

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

KATEDRA BOTANIKY



Bakalářská práce

**EKOLOGICKÉ A EVOLUČNÍ PROCESY V PRIMÁRNÍ  
KONTAKTNÍ ZÓNĚ CYTOTYPŮ CHRSTAVCE ROLNÍHO  
(*KNAUTIA ARVENSIS* AGG.)**

(Ecological and evolutionary processes in primary contact zone of cytotypes  
of *Knautia arvensis* agg.)

MARTIN HANZL

PRAHA 2010

VEDOUCÍ PRÁCE: RNDR. FILIP KOLÁŘ

## **Poděkování**

*Rád bych v první řadě poděkoval svému školiteli, Filipu Kolářovi, za poskytnutí nesmírně zajímavého tématu, za jeho zdánlivě nekonečné nadšení do problematiky i za cenné rady v průběhu vypracovávání předložené práce.*

*Za neutuchající podporu a pochopení, obzvláště důležitou během posledních dnů před odevzdáním, vděčím především své přítelkyni.*

*Rovněž chci vyjádřit své díky Honzovi Sudovi, se kterým jsem konzultoval některé skutečnosti a zároveň Zuzce Münzbergové a Martinu „Louskáčkovi“ Weiserovi za shlednutí navrhované metodiky a jejich připomínky, přestože jsem byl z důvodu značného rozsahu nucen metodickou část do výsledné práce nezařadit.*

# OBSAH

|  |               |
|--|---------------|
| Abstrakt .....   | - 4 -         |
| Abstract .....   | - 5 -         |
| <b>1. Úvod.....</b>  | <b>- 6 -</b>  |
| <b>2. Uchycování polyploidů.....</b>                           | <b>- 7 -</b>  |
| 2.1 Nevýhoda malých čísel .....                                | - 7 -         |
| 2.2 Překonání „nevýhody malých čísel“ .....                    | - 8 -         |
| 2.2.1 Autogamie .....  | - 8 -         |
| 2.2.2 Apomixie s. l. ....                                      | - 10 -        |
| 2.2.3 Nenáhodné opylení.....                                   | - 10 -        |
| 2.2.4 Kompetiční schopnosti .....                              | - 12 -        |
| 2.2.5 Další možné faktory .....                                | - 14 -        |
| 2.3 Zhodnocení vlivu „nevýhody malých čísel“ .....             | - 15 -        |
| <b>3. Koexistence cytotypů.....</b>                            | <b>- 16 -</b> |
| 3.1 Zachování cytotypově smíšených populací.....               | - 16 -        |
| 3.1.1 Ekologická izolace .....                                 | - 17 -        |
| 3.1.2 Prostorová segregace cytotypů.....                       | - 19 -        |
| 3.1.3 Selektce proti hybridům .....                            | - 20 -        |
| 3.2 Smíšené populace a jejich stabilita v čase.....            | - 20 -        |
| <b>4. Expanze polyploida .....</b>                             | <b>- 21 -</b> |
| 4.1 Kompetiční vyloučení diploidů.....                         | - 22 -        |
| 4.1.1 Kompetiční schopnosti polyploidů.....                    | - 22 -        |
| 4.1.2 Reprodukční interakce .....                              | - 24 -        |
| 4.1.3 Kompetiční pokusy .....                                  | - 24 -        |
| 4.2 Kolonizace nových stanovišť .....                          | - 25 -        |
| 4.2.1 Širší ekologická amplituda polyploidů.....               | - 25 -        |
| 4.2.2 Typy kolonizovaných biotopů.....                         | - 26 -        |
| 4.3 Urychlení expanze.....                                     | - 27 -        |
| 4.4 Kontaktní zóny cytotypů .....                              | - 28 -        |
| <b>5. Modelová rostlina.....</b>                               | <b>- 30 -</b> |
| 5.1 Výběr modelové rostliny .....                              | - 30 -        |
| 5.2 Charakteristika modelové rostliny .....                    | - 30 -        |
| 5.2.1 Taxonomická specifikace a rozšíření .....                | - 30 -        |
| 5.2.2 Biologické vlastnosti a ekologie .....                   | - 32 -        |
| 5.3 Struktura primární kontaktní zóny .....                    | - 34 -        |
| <b>6. Otázky kladené do navazující magisterské práce .....</b> | <b>- 35 -</b> |
| <b>7. Seznam použité literatury.....</b>                       | <b>- 36 -</b> |

## **ABSTRAKT**

Proces genomové duplikace hraje nezastupitelnou roli v evoluci rostlin. Současné odhady předpokládají, že téměř všechny krytosemenné rostliny jsou dávnými polyploidy.

Teoretické analýzy však shledaly uchycování nových polyploidních linií v diploidních populacích velmi nepravděpodobným. Vlivem reprodukčních interakcí mezi cytotypy (tzv. „nevýhoda malých čísel“) a kompetice o sdílené zdroje by totiž po určité době mohlo dojít k vymizení polyploida z populace. V přírodě ovšem může působení obou procesů kompenzovat celá řada faktorů (např. samosprašnost, nenáhodné opylení, prostorová separace cytotypů). Podmínky uchycení polyploidní linie v sympatrii s diploidy by proto nemusely být tak výrazně omezené. Následná koexistence cytotypů může být v čase stabilní, či se může jednat pouze o přechodný stav vedoucí k vytlačení jedné chromozómové rasy. Mezi těmito alternativami však bývá zpravidla velmi obtížné rozlišit.

Expanze polyploida vede ke zvětšení areálu jeho výskytu, a bývá spojena s kompetičním vyloučením diploidů nebo s kolonizací nových míst. Pokud se areály rozšíření cytotypů dotýkají, mohou vznikat kontaktní zóny. Lze je rozdělit dle jejich původu na primární a sekundární. Primární kontaktní zóny se tvoří, pokud jedna chromozómová rasa dá vzniknout druhé a posléze spolu v sympatrii koexistují. Jejich hlavním specifikem je genetická podobnost mezi cytotypy, díky níž v nich lze studovat procesy analogické raným fázím uchycování polyploidů.

Primární kontaktní zóna mezi diploidy a tetraploidy byla nedávno odhalena v rámci druhového komplexu *Knautia arvensis* agg. (Dipsacaceae). Tyto populace přísluší do provizorního taxonu *Knautia arvensis* subsp. *serpentinicola* Smejkal ined., a osidlují reliktní stanoviště na hadcovém tělese nedaleko Mariánských Lázní.

**Klíčová slova:** polyploidie, nevýhoda malých čísel, kompetice mezi cytotypy, *Knautia arvensis*, serpentinit, primární kontaktní zóna, koexistence cytotypů

## **ABSTRACT**

Genome duplication events have played a crucial role in plant evolution. According to recent estimates, nearly all the angiosperms are ancient polyploids.

However, establishment of new polyploid lineages within diploid populations seemed to be very unlikely, based on theoretical analyses. Reproductive interactions between the cytotypes (so-called „minority cytotype exclusion“) and resource competition might eventually lead to polyploid extinction. On the other hand, the whole variety of factors may compensate both processes under natural conditions (e.g. autogamy, assortative mating, spatial separation of cytotypes). Polyploid establishment in sympatry with diploid progenitor might thus not be as restricted, as previously thought. Subsequent cytotype coexistence may represent a stable equilibrium, or just a transition leading to extinction of one chromosomal race. It is usually almost impossible to discriminate between these alternatives.

Polyploid range expansions are usually accompanied by competitive exclusion of diploid cytotype or colonization of new areas and habitats. When two cytological races meet, zones of contact are often formed. Contact zones could be divided into primary and secondary ones. Primary contact zones arise as a consequence of new polyploid emergence within the progenitor's population. The genetic similarity between the cytotypes makes the primary contact zones suitable for studying the processes analogous to early stages of polyploid establishment.

Primary contact zone between diploids and tetraploids has recently been discovered in *Knautia arvensis* agg. (Dipsacaceae) species complex. The populations belong to provisional taxa called *Knautia arvensis* subsp. *serpentinicola* Smejkal ined. and are confined to relict stands on serpentine outcrops near Mariánské Lázně town.

**Key words:** polyploidy, minority cytotype disadvantage, intercytotype competition, *Knautia arvensis*, serpentine, primary contact zone, cytotype coexistence

# 1. ÚVOD

Polyploidie, vlastnictví tří a více kompletních chromozómových sad, hraje stěžejní úlohu v evoluci rostlin (Levin 2002). Současné karyologické analýzy naznačují, že 70 % krytosemených a 95 % kaprad'orostů tvoří polyploidi (Soltis a Soltis 1999). Podle molekulárních dat však alespoň jedním kolem genomové duplikace prošly v minulosti všechny krytosemenné, snad jen s jedinou výjimkou, kterou tvoří *Amborella*, poslední žijící zástupce skupiny sesterské všem ostatním krytosemenným rostlinám (Soltis et al. 2009).

Polyploidní speciace je zároveň považována za nejběžnější způsob, jakým mohou u rostlin vznikat nové druhy v sympatrii se svými rodičovskými taxony. Genomová duplikace je totiž přímo spojena s tvorbou postzygotických reprodukčně izolačních mechanismů (Flegr 2005). Podle odhadů se změna ploidní úrovně uplatňuje ve 2–4 % všech speciálních událostí u krytosemenných a v 7 % u kaprad'orostů (Otto a Whitton 2000). Polyploidizace vedla k dramatické diverzifikaci řady rostlinných čeledí, včetně *Poaceae*, *Solanaceae*, *Fabaceae* a *Brassicaceae* (Soltis et al. 2009).

