., Kotta, J., Bučas, M., Kolesova, N., & Deķere, Z. (2011). Epiphytes and associated fauna on the brown alga Fucus vesiculosus in the Baltic and the North Seas in relation to different abiotic and biotic variables. *Marine Ecology*, *32*(s1), 87–95. https://doi.org/10.1111/j.1439-0485.2010.00418.x

Klingenberg, C. P. (2003). A Developmental Perspective on Developmental Instability: Theory, Models, and Mechanisms. *Developmental Instability*, 14–34. https://doi.org/10.1093/OSO/9780195143454.003.0002

Klingenberg, C. P. (2015). Analyzing fluctuating asymmetry with geometric morphometrics: Concepts, methods, and applications. *Symmetry*, *7*(2), 843–934. https://doi.org/10.3390/sym7020843

Klingenberg, C. P., Barluenga, M., & Meyer, A. (2002). Shape analysis of symmetric structures: quantifying variation among individuals and asymmetry. *Evolution*, *56*(10), 1909–1920. http://nbn-resolving.de/urn:nbn:de:bsz:352-opus-34855

Klingenberg, C. P., & McIntyre, G. S. (1998). Geometric morphometrics of developmental instability: analyzing patterns of fluctuating asymmetry with Procrustes methods. *Evolution*, *52*(5), 1363–1375. https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1998.tb02018.x

Klingenberg, C. P., & Nijhout, H. F. (1999). Genetics of fluctuating asymmetry: a developmental model of developmental instability. *Evolution*, *53*(2), 358–375. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1999.tb03772.x

Knight, M., & Parke, M. (1950). A Biological Study of Fucus Vesiculosus L. and F. Serratus L. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, *29*(2), 439–514. https://doi.org/10.1017/S0025315400055454

Kornmann, P., & Sahling, P. H. (1977). Meeresalgen von Helgoland. *Helgoländer Wissenschaftliche Meeresuntersuchungen*, *29*(1), 1–289. https://doi.org/10.1007/BF01611137

Lüning, K. (1990). *Seaweeds; Their Environment, Biogeography, and Ecophysiology*.

MacLeod, N. (2013). Landmarks and semilandmarks: Differences without meaning and meaning without difference. *Palaeontological Association Newsletter*, *82*, 32–43.

MacLeod, N. (2017). Morphometrics: History, development methods and prospects. *Zoological Systematics*, *42*(1), 4–33. https://doi.org/10.11865/ZS.201702

Malm, T., & Kautsky, L. (2003). Differences in life-history characteristics are consistent with the vertical distribution pattern of Fucus serratus and Fucus vesiculosus (Fucales, Phaeophyceae) in the central Baltic Sea. *Journal of Phycology*, *39*(5), 880–887. https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2003.02115.x

Malm, T., Kautsky, L., & Engkvist, R. (2001). Reproduction, Recruitment and Geographical Distribution of Fucus serratus L. in the Baltic Sea. *Botanica Marina*, *44*(2), 101–108. https://doi.org/10.1515/BOT.2001.014

Marcus, L. E., Hingst-Zaher, E., & Zaher, H. (2000). Application of landmark morphometrics to skulls representing the orders of living mammals. *Hystrix the Italian Journal of Mammalogy*, *11*(1). https://doi.org/10.4404/HYSTRIX-11.1-4135

Mardia, K. V. ., Kent, J. T. ., & Bibby, J. M. . (1979). *Multivariate analysis*. Academic Press.

Mardia, K. V., Bookstein, F. L., & Moreton, I. J. (2000). Statistical assessment of bilateral symmetry of shapes. *Biometrika*, *87*(2), 285–300. https://doi.org/10.1093/biomet/87.2.285

Martin, G. E. (1982). *Transformation geometry: An introduction to symmetry*. Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4612-5680-9

McAdams, H. H., & Arkin, A. (1999). It's a noisy business! Genetic regulation at the nanomolar scale. *Trends in Genetics*, *15*(2), 65–69. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0168-9525(98)01659-X

Medawar, P. B. (1944). The shape of the human being as a function of time. *Proceedings of the Royal Society B*, *132*, 133–141.

Meichssner, R., Krost, P., & Schulz, R. (2021). Vegetative aquaculture of Fucus in the Baltic Sea—obtaining low-fertility biomass from attached or unattached populations? *Journal of Applied Phycology 2021 33:3*, *33*(3), 1709–1720. https://doi.org/10.1007/S10811-021-02419-X

Møller, A. P., & Swaddle, J. P. (1997). *Asymmetry, Developmental Stability, and Evolution*. Oxford University Press. https://doi.org/10.1093/oso/9780198548959.001.0001

Moss, B. (1967). The Apical Meristem of Fucus. *New Phytologist*, *66*(1), 67–74. https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.1967.TB05988.X

Nellen, U. R. (1966). Über den Einfluß des Salzgehaltes auf die photosynthetische Leistung verschiedener Standortformen von Delesseria sanguinea und Fucus serratus. *Helgoländer Wissenschaftliche Meeresuntersuchungen*, *13*(3), 288–313. https://doi.org/10.1007/BF01611429