Polyploidy lze na základě způsobu jejich vzniku rozdělit do tří skupin (Ramsey a Schemske 1998). Pokud dochází ke genomové duplikaci v rámci jednoho druhu, jedná se o autopolyploida. Autopolyploidie je založena na velké míře podobnosti mezi jednotlivými chromozómovými sadami, jež zpravidla vede v průběhu meiotického dělení k tvorbě multivalentů. Polyploidizační události spojené s hybridizací mezi odlišnými druhy vedou naopak k alopolyploidii. Alopolyploidi proto kombinují dva a více odlišných genomů, přičemž k výměně úseků genetické informace dochází jen mezi homologickými chromozómovými sadami. Multivalenty se tak obvykle netvoří. Zajímavou, avšak především cytogeneticky vymezenou přechodnou skupinu mezi autopolyploidy a alopolyploidy představují segmenální polyploidi, u kterých jsou genomy pouze částečně diferencovány a tak se multivalenty mohou tvořit pouze mezi některými chromozómy (Levin 2002). Vzhledem k markantním odlišnostem mezi autopolyploidii a alopolyploidii se budu v celém textu jednotně věnovat především autopolyploidům.

Ke vzniku autopolyploidů dochází třemi odlišnými způsoby (Ramsey a Schemske 1998). Vlivem poruch v mitotickém dělení mohou polyploidi vznikat z tělních buněk prostřednictvím tzv. somatického zdvojení chromozómů (Briggs a Walters 2001), jež se však zdá být značně vzácným jevem. Zbylé dvě cesty v sobě inkorporují potřebu gamet s dvojnásobným počtem chromozómových sad vzniklých poruchami v průběhu meiózy (dále „neredukovaných gamet“). K jejich tvorbě ovšem dochází v populacích s velmi nízkou pravděpodobností (Ramsey a Schemske 1998), proto není vznik polyploida přímým splynutím dvou neredukovaných gamet příliš běžným. Pravděpodobnější je však scénář zahrnující jako potřebný mezičlánek triploida. Splynutím neredukované a redukované gamety vzniknou v diploidní mateřské populaci triploidní jedinci, jež zpětným křížením s rodiči či přenosem pylu mezi dalšími triploidy mohou vést k formaci tetraploidů. Prostřednictvím tohoto tzv. „triploidního mostu“

(eng. triploid bridge) lze šanci vzniku polyploidů zvýšit, avšak nezbytnou podmínkou je životaschopnost a plodnost triploidních jedinců (Husband 2004). Dále se budu v teoretických úvahách zmiňovat především o situaci, kdy v diploidní populaci vznikají triploidi a tetraploidi, avšak tyto poznatky lze zpravidla aproximovat i na úroveň vyšších polyploidů (např. 4x, 5x a 6x).

Genomovou duplikaci v mnoha případech doprovázejí změny na úrovni biochemických syntéz, ve fyziologii rostlin či jejich morfologii a rovněž v ontogenetických procesech (Levin 1983, Ramsey a Schemske 2002). Ty mohou podstatně ovlivnit úspěch polyploidů na stanovištích, stejně tak jako jejich koexistenci s jedinci diploidního mateřského taxonu (Levin 2002).

Předmětem předkládané literární rešerše je poskytnout základní přehled o procesech, jež mohou ovlivňovat či přímo zprostředkovávat koexistenci cytotypů již od raných fází uchycování polyploidů. Následně chci poukázat, že toto soužití nemusí být v delším časovém měřítku stabilní, nýbrž může vést k vymizení polyploidní rasy, či naopak k její expanzi. Závěrem bych rád upozornil na primární kontaktní zóny cytotypů, jež umožňují studium všech těchto aspektů polyploidní speciace.

## **2. UCHYCOVÁNÍ POLYPLOIDŮ**

### **2.1 NEVÝHODA MALÝCH ČÍSEL**

V úvodu zmíněná všudypřítomnost polyploidů je poněkud v rozporu s předpokládanou obtížností, s jakou dochází k uchycení nové polyploidní linie v sympatrii se svými diploidními předky. Příčinou je frekvenčně závislá selekce vůči vzácnějšímu cytotypu ve smíšených populacích, jež postupně vede k vymizení méně četné rasy. Levin (1975) popsal tento fenomén „nevýhoda malých čísel“ (eng. minority cytotype exclusion). V textu užívám jeho český ekvivalent podle Briggs a Walters (2001).

Zmíněný princip vyplývá z předpokladu, že koexistence dvou cytotypů v populaci po více generací bude umožněna pouze prostřednictvím křížení mezi rostlinami stejných ploidních úrovní. Splývání gamet lišících se počtem chromozómových sad bude totiž neefektivní. Povede například ke vzniku nevyvinutých semen, semen neschopných vyklíčit či sterilních jedinců (Ramsey a Schemske 1998). Bezprostředním důsledkem těchto neefektivních křížení tak bude snížení reprodukční úspěšnosti rostlin (počtu životaschopných fertálních potomků odpovídajícího cytotypu). Pokud nebude poměrné zastoupení cytotypů v populaci stejné (tj. 1 : 1), méně častý z nich bude mít k dispozici méně kompatibilních partnerů a na meziploidní křížení bude více doplácet. V průběhu několika následujících generací proto bude jeho poměrné zastoupení v populaci klesat, dokud nedojde k jeho úplné eliminaci.

Vznik polyploidních rostlin bývá podmíněn zřídka probíhajícími procesy (Ramsey a Schemske 1998), lze tedy očekávat, že se noví polyploidi objeví v mateřské populaci ve velmi nízkých počtech. Zachování nově vzniklého polyploida v diploidní populaci svého předka po více generací tak bude „nevýhodou malých čísel“ značně ohroženo. „Nevýhoda malých čísel“ se však může analogickým

způsobem projevovat i v mateřské diploidní populaci, ve které došlo k početní převaze expandujícího polyploida (kap. 4.1). Klíčová je totiž relativní četnost rostlin.

Princip „nevýhody malých čísel“ byl empiricky ověřen v několika studiích. Husband (2000) na experimentálních smíšených populacích vrbovky *Epilobium angustifolium* zaznamenal snižování počtu semen diploidů s rostoucí frekvencí tetraploidů. U pryskyřníku *Ranunculus adoneus* projevily rostliny transplantované do početně mnohonásobně bohatších populací druhého cytotypu výrazný pokles v tvorbě semen oproti rovněž přesazeným kontrolám (Baack 2005b). Vysazené smíšené populace srhy říznačky (*Dacylis glomerata*) rovněž vykazovaly snížení počtu životaschopných semen obou cytotypů na polovinu v porovnání s populacemi tvořenými jedním cytotypem (Maceira et al. 1993). Zajímavé je, že tento proces nemusí postihovat oba cytotypy stejnou měrou. Například u zmíněné vrbovky je reprodukční úspěšnost diploidů přímo úměrná proporcí kterou tvoří ve smíšené populaci, zatímco reprodukční úspěch tetraploidů na jejich frekvenci v populaci nezávisí (Husband 2000). U *Ranunculus adoneus* se naproti tomu „nevýhoda malých čísel“ projevuje výrazněji u tetraploidů (Baack 2005b).

Levin (1975) vytvořil model koexistence dvou cytotypů, ve kterém kvantifikoval účinek „nevýhody malých čísel“ na poměrné zastoupení chromozómových ras ve smíšených populacích. Výsledkem bylo, že cytotyp s počáteční početní převahou nakonec vždy vytěsnil cytotyp v menšině. Pokud byly oba cytotypy zastoupeny stejně, dosáhly nestabilní rovnováhy. Seběmenší vychýlení z této rovnováhy pak neodvratně vedlo k vyloučení jednoho z nich. S počátečními frekvencemi cytotypů v populaci 60 % a 40 % k tomuto vyloučení došlo již v průběhu 4 generací!

## **2.2 PŘEKONÁNÍ „NEVÝHODY MALÝCH ČÍSEL“**

Závěry modelu, který publikoval Levin (1975), však nevypadají příliš realisticky. Uchycení polyploidů v mateřských populacích, stejně tak jako dlouhodobá koexistence rostlin rozdílných ploidních úrovní v rámci jedné smíšené populace, by totiž byly prakticky nemožné. V přírodních podmínkách však cytotypově smíšené populace nezřídka pozorujeme (McArthur a Sanderson 1999, Kao 2008), takže negativní vliv „nevýhody malých čísel“ musí být kompenzován nějakými faktory. Sám autor si toho byl vědom a výsledky modelu upravil s ohledem na samosprašnost rostlin a možnost transferu pylu či semen minoritního cytotypu z okolních populací (Levin 1975). Zmíněné parametry prodloužily dobu potřebnou k vyloučení cytotypu, nebo při dostatečné intenzitě svého působení vedly k formování rovnovážného stavu. Hlavním cílem této kapitoly bude právě přiblížit faktory omezující vliv „nevýhody malých čísel“.

### **2.2.1 Autogamie**

Autogamie (samosprášení) je reprodukčním systémem spočívajícím ve splývání gamet původem ze stejného jedince. Pohlavní buňky mohou pocházet z jednoho květu, nebo dojde k přenosu pylu mezi



dvěma květy na jedné rostlině. Samosprášení se zdá být na první pohled optimálním řešením, neboť garantuje oplození kompatibilní (vlastní) gametou.

Autogamii však může u řady rostlinných druhů účinně bránit přítomnost autosterility (eng. self-incompatibility). Ta se již tradičně dělí na heteromorfní (např. dvoudomost, heterostylie), sporofytickou (SSI) a gametofytickou (GSI), v závislosti na konkrétních mechanismech svého působení (Briggs a Walters 2001). Přestože za určitých podmínek může být dočasný návrat k samosprášení velmi výhodný (např. při uchycování polyploidů), autosterilita brání spontánní obnově samosprášení. Ztráta autosterility by tak mohla výrazně zvýšit šance neopolyploidů na přežití. Existence polyploidních taxonů schopných samosprášení v rámci skupin tvořených fylogeneticky příbuznými autosterilními diploidy, vedla k obecnému přesvědčení, že schopnost překonat autosterilitu by mohla být dokonce přímým důsledkem polyploidizace (Levin 2002). Miller a Venable (2000) zmiňují, že 70 % vybraných taxonů obsahovalo samosprášení schopné polyploidy v jinak autosterilních diploidních skupinách. Mable (2004) zkomponovala databázi dostupných informací z literatury, avšak analýza dat neprokázala závislost mezi ploidní úrovní a ztrátou autosterility. Přestože nízké počty zahrnutých druhů, pochyby o převzatých údajích či nízká taxonomická reprezentativnost by mohly snižovat význam uvedených odhadů, přesnější stanovení nejsou v současné době k dispozici.

Další komplikaci představuje snižování vitality a fertility potomstva vzniklého při několikanásobném samoopylení (Vange 2002). Jedná se o tzv. inbrední depresi, která může být geneticky založena různými způsoby. Nejznámějším je segregace letálních a subletálních alel vlivem zvyšování homozygotnosti v lokusech (Briggs a Walters 2001). V tomto případě by autopolyploidi, vlastníci tři a více kompletních chromozómových sad, mohli negativním účinkům odolávat lépe než diploidi. Pokud je však intenzita působení inbrední deprese přímo úměrná počtu zastoupených alel, budou polyploidi doplácet na opakované samosprášení více (Husband et al. 2008).

Podle empirických dokladů trpí u vrbovky *Epilobium angustifolium* diploidi inbrední depresí opravdu prokazatelně více než tetraploidi (Husband a Scheske 1997). Matematické modely uchycování polyploidů, které publikovali Levin (1975) a Rodríguez (1996) považují autogamii za efektivní způsob dosažení koexistence cytotypů, avšak nezohledňují vliv inbrední deprese. Přitom právě na ní účinnost samosprášení bezprostředně závisí. Rausch a Morgan (2005) tento předpoklad do svého modelu začlenili a podmínky překonání „nevýhody malých čísel“ se rázem změnily. Ačkoliv se tetraploidi při tvorbě semen spoléhali převážně na samosprášení, pokud jej doprovázela vysoká míra inbrední deprese, byli z populace i tak vyloučeni.

Mnohdy bývá uváděno, že polyploidi podléhají autogamii častěji než jejich diploidní příbuzní (Levin 2002). Barringer (2007) na základě literárních údajů o míře samosprášení v přírodních populacích prokázal, že u krytosemenných rostlin mají polyploidi častěji tendenci k autogamii. K obdobným závěrům došel i Husband et al. (2008). Mable (2004) v již zmíněné studii naopak naznačila, že by tomu tak nemuselo být. Nicméně i tyto analýzy jsou omezeny na několik druhů a

pracují s převzatými údaji neznámé věrohodnosti. Nový pohled na problematiku umožnily experimenty s kolchicinem indukovanými polyploidy. Na rozdíl od diploidů a přírodních tetraploidů se totiž u syntetických neotetraploidů v prvních generacích téměř neprojevovala inbrední deprese, avšak tento stav byl jen dočasný (Husband et al. 2008). Pokud se tedy síla inbrední deprese může v průběhu vývoje polyploidní linie měnit (např. v souvislosti s pozvolným snižováním míry heterozygotnosti polyploida), význam autogamie v iničiálních fázích formace polyploidních komplexů může být mnohem vyšší, než vyplývá ze srovnání reprodukčních systémů již stabilizovaných polyploidních liniích použitých v předchozích analýzách.

### **2.2.2 Apomixie s. l.**

Při apomixii se rostlina rozmnožuje, aniž by došlo ke splnutí gamet, takže pohlavní proces zcela či do značné míry vymizel. V širším pojetí můžeme rozlišit vegetativní apomixii (např. rozrůstání oddenky, tvorba pacibulek) a agamospermii (vznik neoplozených semen). Apomixie představuje co do možných mechanismů působení komplikovaný reprodukční systém (Briggs a Walters 2001). Protože není spojena s pohlavní rekombinací, nehrozí u ní inbrední deprese. Každý klon apomiktních polyploidů je navíc odlišnou entitou, jež se může lišit svou ekologickou tolerancí od ostatních klonů (Levin 2002). Polyploid se tak může účinněji adaptovat na okolní prostředí, než pohlavně se množící mateřský diploid. Potenciální riziko však představuje možnost šíření rostlinných patogenů z generace na generaci (Briggs a Walters 2001).

U rostlin vlastních lichý počet chromozómových sad lze předpokládat nerovnoměrné rozdělování chromozómů do gamet a následně tak jejich omezenou fertilitu. Agamospermie však umožňuje nasazení semen i v těchto případech. Často se proto vyskytuje u triploidů, jako například u pampelišek *Taraxacum* spp. (de Kovel a de Jong 2000). Agamospermie však není jen výsadou skupin se sníženou fertilitou, nalézáme ji i u polyploidů schopných pohlavního rozmnožování. V takovém případě na ni taxon nemusí být odkázán obligátně, ale může ji kombinovat s alogamií v podobě fakultativní agamospermie. Situaci nadále komplikují rozdílné predispozice k agamospermii mezi taxonomickými skupinami. Téměř všechny agamospermní taxony jsou však polyploidi (Bicknell a Koltunow 2004).

Prha *Arnica cordifolia* tvoří hojně smíšené populace triploidů s tetraploidy. Reprodukčním interakcím mezi cytotypy však úspěšně brání jejich převládající vegetativní rozmnožování a agamospermie (Kao 2007). Zdá se, že přechod z pohlavního rozmnožování na částečnou či úplnou agamospermii může být jedním z důsledků genomové duplikace. Například u *Townsendia hookeri* totiž fylogenetické analýzy prokázaly minimálně čtyřnásobný nezávislý vznik agamospermních polyploidů z alogamních diploidních předků (Thompson a Whitton 2006).

### **2.2.3 Nenáhodné opylení**

Naprostá většina našich představ o změnách frekvencí polyploidů v průběhu jejich uchycování je založena na publikovaných modelech (Levin 1975, Fowler a Levin 1984), které předpokládají stejnou

pravděpodobnost přenosu pylu mezi dvěma libovolnými členy populace. Takové podmínky však v přírodě nepanují. Vlivem prostorové strukturalizace populace, biologických vlastností rostlin i jejich opylovačů dochází k nenáhodnému opylení, jež následně tlumí vliv „nevýhody malých čísel“.

K minimalizaci křížení mezi diploidy a polyploidy může docházet prostřednictvím fenologického posunu, pokud se cytotypy mezi sebou liší obdobím nástupu kvetení, či délkou jeho trvání. Jeho účinnost závisí především na míře překryvu v období kvetení mezi nimi. Nulový překryv by zprostředkoval úplnou reprodukční izolaci. Ve smíšených populacích však bývá zpravidla běžnější posun částečný, jako je tomu ve všech níže uvedených příkladech.

Posun ve fenologii polyploidů oproti jejich diploidním předkům by mohl být způsoben vlastní genomovou duplikací. V literatuře se běžně setkáváme s předpokladem, že vzhledem k pomalejší rychlosti růstu začínají kvést polyploidy později (Levin 1983). Ovšem právě opačné příklady jsou až překvapivě četné. V zóně parapatrického výskytu cytotypů ovsíku *Arrhenatherum elatius* dochází u tetraploidů k časnějšímu nástupu kvetení, jež končí zpravidla dříve než začnou kvést první diploidy (Petit et al. 1997). Obdobně tetraploidní rostliny ze španělských populací srhy *Dactylis glomerata* kvetou již na jaře, zatímco diploidy až v průběhu léta (Maceira et al. 1993). Situace však může být komplikovanější. V přirozených smíšených populacích dlužichy *Heuchera grossulariifolia* kvetou tetraploidní jedinci dříve než diploidní. Fenologický posun byl patrný i na rostlinách vysazených následně na univerzitní zahradě, avšak časněji zde začínali kvést diploidy (Segraves a Thompson 1999). U ovsíku se naopak období kvetení rostlin z přírodních populací po přesazení do zahrady výrazně nezměnilo (Petit et al. 1997). Rozdíly v nástupu kvetení a délce jeho trvání lze rovněž nalézt mezi populacemi z různých (a to i nepříliš vzdálených) lokalit, jako je tomu například u tetraploidů pětiprstky *Gymnadenia conopsea* (Jersáková et al. 2010). Na optimálním načasování kvetení se tak alespoň v některých případech mohou podílet i podmínky prostředí.

Pro krytosemenné rostliny původním a zároveň i převládajícím typem opylení je entomogamie, založená na mutualistickém vztahu mezi rostlinou a hmyzími opylovači (Begon et al. 2006). Nenáhodné opylení by mohlo být zprostředkováno, pokud by se opylující hmyz přednostně věnoval jednomu z cytotypů a navštěvoval jeho květy častěji. Ovšem taková aktivní preference by byla podmíněna rozrůzněním cytotypů (především v květních strukturách) a schopností opylovače tyto rozdíly detekovat.