Neustupa, J., & Nemcova, Y. (2018). *Morphological allometry constrains symmetric shape variation, but not asymmetry, of Halimeda tuna (Bryopsidales, Ulvophyceae) segments*. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206492

Neustupa, J., & Nemcova, Y. (2022). Geometric morphometrics shows a close relationship between the shape features, position on thalli, and CaCO3 content of segments in Halimeda tuna (Bryopsidales, Ulvophyceae). *Hydrobiologia 2022 849:11*, *849*(11), 2581–2594. https://doi.org/10.1007/S10750-022-04876-Y

Nielsen, Ruth., Kristiansen, A., Mathiesen, L., & Mathiesen, H. (1995). Distributional index of the benthic macroalgae of the Baltic Sea area. In *Acta Botanica Fennica* (Issue 155). Finnish Zoological and Botanical Pub. Board.

Olsen, T. B., García-Martínez, D., & Villa, C. (2023). Testing different 3D techniques using geometric morphometrics: Implications for cranial fluctuating asymmetry in humans. *American Journal of Biological Anthropology*, *180*(1), 224–234. https://doi.org/10.1002/AJPA.24657;WGROUP:STRING:PUBLICATION

Palmer, A. R. (1994). Fluctuating asymmetry analyses: a primer. In Markow, T. A. (Ed.), *Developmental Instability: Its Origins and Evolutionary Implications: Proceedings of the International Conference on Developmental Instability: Its Origins and Evolutionary Implications, Tempe, Arizona, 14–15 June 1993* (pp. 335–364). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-011-0830-0_26

Palmer, A. R. (2005). Antisymmetry. In Hallgrímsson, B. & Hall, B. K. (Eds.), *Variation* (pp. 359–XXIV). Academic Press. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-012088777-4/50018-1

Palmer, A. R., & Strobeck, C. (1986). Fluctuating Asymmetry: Measurement, Analysis, Patterns. *Annual Review of Ecology and Systematics*, *17*, 391–421. http://www.jstor.org/stable/2097002

Palmer, R. A., & Strobeck, C. (2003). Fluctuating Asymmetry Analyses Revisited. In Polak, M. (Ed.), *Developmental Instability: Causes and Consequences* (pp. 279–319). Oxford University PressNew York, NY. https://doi.org/10.1093/OSO/9780195143454.003.0017

Pedersén, M., & Snoeijs, P. (2001). Patterns of macroalgal diversity, community composition and long-term changes along the Swedish west coast. *Hydrobiologia*, *459*, 83–102. https://doi.org/10.1023/a:1012506507322

Pereyra, R. T., Bergström, L., Kautsky, L., & Johannesson, K. (2009). Rapid speciation in a newly opened postglacial marine environment, the Baltic Sea. *BMC Evolutionary Biology*, *9*(1), 70. https://doi.org/10.1186/1471-2148-9-70

Pereyra, R. T., Kinnby, A., Le Moan, A., Ortega-Martinez, O., Jonsson, P. R., Piarulli, S., Pinder, M. I. M., Töpel, M., De Wit, P., André, C., Knutsen, H., & Johannesson, K. (2025). An Evolutionary Mosaic Challenges Traditional Monitoring of a Foundation Species in a Coastal Environment—The Baltic Fucus vesiculosus. *Molecular Ecology*, *34*(23), e17699. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/mec.17699

Robinson, C. B. (1903). The distribution of Fucus serratus in North America. *Torreya*, *3*(9), 132–134. http://www.jstor.org/stable/40594229

Rohlf, F. J. (2015). The tps series of software. *Hystrix the Italian Journal of Mammalogy*, *26*(1), 9–12. https://doi.org/10.4404/HYSTRIX-26.1-11264

Rosen, J. (1989). Symmetry at the foundations of science. *Computers & Mathematics with Applications*, *17*(1), 13–15. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0898-1221(89)90144-2

Rosen, Joe. (1975). *Symmetry discovered : concepts and applications in nature and science*. Cambridge University Press.

Russell, G. (1985). Recent evolutionary changes in the algae of the Baltic Sea. *British Phycological Journal*, *20*(2), 87–104. https://doi.org/10.1080/00071618500650111

Russell, G., & Thomas, N. (1988). The Baltic Sea: a cradle of plant evolution. *Plants Today*, *May-June*, 77–82.