Odlišnosti mezi cytotypy byly zaznamenány u vrbovky *Epilobium angustifolium*, kde tetraploidy disponují prokazatelně delšími a širšími korunními lístky, delšími čnělkami a větším počtem otevřených květů v květenství (Kennedy et al. 2006). U dlužichy *Heuchera grossulariifolia* je diferenciací cytotypů dokonce mnohem výraznější, a někdy i využívaná přímo k jejich rozlišení v terénu. Květy tetraploidů jsou větší, nápadně světleji zbarvené a mají delší korunní lístky. Diploidy mají naproti tomu větší počet květů v květenstvích (Segraves a Thompson 1999). Pětiprstka *Gymnadenia conopsea* je opylována motýli aktivujícími za soumraku, kteří zpravidla využívají k identifikaci květů vůni. Spektrometrická

analýza vzorků květní vůně vedla k zjištění, že se jednotlivé cytotypy mezi sebou liší jejím chemickým složením (Jersáková et al. 2010). Polyploidizační událost může v některých případech ovlivnit rychlost růstu, tvar či velikost orgánů, jakož i syntézu sekundárních metabolitů (např. barvené pigmenty, nektar, vůně) a mohla by tak být příčinou pozorovaných odlišností, jak shrnul Levin (2002). Některé výzkumy však naznačují, že za vznik rozdílů mezi cytotypy by mohl být zodpovědný i přirozený výběr, jak tomu patrně bude v případě dlužichy (Nuismer a Cunningham 2005).

Druhou podmínkou je vlastní chování opylovače. Jen na něm totiž záleží, zda-li se „rozhodne“ konkrétní typ upřednostňovat. Prokazatelné rozdíly v preferencích opylovačů byly zjištěny u dlužichy. Přestože žádný ze studovaných druhů hmyzu nebyl výlučně vázán na konkrétní cytotyp, přibližně třetina ze všech společných opylovačů navštěvovala rostliny jedné ploidní úrovně častěji (Segraves a Thompson 1999). Obdobná situace byla pozorována i v populacích vrbovky. V druhových spektrech opylovačů nebyl mezi cytotypy rozdíl, avšak květy tetraploidních rostlin byly preferovány (Kennedy et al. 2006). U pětiprstky však motýli nenáhodně opylení nezprostředkovávají, a to i přesto, že jejich tykadla jsou schopna rozpoznat hlavní komponenty vůně zodpovědné za rozdíly mezi cytotypy (Jersáková et al. 2010).

Odlišnosti v struktuře květů mezi diploidy a polyploidy nemusí jen umožňovat rozlišení cytotypů hmyzem, nýbrž s jejich pomocí mohou rostliny přímo selektovat své opylovače. V tomto ohledu se zdá být důležitá délka ostruhy, jež slouží jako filtr třídící opylovače s dostatečně dlouhým sosákem. U pětiprstky se cytotypy prokazatelně v délce ostruhy liší, avšak rozdíl nebyl zřejmě dostatečný, aby vedl k odlišným spektrům opylovačů (Jersáková et al. 2010). K úspěšnému nenáhodnému opylení rovněž postačuje, když má opylovač tendence navštěvovat během svých letů vždy několik květů stejného cytotypu po sobě. Potenciální příčinou je například prostorová segregace rostlin odlišných ploidních úrovní (podobněji v kap. 3.1). Důvodem mohou být i početná květenství vedoucí k návštěvám více květů na jedinci stejným opylovačem. V takovém případě se však opět jedná o autogamii a výhody nenáhodného opylení může následně snižovat inbrední deprese. Vyplatit se však může, pokud je zdatnost samosprášeného potomstva alespoň v některých případech vyšší než zdatnost mezicytotypových hybridů, jak to u vrbovky popisují Kennedy et al. (2006).

#### **2.2.4 Kompetiční schopnosti**

Fowler a Levin (1984) posuzovali na svém modelu vliv kompetice na uchycování polyploidů. Ve výsledku byli nově vzniklí polyploidy z populace diploidů vždy vytlačeni, a to i za předpokladu velké kompetiční výhody. K obdobným závěrům došel již Levin (1975), který však podotkl, že pokud by byli polyploidy kompetičně zdatnější, rovnovážná frekvence cytotypů v populaci by se posunula v jejich prospěch. Pro ilustraci u vrbovky *Epilobium angustifolium* byla vzhledem k vyšší zdatnosti rodičovského diploidního cytotypu rovnovážná frekvence tetraploidů ku diploidům odhadnuta na 3 : 2 (Husband 2000).

Jak naznačují modely, vyšší konkurenceschopnost sama o sobě možná nebude k uchycení polyploidů postačující. Ovšem přesto může k překonání „nevýhody malých čísel“ podstatně přispívat. Vyloučení polyploidů z diploidní populace prostřednictvím „nevýhody malých čísel“ je založeno na postupném snižování podílu životaschopných polyploidních semen. Početnost polyploida se proto sníží vždy jen při obnově populace ze semen, zatímco v průběhu následné ontogeneze na něj „nevýhoda malých čísel“ již nijak nepůsobí. Pokud tedy vlivem svých kompetičních schopností polyploid zvýší svou frekvenci v populaci na hodnotu vyšší, než jakou měl mezi klíčovými semeny, bude negativní vliv „nevýhody malých čísel“ úspěšně kompenzovat.

Problematika odlišností v kompetičních schopnostech mezi cytotypy je podrobně rozvedena v kapitole č. 4.1.1. Zmíním proto jen jeden specifický příklad. Ve smíšených populacích pryskyřníku *Ranunculus adoneus* se „nevýhoda malých čísel“ projevuje výrazným snížením počtu nasazených semen. Rostliny však mohou investovat do vývoje každého semene relativně větší množství energie (princip „trade-off“). Vznikají tak prokazatelně rozměrnější semena, s jejichž pomocí rostliny částečně kompenzují svůj snížený reprodukční úspěch (Baack 2005b).

Rostliny jsou charakteristické svou metagenezí, proto nemusí být kompetice vázána jen na sporofytickou fázi jejich životního cyklu. Opylovač, který přistane na květu, nenesou zpravidla pouze pyl z květu předchozího, ale spíše směs pylových zrn z několika již navštívených květů. Květy mohou být rovněž opyleny více než jedním opylovačem. Tudíž i při vysoké míře nenáhodného opylení se na bliznách může vyskytnout současně pyl obou cytotypů. A právě mezi opylením a oplozením rostliny může docházet ke kompetici samčích gametofytů mezi sebou či s pletivou samičích pohlavích orgánů.

Husband et al. (2002) se pokusili na experimentální populaci vrbovky *Epilobium angustifolium* prokázat vliv právě těchto skrytých reprodukčních bariér mezi cytotypy. Rozdílnou úspěšnost haploidního a diploidního pylu posuzovali podle ploidní úrovně embryí vzniklých semen a přímého pozorování obarvených pylových láček pod fluorescenčním mikroskopem. Dle výsledků měl diploidní pyl značnou převahu na bliznách rostlin obou ploidních úrovní, a oplodnil tak větší proporcii vajíček. Rovněž diploidní pylové láčky byly v čnělce četnější a jejich početní převaha dokonce směrem k semeníku podstatně vzrůstala. Převaha diploidního pylu v gametofytické kompetici je vlastnost, která by výrazně zvýšila šanci tetraploidů na úspěšné uchycení v populaci. Značný úspěch diploidních pylových láček lze vysvětlit vyšší schopností diploidního pylu tlumit negativní vlivy recesivních alel a většími rozměry pylových zrn, která pravděpodobně obsahují i více dostupných živin pro růst pylové láčky (Husband et al. 2002). V obou případech je pravděpodobné, že se jedná o přímé důsledky genomové duplikace. Tato vlastnost se však rovněž mohla vyvinout i vlivem přirozeného výběru. Selektce mohla zvýhodňovat rychlejší růst diploidních pylových láček, protože jejich tetraploidní mateřské rostliny mají v porovnání s diploidy prokazatelně delší čnělky (Kennedy et al. 2006).

Obdobný pokus provedený na pryskyřníku *Ranunculus adoneus* svědčil naopak spíše o převaze haploidního pylu nad diploidním (Baack 2005b). Vyšší kompetiční zdatnost haploidního pylu v porovnání s diploidním zmiňuje i Levin (2002). Nejedná se tak patrně o obecnou výsadu polyploidů.

### 2.2.5 Další možné faktory

Na smíšenou populaci nesmíme nahlížet jako na izolovaný systém. Interakce s okolím, a to především s přílehlými populacemi stejného druhu, jsou totiž velmi důležité. Distribuce druhu může mít charakter většího počtu subpopulací propojených migranty. Jednalo by se pak o metapopulaci, která by mohla trvale přežívat díky rovnováze mezi náhodným vymíráním a rekolonizací, a to i přesto, že by její lokální populace nebyly stabilní (Jarošík 2005). Metapopulační struktura by mohla uchycení nové polyploidní linie usnadnit. Již Levin (1975) upozornil na význam přísunu semen a pylových zrn minoritního cytotypu z okolí jako na důležitý faktor snižující vliv „nevýhody malých čísel“. K jeho kompenzaci jsou vhodnější semena, jež nejsou potřebná v tak velkých množstvích jako pyl. Na druhou stranu, tento transfer může výhodu četnějšího cytotypu ještě umocnit, pokud by semena i pyl patřily hojnějšímu typu. Míra s jakou „nevýhoda malých čísel“ působí je nepřímo úměrná poměrnému zastoupení cytotypu v populaci. Šance polyploida na přežití proto bude vyšší, pokud k jeho vzniku dojde v málo početné populaci diploida, či pokud populace jeho předka početně fluktuuje v čase.

K úspěšnému uchycení polyploidní linie může přispět, pokud diploidi produkují neredukované gamety. Jednak zvyšují pravděpodobnost, s jakou bude diploidní vajíčko oplozeno kompatibilní gametou, zároveň však vedou k opakovanému nezávislému vzniku polyploidních linií (Soltis a Soltis 1999). Felber (1991) zahrnul produkci neredukovaných gamet jako proměnnou do svého modelu. Při dostatečné míře vedla k uchycení tetraploidů, a při dalším zvýšení dokonce k vytlačení diploidních předků. Obdobné výsledky poskytl též model, který zpracoval Husband (2004). Frekvence neredukovaných gamet se u krytosemenných odhaduje na 0,5 % vytvořených vajíček a pylových zrn (Ramsey a Schemske 1998). Ovšem podstatné rozdíly v míře jejich tvorby nacházíme jak mezi různými druhy, tak i u jedinců v rámci jedné populace (Levin 2002). Zvýšená produkce neredukovaných gamet je navíc charakteristická pro rostliny trpící stresem v podobě teplotních změn, nedostatku živin či napadení patogenem (Levin 2002).

Doposud jsem do svých úvah o uchycování tetraploidů v diploidních populacích nezahrnoval triploidní rostliny, což je v souladu s ranými pracemi zabývajícími se tématem (např. Levin 1975, Fowler a Levin 1984). Triploidi jsou však v diploidních populacích často pozorováni, neboť spontánně vznikají splýváním neredukovaných gamet s redukovanými (Burton a Husband 1999, Bretagnolle 2001). Přestože vlivem poruch meiózy tvoří převážně aneuploidní gamety, mohou v menší míře produkovat i rovnocenné gamety euploidní a prostřednictvím „triploidního mostu“ dávat následně vzniknout novým tetraploidům (Ramsey a Schemske 1998). Problém však představuje často omezená vitalita a fertilita triploidů (Baack 2005b, Nuismer a Cunningham 2005). U vrbovky jsou triploidi velmi

částí a byli detekováni v 40 % populací obsahujících v dostatečném množství rostliny diploidního a tetraploidního cytotypu. Přesto je jejich zdatnost v porovnání s diploidy desetkrát nižší a produkují o čtyři pětiny méně životaschopného pylu (Husband 2004). Triploidi však mohou zvýšit pravděpodobnost koexistence cytotypů, přestože je jejich zdatnost nízká (Husband 2004). Ve smíšených populacích některých rostlin se však triploidi nemusí tvořit téměř vůbec. U semen totiž může dojít ke kolapsu endospermu vlivem tzv. „triploidního bloku“ (eng. triploid block), v jehož důsledku abortují či ztrácí klíčivost (Levin 2002).

### **2.3 ZHODNOCENÍ VLIVU „NEVÝHODY MALÝCH ČÍSEL“**

Faktorů, které částečně či úplně kompenzují negativní důsledky křížení cytotypů mezi sebou, je mnoho a zpravidla se jedná o procesy běžně v přírodních populacích probíhající. Není proto překvapivé, že celý koncept „nevýhody malých čísel“, tak jak jej navrhl Levin (1975), se v přirozených populacích uplatňuje s mnohem nižší účinností, než jaká mu byla zpočátku předpovězena. S postupem času každý následně publikovaný model uchycování polyploidních linií shledal podmínky pro přežití polyploida méně omezené než model předcházející. Vlastně lze spekulovat, zda-li se v konečném důsledku „nevýhoda malých čísel“ na případné extinkci polyploida vůbec podílí. Husband a Sabara (2003) se pokusili shrnout několikaleté studium reprodukční biologie smíšených populací vrbovky *Epilobium angustifolium* a kvantifikovat míru genového toku mezi diploidy a tetraploidy. V rámci smíšených populací autoři udávají, že přibližně v 87 % případů je vajíčko rostliny oplozeno gametou odpovídající ploidní úrovni. Po započtení míry geografické izolovanosti mezi cytotypy z různých populací odhadli tuto hodnotu dokonce na 98 %. Při takové míře kompatibilních oplození by se vliv „nevýhody malých čísel“ pravděpodobně ani neprojevil.

Některé z výše zmíněných faktorů mohly vzniknout jako přímý důsledek genomové duplikace. Polyploid by je tak měl k dispozici již v nejranějších fázích své existence, což by bylo pro účely úspěšného uchycení polyploidní linie vskutku velmi přínosné. Starší literatura je bohatá na práce popisující odlišnosti mezi polyploidy a jejich diploidními předky, jak shrnul Levin (1983, 2002). Již při zběžném pohledu je však patrné, že bývá v mnoha případech obtížné učinit jakákoliv zobecnění o směru působení těchto rozdílů. Přitom pokud se jedná například o vyšší kompetiční zdatnost nebo asymetrii v nenáhodném opylení, uchycení polyploidů závisí právě na tom, který cytotyp budou tyto vlastnosti zvýhodňovat. Hlavní nevýhodou těchto studií je zpravidla neznámé genetické pozadí a evoluční historie zkoumaných druhů. Neodlišují tak změny v biologických vlastnostech cytotypů vzniklé duplikací genomu od těch, jež má na svědomí až následně působící selekce nebo drift. Přitom odlišnosti, které vznikly až druhotně v době koexistence obou cytotypů, nemohly k překonání frekvenčně závislé selekce vůči vzácnějšímu typu nijak přispět.

Odlíšení vlivu genomové duplikace od následných evolučních procesů v populacích jistě není jednoduché. Petit et al. (1999) navrhl jako možné řešení studium rozdílů mezi diploidy a polyploidy

v terénu srovnat s výsledky získanými zkoumáním umělých neopolyploidů. Schranz a Osborn (2004) pozorovali na kolchicinem indukovaných neopolyploidech brukve *Brassica napus* prokazatelnou fenotypovou variabilitu, což by svědčilo o tom, že i samotná polyploidizační událost by mohla generovat některé z odlišností mezi cytotypy. Ovšem i studium umělých neopolyploidů má své nevýhody. Při chemické indukci polyploidů totiž může docházet k změnám v biologických vlastnostech způsobených šokem po vystavení chemické látky spíše než zdvojením genomu. Proces jejich indukce je navíc často spojen s umělým výběrem ze strany experimentátora (Schranz a Osborn 2004). Navíc neopolyploidy indukujeme ze současných diploidů, zatímco dnešní polyploidi mohli vzniknout z rostlin jiných vlastností (Husband et al. 2008).

### **3. KOEXISTENCE CYTOTYPŮ**

Polyploidní rostliny ale nejsou během svého uchycování ohroženy jen reprodukčními interakcemi s diploidními předky. Již od svého vzniku totiž podléhají zároveň i kompetici o sdílené zdroje, například o dostupnost světla a jeho kvalitu, či množství vody a živin přítomných v substrátu. Kompetiční vyloučení ze strany diploidů tak hrozí paralelně s negativními důsledky „nevýhody malých čísel“ a zvyšuje pravděpodobnost extinkce polyploidů.

Pokud však polyploidní linie zdárně překoná počáteční obtíže, může ustavit relativně stabilizované populace a dojde tak k jejímu uchycení. Velikost populace polyploida po čase vzroste na hodnotu, kdy na ni frekvenčně závislá selekce v podobě „nevýhody malých čísel“ bude mít menší vliv a nebude ji nezbytně existenčně ohrožovat. Zato kompetice mezi cytotypy bude přetrvávat, a s populačním růstem polyploida se dokonce i stupňovat, může tedy být hlavním faktorem ovlivňujícím koexistenci rostlin rozdílných ploidních úrovní ve smíšených populacích. Samozřejmě v rámci společenstva neprobíhá kompetice jen mezi cytotypy, nýbrž i mezi nimi a okolními druhy. Ovšem lze předpokládat, že by její míra měla být právě mezi cytotypy zvýšená, neboť ke vzniku polyploida dochází přímo v diploidních populacích a může tak být bezprostředně obklopen diploidními rostlinami. Rovněž navzdory možným odlišnostem způsobeným genomovou duplikací budou ekologické nároky obou cytotypů s velkou pravděpodobností velmi blízké. A míra kompetice bývá nejvyšší právě mezi příbuznými taxony se z velké části se překrývajícími základními nikami (Begon et al. 2006).

#### **3.1 ZACHOVÁNÍ CYTOTYPOVĚ SMÍŠENÝCH POPULACÍ**

Ukazuje se, že přítomnost rostlin více ploidních úrovní v rámci jedné populace je až překvapivě častým fenoménem v polyploidních komplexech (Keeler a Davis 1999, Weiss et al. 2002, Stuessy et al. 2004, Schönswetter et al. 2007). K tomuto poznání zásadním způsobem přispělo široké uplatnění průtokové cytometrie (eng. flow cytometry, FCM) v experimentálních studiích. Zmíněná technika umožňuje mnohem rozsáhlejší vzorkování než konvenčně užívané metody a je tedy schopna odhalit i přítomnost minoritních cytotypů v populacích (Suda et al. 2007). Navzdory hojnému výskytu smíšených populací však konkrétní mechanismy umožňující koexistenci rostlin různých ploidních



úrovní nejsou ještě dostatečně objasněny. Zásadní roli bude zřejmě hrát míra kompetice mezi cytotypy. Právě její omezení by mohlo podstatně přispět k dlouhodobému soužití. Minimalizace kompetičních vztahů mezi rostlinami lišícími se ploidní úrovní je možná, pokud budou cytotypy využívat jiné zdroje (ať již jiného typu či prostorově, časově oddělené), nebo když se při sdílení společného zdroje rozliší natolik, aby jej každý zužíval poněkud odlišným způsobem (Pfennig a Pfennig 2009). Patrně nejjednodušším řešením omezujícím kompetici mezi diploidy a polyploidy je jejich separace v prostoru. Ta je umožněna prostřednictvím hned několika mechanismů. Již na první pohled je zřejmé, že jsou mezi nimi i procesy zvyšující nenáhodnost opylení. Proto mohou v průběhu uchycování polyploidů úspěšně tlumit jak reprodukční tak kompetiční interakce mezi cytotypy současně.