Ruuskanen, A., & Bäck, S. (1999). Morphological variation of northern Baltic Sea Fucus vesiculosus L. *Ophelia*, *50*(1), 43–59. https://doi.org/10.1080/00785326.1999.10409388

Savriama, Y. (2018). A Step-by-step guide for geometric morphometrics of floral symmetry. *Frontiers in Plant Science*, *9*, 398198. https://doi.org/10.3389/FPLS.2018.01433/TEXT

Savriama, Y., & Gerber, S. (2018). Geometric morphometrics of nested symmetries unravels hierarchical inter- and intra-individual variation in biological shapes. *Scientific Reports 2018 8:1*, *8*(1), 18055-. https://doi.org/10.1038/s41598-018-36147-z

Savriama, Y., Gómez, J. M., Perfectti, F., & Klingenberg, C. P. (2012). Geometric morphometrics of corolla shape: Dissecting components of symmetric and asymmetric variation in Erysimum

mediohispanicum (Brassicaceae). *New Phytologist*, *196*(3), 945–954. https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2012.04312.X;WGROUP:STRING:PUBLICATION

Savriama, Y., & Klingenberg, C. P. (2011). Beyond bilateral symmetry: geometric morphometric methods for any type of symmetry. *BMC Evolutionary Biology 2011 11:1*, *11*(1), 280-. https://doi.org/10.1186/1471-2148-11-280

Seed, R., & O'Connor, R. J. (1981). Community Organization in Marine Algal Epifaunas. *Annual Review of Ecology and Systematics*, *12*, 49–74. http://www.jstor.org/stable/2097105

Serrão, E. A., Alice, L. A., & Brawley, S. H. (1999a). Evolution of the Fucaceae (Phaeophyceae) inferred from nrDNA-ITS. *Journal of Phycology*, *35*(2), 382–394. https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.1999.3520382.x

Serrão, E. A., Brawley, S. H., Hedman, J., Kautsky, L., & Samuelsson, G. (1999b). Reproductive success of Fucus vesiculosus (Phaeophyceae) in the Baltic Sea. *Journal of Phycology*, *35*(2), 254–269. https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.1999.3520254.x

Serrão, E. A., Kautsky, L., & Brawley, S. H. (1996). Distributional success of the marine seaweed Fucus vesiculosus L. in the brackish Baltic Sea correlates with osmotic capabilities of Baltic gametes. *Oecologia*, *107*(1), 1–12. https://doi.org/10.1007/BF00582229

Smith, D. R., Crespi, B. J., & Bookstein, F. L. (1997). Fluctuating asymmetry in the honey bee, Apis mellifera: effects of ploidy and hybridization. *Journal of Evolutionary Biology*, *10*(4), 551–574. https://doi.org/10.1046/j.1420-9101.1997.10040551.x

Snoeijs, P. (1999). Marine and brackish waters. In Sjögren, E., Rydin, H., Snoeijs, P., & Diekmann, M. (Eds.), *Swedish Plant Geography* (pp. 187–212). Opulus Press.

Snoeijs-Leijonmalm, P., Schubert, H., & Radziejewska, T. (2017). *Biological Oceanography of the Baltic Sea*.

Sohlenius, G., Sternbeck, J., Andrén, E., & Westman, P. (1996). Holocene history of the Baltic Sea as recorded in a sediment core from the Gotland Deep. *Marine Geology*, *134*(3–4), 183–201. https://doi.org/10.1016/0025-3227(96)00047-3

Sokal, R. R. ., & Sneath, P. H. A. . (1963). *Principles of numerical taxonomy*. W.H. Freeman.

Svensson, N.-O. (1991). Late weichselian and early holocene shore displacement in the central Baltic sea. *Quaternary International*, *9*, 7–26. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/1040-6182(91)90059-W

Tatarenkov, A., Bergström, L., Jönsson, R. B., Serrão, E. A., Kautsky, L., & Johannesson, K. (2005). Intriguing asexual life in marginal populations of the brown seaweed Fucus vesiculosus. *Molecular Ecology*, *14*(2), 647–651. https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02425.x

Thompson, D. W. (1917). *On growth and form*. University press. https://www.biodiversitylibrary.org/item/43173

Valen, L. Van. (1962). A study of fluctuating asymmetry. *Evolution*, *16*(2), 125–142. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1962.tb03206.x

Viscosi, V. (2015). Geometric morphometrics and leaf phenotypic plasticity: assessing fluctuating asymmetry and allometry in European white oaks (Quercus). *Botanical Journal of the Linnean Society*, *179*(2), 335–348. https://doi.org/10.1111/BOJ.12323

Vogt, H., & Schramm, W. (1991). Conspicuous decline of Fucus in Kiel Bay (Western Baltic): what are the causes? *Marine Ecology Progress Series*, *69*, 189–194. https://doi.org/10.3354/meps069189

Waern, M. (1952). Rocky-shore algae in the Öregrund archipelago. *Acta Phytogeographica Suecica*, *30*.

Wahl, M., Jormalainen, V., Eriksson, B. K., Coyer, J. A., Molis, M., Schubert, H., Dethier, M., Karez, R., Kruse, I., Lenz, M., Pearson, G., Rohde, S., Wikström, S. A., & Olsen, J. L. (2011). Stress Ecology in Fucus: Abiotic, Biotic and Genetic Interactions. In Lesser, M. (Ed.), *Advances in Marine Biology* (Vol. 59, pp. 37–105). Academic Press. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385536-7.00002-9

Whitaker, D. M. (1931). Some observations on the eggs of Fucus and upon their mutual influence in the determination of the developmental axis. *The Biological Bulletin*, *61*(3), 294–308.

Zelditch, Miriam., Swiderski, D. L. ., & Sheets, H. David. (2012). *Geometric morphometrics for biologists : a primer*. Elsevier Academic Press.