### 3.1.1 Ekologická izolace

Jednotlivé cytotypy se mohou lišit různou měrou svými ekologickými nároky a obývat tak odlišná stanoviště. Charakter jejich distribuce je pak udržován rozdílnými schopnostmi cytotypů přežít v různých typech prostředí. Polyploidy proto nebudou schopni úspěšně expandovat do biotopů osídlených diploidy a naopak. Interakce mezi rostlinami odlišných ploidních úrovní se omezí pouze na místa, kde dochází ke kontaktu mezi oběma typy prostředí. Rozšíření chromozómových ras v terénu pak bude poměrně přesně odrážet prostorovou heterogenitu biotopů. Míra odlišnosti mezi biotopy obývanými polyploidy a jejich diploidními předky může rovněž ovlivňovat prostorové měřítko, na kterém se bude segregace cytotypů odehrávat. Kupříkladu u starčku *Senecio carniolicus* podléhá rozšíření cytotypů mikrostanovištním podmínkám (Hülber et al. 2009), zatímco u *Galax urceolata* lze odlišnost v osídlovaných biotopech odhalit až na regionální úrovni (Johnson et al. 2003). Distribuce cytotypů však rovněž může odpovídat rozložení biotopů v minulosti, na jejíž změnu doposud rostliny nestačily patřičným způsobem reagovat (van Dijk a Bakx-Schotman 1997).

Odlišnosti v ekologických nárocích mohou vzniknout jako jeden z přímých důsledků genomové duplikace. Levin (2002) zmiňuje změny v teplotních optimech i vyšší toleranci k nedostatku živin a vody v substrátu u polyploidů v porovnání s příbuznými diploidními taxony. Autor však čerpal ze starších literárních pramenů, jejichž věrohodnost jsem již v kapitole č. 2.3 diskutoval.

Další možnou příčinu představuje působení přirozeného výběru. Z tohoto hlediska se jeví vhodným rozlišit dva alternativní scénáře. V prvním z nich sdílí polyploid biotop se svým diploidním předkem. Jeho diaspory jsou sice rozšiřovány za hranice populace, do sousedního neosídleného biotopu, avšak pravděpodobnost jejich úspěšného uchycení je mizivá. Šance, že dojde ke zdárné kolonizaci nového biotopu však poněkud vzroste, pokud je v tamním společenstvu snížena konkurence ze strany adaptovaných rostlin. Může se jednat třeba jen o dočasný stav způsobený lokálními disturbancemi. Kolonizace je však pouze prvním krokem vedoucím k úspěšné změně stanoviště (Levin 2003). Údělem polyploidního výsadku je přetrvat po několik generací v prostředí, ve kterém čelí abiotickým i biotickým tlakům, na které nejsou rostliny patřičně adaptovány. Geny, jež byly zodpovědné za úspěch taxonu v původním habitatu jej mohou v novém prostředí znevýhodňovat. Situaci může nadále ztěžovat

genový tok mezi původními a novými populacemi polyploida, např. skrze následnou imigraci, jež by mu komplikoval úspěšné přizpůsobování.

Druhý scénář nezahrnuje kolonizaci nového biotopu, nýbrž se odehrává jen v oblasti, která je taxonem již osídlena. Stabilní společné soužití obou cytotypů je umožněno, pokud se od sebe liší způsobem využívání dostupných zdrojů (Pfennig a Pfennig 2009). V sympatrii tak dochází k selekci, jejímž předmětem jsou vlastnosti zodpovědné za využívání zdrojů. Potomci, kteří se v populaci nejvíce odlišují způsobem využívání zdrojů mají nejvyšší zdatnost, a tak se tato přizpůsobení v populaci rychle šíří. Tento takzvaný „model vytěsnění znaku“ (eng. character displacement) brání vyloučení jednoho z cytotypů a umožňuje jejich koexistenci (Flegr 2005). V populaci, ve které rostou oba cytotypy v sympatrii, tak dojde k tomu, že se každý z nich bude specializovat na jiné zdroje, či je budou alespoň odlišně užívat. To pak může být příčinou změn v prostorovém uspořádání populace, kdy vlivem heterogenity a gradientů prostředí dojde k separaci cytotypů. „Model vytěsnění znaku“ se pravděpodobně podílel na ekologické izolaci cytotypů tomky *Anthoxanthum alpinum* v rámci zóny jejich kontaktu v podhůří švýcarských Alp. Zatímco v sympatrii se diploidi a tetraploidi diferencovali, takže osidlují místa s prokazatelně jinými doprovodnými druhy, pokud rostou oba cytotypy v izolovaných populacích na jiných horách nedaleko této oblasti, jejich nároky jsou téměř identické (Felber-Girard et al. 1996).

Rozlišit mezi těmito dvěma alternativami vzniku rozdílných biotopových preferencí je v praxi často takřka nemožné. Pokud polyploidi obývají zřetelně odlišné biotopy než diploidi, nevíme, zdali je současné rozšíření polyploidů důsledkem předchozí kolonizace prostředí do té doby pro druh nedostupného, či zda vlivem kompetičních interakcí mezi nimi došlo k odlišné specializaci a diploidi byli z dnes polyploidy obývaných stanovišť vyloučeni.

Rozdíly v charakteru biotopů obývaných různými cytotypy byly zaznamenány v mnoha publikovaných studiích. U srhy *Dactylis glomerata* rostou diploidi v podrostu zachovalých doubrav, zatímco tetraploidi na otevřených a nezřídka antropicky ovlivněných plochách s převládající bylinnou vegetací. Následná pozorování v terénu potvrdila, že tetraploidi jsou penalizováni v habitatu diploidů sníženou tvorbou kvetoucích stvolů a naopak, a to i v rámci jedné smíšené populace (Lumaret et al. 1987). Analogicky u metlice *Deschampsia cespitosa* ve Velké Británii jsou diploidní rostliny vázány na lesní stanoviště přirozeného charakteru, zatímco tetraploidi jsou známi z novodobých travinných formací a uměle vysazených lesních společenstev (Rothera a Davy 1986). Diploidní rostliny ovsíku *Arrhenatherum elatius* osidlují borové lesy a exponované sutě horských oblastí, tetraploidi naopak travinné formace nižších poloh (Petit et al. 1997). Diploidi *Galax urceolata* (Diapensiaceae) rostou ve společenstvech s méně druhově bohatým bylinným patrem a vyšším zápojem dřevin než tetraploidi (Johnson et al. 2003). U vrbovky *Epilobium angustifolium* jsou diploidi vázáni na vyšší zeměpisné šířky než tetraploidi, a na jejich kontaktu ve Skalistých horách dochází k třídění cytotypů dle nadmořské výšky, kdy diploidy nalézáme ve vyšších partiích (Husband a Schemske 1998). Obdobný trend byl

pozorován i u starčku *Senecio carniolicus* v rakouských Alpách. V nižších polohách se vyskytovaly diploidní i hexaploidní rostliny, zatímco ve vyšších nadmořských výškách byli zastoupeni jen diploidi (Schönswetter et al. 2007). Následná analýza přílehlých společenstev potvrdila i rozdíly v doprovodných druzích (Hülber et al. 2009). U chrpy *Centaurea jacea* v belgických Ardenách rovněž diploidi preferují vyšší nadmořské výšky než tetraploidi (Hardy et al. 2000).

V některých případech však nebyly mezi cytotypy rozdíly v osidlovaných biotopech nalezeny. Tak tomu je například u vousatky *Andropogon gerardii* a zlatobýlu *Solidago altissima*, a to i přes skutečnost, že oba druhy jsou typické častým výskytem smíšených populací (Keeler a Davis 1999, Halverson et al. 2008). Podobná je situace u jitrocele *Plantago media* (van Dijk a Bakx-Schotman 1997) a *Melampodium leucanthum* (Asteraceae; Stuessy et al. 2004). V některých z uvedených studií by se přesto dala absence ekologické separace cytotypů připočíst spíše nedostatečnému úsilí ji identifikovat.

Ekologické diferenciaci cytotypů bývá přiřazován značný význam pro úspěšné uchycení polyploidů v diploidních populacích, stejně tak jako pro jejich následnou stabilní koexistenci (Levin 2002). Příčinou může být zmíněné množství dostupných empirických dat. Je však třeba k těmto informacím přistupovat značně kriticky. Pokud například srovnáváme příbuzné rostliny, které se liší počtem chromozómových sad, avšak vlivem dlouhodobého relativně izolovaného vývoje se dostatečně diferencovaly, jejich základní niky se téměř nemusí překrývat. Ani při lokálním společném výskytu se pak kompetiční vztahy mezi cytotypy zásadně nemusí lišit od mezidruhové kompetice s jinými taxony sdílejícími stejné společenstvo. Přestože se oba cytotypy liší svými nároky, jejich studium neposkytuje v tomto případě informace o způsobu, jakým byla koexistence umožněna v době jejich vzniku. Rovněž lze diskutovat význam zjištěných odlišností v osidlovaných biotopech mezi diploidy a polyploidy. Důkladnou analýzou heterogenity prostředí ve vztahu k cytotypové distribuci (stejně tak jako chybami při odběru vzorků a návrhu pokusů) lze jistě odhalit množství veličin, charakterizujících abiotické, biotické či geografické charakteristiky, které prokazatelně korelují s výskytem jednoho z cytotypů. Otázkou však zůstává, do jaké míry nalezené rozdíly, stejně tak jako faktory s nimi v interakci, přispívají k udržování smíšených populací.

### 3.1.2 Prostorová segregace cytotypů

Segregace rostlin různých ploidních úrovní v prostoru nemusí nezbytně odrážet heterogenitu osídleného prostředí, nýbrž může být přímým důsledkem biologických vlastností druhu. Lze jí dosáhnout například omezenou schopností rostlin šířit diaspory na větší vzdálenosti. Baack (2005a) studoval vliv omezené distribuce semen na stochastickém prostorovém modelu, jehož parametry upravil tak, aby odpovídaly vlastnostem pryskyřníku *Ranunculus adoneus*. Součástí modelu byly i pravidelné každoroční disturbance, které vedly k uvolnění prostoru pro uchycení semen. Limitovaná disperze semen zvýšila pravděpodobnost koexistence diploidů s tetraploidy.

I samotný charakter růstu rostliny může být příčinou prostorové segregace cytotypů. Vlivem nepohlavního rozmnožování mají zástupci různých druhů schopnost tvorby trsů, polštářů či porostů. Výrazné shluky lze pozorovat u hexaploidních a nonaploidních vousatek *Andropogon gerardii* (Keeler 2004). Tvorba menších porostů by se mohla rovněž uplatňovat u zlatobýlu *Solidago altissima*. Halverson et al. (2008) sice neprokázali segregaci cytotypů ani na úrovni čtverců o hraně pět metrů, přesto upozorňují, že na nižší škále jsou shluky ramet již patrné.

Problémem tohoto typu distribuce však mohou být přenosy pylu mezi blízkými příbuznými jedinci, které vedou ke snižování zdatnosti následně vzniklého potomstva. Další komplikací je, že ačkoliv se kompetiční vztahy mezi odlišnými cytotypy sníží, vzroste konkurence mezi rametami jedince.

### 3.1.3 Selektce proti hybridům

Ačkoliv „nevýhoda malých čísel“ nemusí mít v již uchycených populacích polyploidů výraznější vliv na početnost, může se významně podílet na prostorové distribuci cytotypů. V místě kontaktu populací lišících se ploidní úrovní dochází častěji k nekompatibilním opylením, zatímco rostliny nalézající se v dostatečné vzdálenosti od něj již přenosy pylu mezi cytotypy netrpí. Směrem od vlastního kontaktu do nitra populace konkrétního cytotypu pak může stoupat reprodukční zdatnost jedinců. Semena diploidů přenesená do polyploidní populace či nedaleko zóny kontaktu tak nepřispějí k zachování diploidní populace takovou měrou, jako semena jež budou klíčit v nepřítomnosti polyploidních rostlin a naopak. Cytotypy proto budou růst v parapatrii, odděleny přechodnou zónou, o jejíž šířce bude rozhodovat účinnost šíření semen a pylu, i míra působení „nevýhody malých čísel“ (Pannell et al. 2004). Selektce proti hybridům povede k minimalizaci kontaktu mezi nimi. Přestože lze tímto způsobem omezit kompetiční interakce mezi cytotypy, je sporné, zdali umožňuje i jejich koexistenci. Nežádka totiž vede k expanzi jedné z chromozómových ras (viz kap. 4.1.2).

Selektce proti hybridům pravděpodobně udržuje parapatrický výskyt diploidů a tetraploidů jitrocele *Plantago media* v jižní a jihovýchodní Evropě. Cytotypy se totiž mezi sebou neliší osidlovanými biotopy a ve smíšených populacích na jejich kontaktu hojně dochází k aborci semen (van Dijk a Bakx-Schotman 1997). Analogická je situace u chrpy *Centaurea jacea* v belgických Ardenách. Uplatňuje se zde sice třídění cytotypů dle nadmořské výšky, avšak distribuci diploidů a tetraploidů na lokální škále patrně určuje právě „nevýhoda malých čísel“ (Hardy et al. 2000). Baack (2004) připisuje selekci proti triploidům prvořadý význam při minimalizaci kontaktu diploidů s tetraploidy ve smíšených populacích pryskyřníku *Ranunculus adoneus*.

## 3.2 SMÍŠENÉ POPULACE A JEJICH STABILITA V ČASE

Jedním z nejdůležitějších témat studia polyploidních komplexů je bezpochyby otázka stability smíšených populací (Halverson et al. 2008). Představuje koexistence rostlin odlišných cytotypů v sympatrii pouze dočasný stav v evoluci obou linií, či se jedná o ustálené formace přetrvávající po mnoho generací?

Samotná existence smíšených populací více cytotypů bývá vysvětlována dvěma alternativními scénáři (Weiss et al. 2002). Prvním z nich je „stabilizující selekce“ (eng. balanced selection), jenž předpokládá ustálenou koexistenci diploidů s polyploidy. Umožněna je prostřednictvím izolačních mechanismů minimalizujících reprodukční i kompetiční interakce mezi cytotypy. V podstatě se jedná o schéma, ke kterému šel dosavadní sled kapitol této práce. Druhým je „usměrňující selekce“ (eng. directional selection), podle níž jsou smíšené populace pouze přechodným stádiem a jeden z cytotypů nakonec vytlačí druhý. K tomu může dojít již během uchycování polyploidů nebo i v pozdějších fázích a nepravděpodobnějšími příčinami jsou „nevýhoda malých čísel“ a vyloučení v „kompetičním boji“ o zdroje.

Přestože se tyto alternativy mohou zdát pečlivě vymezenými, přiřazení empirických dat jednotlivým scénářům rozhodně není snadnou záležitostí. Jako příklad „stabilizující selekce“ je někdy označována situace panující v populacích vousatky *Andropogon gerardii* (Keeler 2004). Rostliny hexaploidního i nonaploidního cytotypu se v určitých oblastech vyskytují ve frekvencích blížících se 1 : 1 a ani sledování na čtyřletých trvalých plochách neodhalila tendence k ústupu jakéhokoliv z nich. Cytotypy se neliší v míře klonálního růstu, avšak rozdíly v pohlavní reprodukci jsou markantní, neboť u nonaploidů vznikají jen čtyři procenta semen shodné ploidní úrovně s mateřskou rostlinou. Vzhledem k omezeným možnostem nonaploidů obnovit se ze semen by to ovšem svědčilo o hrozící převaze hexaploidů. Příčinou sympatrického výskytu cytotypů tak paradoxně může být jen dlouhá generační doba těchto trav, odhadovaná na 50–100 let. Přesto se zdá, že u vousatky jsme svědky „usměrňující selekce“ která během několika desetiletí povede k vymizení nonaploidní rasy z populací.

Je třeba upozornit, že výstup kompetice mezi cytotypy je určen jejich kompetičními schopnostmi jen za předpokladu konstantních podmínek prostředí (Begon et al. 2006). V přírodě je však prostředí běžně tvořeno mozaikou příhodných a nepříhodných stanovišť, jejichž kvalita se navíc může v čase výrazně a nepředvídatelně měnit. Mohlo by tak docházet k sympatrické koexistenci cytotypů, pokud by se podmínky stanoviště zásadním způsobem změnily dříve, než úspěšnější cytotyp kompetičně vyloučí druhý. Dosažení rovnovážné populační hustoty mohou úspěšně bránit po určité době se opakující disturbance. Například u výše zmíněné vousatky dochází běžně k výrazným snížením populačních hustot vlivem dlouhotrvajících období sucha (Keeler 2004). Disturbance by se rovněž mohla podílet na koexistenci cytotypů u zlatobýlu *Solidago altissima*, neboť se jedná o rostlinu antropicky narušovaných stanovišť (Halverson et al. 2008). Oba předchozí scénáře je tak třeba chápat poněkud relativně. „Stabilizující selekce“ v delším časovém měřítku by mohlo být dosaženo i přestože by zastoupení cytotypů v kratších časových úsecích fluktuovalo působením „usměrňující selekce“.

## **4. EXPANZE POLYPLOIDA**

Při srovnávání areálů rozšíření polyploidů s diploidními mateřskými taxony bychom mohli předpokládat, že alespoň v ranějších fázích jejich evoluční historie budou plošně menší rozlohy (Levin

2002). Avšak v přírodě jsou areály polyploidů běžně mnohonásobně rozsáhlejší oproti areálům jejich předků, a navíc nezřídka zahrnují i stanoviště, k jejichž formování došlo až v průběhu holocénu. Jako příklad mohou posloužit jitrocel *Plantago media* (van Dijk a Bakx-Schotman 1997), ovsík *Arrhenatherum elatius* (Petit et al. 1997) nebo srha *Dactylis glomerata* (Lumaret et al. 1987). Takový rapidní početní nárůst jedinců spojený se změnami geografického rozšíření lze označit jako expanzi polyploidů. Právě expanze mohou svědčit o potenciálu, který polyploidní linie skýtají pro druh. Mohou umožňovat zvětšení dosavadního areálu v prostoru a současně i ekologické valence druhu (Keeler a Davis 1999). Z makroevolučního hlediska pak takové druhy mohou lépe odolávat extinkci (Flegr 2005).

Vraťme se však opět na populační úroveň. V případech, kdy je koexistence cytotypů ve smíšených populacích nestabilní, tedy řízena „usměrňující selekcí“, dříve či později může jeden z nich převládnout. Jistě to mohou být diploidi, kteří obzvláště v raných fázích uchycování polyploidů mají potřebnou početní převahu. U bažanky *Mercurialis annua* dokonce diploidní jedinci expandují na dvou oddělených frontách v severním Španělsku do již stabilizovaných populací polyploidů (Buggs a Pannell 2007). Avšak z našeho pohledu mnohem zajímavější jsou právě expanze polyploidních linií. Ty mohou probíhat postupným vytlačováním diploidních jedinců kompetičně či reprodukčně zdatnějšími polyploidy. Expanze polyploidů však nemusí být neodmyslitelně spjata se zmenšováním areálu diploidní rasy. Polyploidní jedinci totiž mohou kolonizovat místa doposud druhem neosídlená (a to v odpovídajících i radikálně odlišných biotopech) a expandovat, aniž by se s diploidy museli kompetičně měřit.

#### **4.1 KOMPETIČNÍ VYLOUČENÍ DIPLOIDŮ**

Expanze polyploidní linie může probíhat v podobě kompetičního vyloučení diploidů. Polyploidi tak rozšiřují svůj areál na úkor mateřského taxonu. Nezbytným předpokladem jsou však vyšší kompetiční schopnosti polyploidních jedinců. Ty mohou být určovány genetickými predispozicemi vzniklými genomovou duplikací, adaptacemi získanými v průběhu následného přirozeného výběru, jakož i vlastnostmi fixovanými genetickým driftem. Mezi těmito možnostmi zpravidla nelze rozlišit. Míra jejich výhodnosti nezbytně závisí i na kontextu – vlastnostech prostředí a okolních organizmů.

##### **4.1.1 Kompetiční schopnosti polyploidů**

U polyploidů bývá v porovnání s příbuznými diploidy často zaznamenána větší velikost semen (Levin 2002). Větší semena pak mohou obsahovat více zásobních látek a dávat vzniknout zdatnějším semenáčkům, které se úspěšněji etablojí. Právě juvenilní fáze ontogeneze je z hlediska kompetice kritickým bodem v životním cyklu rostlin (Begon et al. 2006). Běžné jsou rovněž rozdíly v klíčivosti semen mezi cytotypy (Levin 1983), zpravidla působící ve prospěch diploidů. Nezáleží však jen na počtu vyklíčených semen, významné je rovněž vlastní načasování klíčení. I v něm však mívají diploidní rostliny patřičnou výhodu, neboť klíčí dříve (Levin 1983). Nejranější semena pak nečelí takové konkurenci ve svém okolí a naopak mohou úspěšně bránit etablování jiných rostlin. Rychlost růstu a

vývoje je rovněž faktorem silně ovlivňujícím úspěch rostlin na stanovišti. Obecně se uvádí, že polyploidie, vzhledem k delší době trvání buněčného cyklu, rostou pomaleji (Levin 2002). To je může výrazně znevýhodnit, pokud osidlují stanoviště příznivá jen po určitou omezenou dobu. Kupříkladu pryskyřník *Ranunculus adoneus* roste na odtálých sněhových výležiscích, kde musí rostliny dokončit svůj generační cyklus do několika týdnů (Baack 2004). Avšak pozitivem pomalejšího růstu může být výsledná dlouhověkost rostlin. Snad nejnapadnější vlastností polyploidů je uváděná větší velikost orgánů a celkově mohutnější vzrůst oproti diploidům (Ramsey a Schemske 2002). Příčinou budou patrně větší rozměry polyploidních buněk (Levin 1983), nápadné zpravidla na délce svěracích buněk průduchů (Lumaret et al. 1987, Felber-Girard et al. 1996). Velikost průduchových štěrbin je přitom spjata s vodním režimem rostlin. Rozměrnější listy a vyšší vzrůst mohou přispět k účinnějšímu využití dostupného slunečního záření a zároveň k efektivnímu zastínění sousedních rostlin během kompetice o světlo. Nonaploidní jedinci vousatky *Andropogon gerardii* dorůstají větší výšky a disponují delšími a širšími listy než hexaploidie (Keeler a Davis 1999). Rovněž tetraploidní rostliny štírovníku *Lotus alpinus* jsou prokazatelně vyšší než diploidní (Gauthier et al. 1998). Běžné jsou i rozdíly v květních strukturách (viz kap. č. 2.2.3). Ukazatelem reprodukční zdatnosti je počet semen, který se mezi cytotypy může rovněž lišit. Navzdory všem zde zmíněným potenciálním rozdílům ve fenotypu diploidních a polyploidních rostlin jsou však cytotypy v mnoha případech v terénu prakticky nerozlišitelné, jak je tomu u metlice *Deschampsia cespitosa* (Rothera a Davy 1986), srhy *Dactylis glomerata* (Lumaret et al. 1987) nebo pryskyřníku *Ranunculus adoneus* (Baack 2005b).

Úspěch chromozómové rasy mohou rovněž podmínit i interakce s ostatními organizmy. Právě přizpůsobování se vlivu okolních biotických faktorů probíhá v porovnání s adaptacemi k abiotickému prostředí nezděděná rychleji a jakékoliv změny jsou posléze aktivně reflektovány druhou stranou, takže dochází k jakémusi „koevolučnímu zápasu“ (Flegr 2005). Pokud polyploid nemusí investovat do prevence proti predaci a parazitizmu, či jejich následné kompenzace tolik energie co diploid, je ve značné výhodě. Může totiž vynaložit více energie do vlastního růstu a reprodukce. U cytotypů srhy *Dactylis glomerata* bylo pozorováno při experimentálním pěstování rozdílné napadení parazitickou rzí (Bretagnolle a Thompson 2001). Diploidní jedinci bažanky *Mercurialis annua* byli náchylnější k nákaze patogenní houbou *Melampsora pulcherrima* více než hexaploidie (Buggs a Pannell 2007). U řeřišnice *Cardamine pratensis* čelí rostliny predaci housenkami motýla *Anthocharis cardamines*. Prokazatelně častěji jsou však napadány oktoploidní rostliny než tetraploidní (Arvanitis et al. 2008). Z hlediska interakcí s hmyzem je však pravděpodobně nejlépe prozkoumaným polyploidním komplexem dlužicha *Heuchera grossulariifolia*. Nuismer a Thompson (2001) sledovali po čtyři sezóny výskyt fytofágního hmyzu na rostlinách dlužichy. Zatímco motýli *Greya politella* napadali častěji tetraploidní rostliny, diploidie byli častějším cílem samic druhu *Greya piperella*. Každý z cytotypů tak byl více limitován jiným herbivorem. Pokud by takový scénář byl v přirozených populacích běžný, na kompetiční zdatnosti cytotypu by se místo vlastní „tolerance k napadení“ spíše podílela lokální

absence či nesespecializovanost konkrétního predátora. Ta by samozřejmě mohla být pouze dočasného charakteru a souviset s nedávným vznikem polyploida (či kolonizací nového prostředí).

#### 4.1.2 Reprodukční interakce

Při kompetičním vyloučení diploidů se mohou uplatnit i reprodukční interakce mezi cytotypy. Selektce proti hybridům byla zmíněna v kapitole č. 3.1.3 jako jeden z procesů vedoucích ke koexistenci rostlin lišících se ploidní úrovní. Avšak za určitých podmínek může vést rovněž k expanzi polyploidů. Principem je nerovnoměrné zatěžování cytotypů tvorbou hybridního potomstva se sníženou vitalitou a fertilitou. Toho lze docílit kupříkladu větší produkcí pylu nebo účinnějším šířením pylových zrn na větší vzdálenosti. U bažanky *Mercurialis annua* produkují diploidní rostliny podstatně větší množství pylových zrn než hexaploidní, což je jedna z uvažovaných příčin jejich expanze (Pannell et al. 2004). Další možností je vyšší úspěšnost samčích pohlavních buněk polyploidů v gametofytické kompetici (viz kapitola 2.2.4). Pokud totiž diploidní pylová zrna mají i na blížnách diploidních rostlin výhodu oproti haploidním, s vyšší pravděpodobností oplodní vaječnou buňku. Tato asymetrie může posléze vést k postupnému vytlačení diploidních rostlin ze stanoviště.

#### 4.1.3 Kompetiční pokusy

V případech, kdy pozorujeme vyšší kompetiční úspěšnost jednoho z cytotypů, nám mohou rozdíly mezi rasami pomoci odhalit její pravděpodobné příčiny. Opačný postup je však podstatně komplikovanější, neboť na základě znalosti odlišností mezi cytotypy nelze kompetiční zdatnost rostlin odhadovat. Z tohoto hlediska přinášejí cenné informace pokusy porovnávající přímo kompetiční schopnosti polyploidů a diploidů. Publikovány byly četné studie, ve kterých byli polyploidi shledáni kompetičně zdatnějšími, stejně tak jako opačné případy, jak shrnul Levin (2002). Znalost experimentálního uspořádání se však jeví nezbytnou, neboť kompetice bývá posuzována mnoha různými způsoby, jež se liší věrohodností, s jakou simulují procesy v přirozených podmínkách. Maceira et al. (1993) studovali kompetici mezi diploidy a tetraploidy srhy *Dactylis glomerata*. Rostliny v podobě výhonků obdobné velikosti zasázeli do květináčů tak, aby některé obsahovaly jen rostliny jednoho cytotypu, zatímco jiné směs obou. Na konci sezóny posuzovali rozdíly ve fenotypu rostlin stejné ploidní úrovně mezi oběma pokusnými uspořádáními. Tetraploidní jedinci srhy byli prokazatelně konkurenceschopnější, neboť při růstu ve smíšených kulturách se jejich zdatnost oproti čistým kulturám výrazně nezměnila. Pravděpodobnými příčinami je intenzivnější tvorba výhonků a rychlejší vývin listů v období časného jara u tetraploidních rostlin (Maceira et al. 1993). Tento typ studia bohužel nebere v potaz rozdíly v klíčivosti semen ani kompetici mezi semenáčky, jejichž význam může být v přírodě značný. Rovněž pěstování rostlin v živinami bohatém substrátu na zahradě neodráží podmínky, jimž čelí jedinci na lokalitě svého původu. Přitom kompetiční zdatnost, jak jsem již zdůrazňoval, nezbytně závisí na abiotických i biotických vlivech konkrétního prostředí. Také samotné porovnávání zdatnosti cytotypů srhy ve smíšených kulturách je spíše arbitrárním uspořádáním. V přirozených populacích jsou



totiž diploidi a tetraploidi vázáni na odlišné biotopy a i v rámci smíšených populací tak dochází k jejich zřetelné separaci v prostoru (Bretagnolle a Thompson 2001). Na základě výsledků dřívějších pokusů s tímto druhem (Lumaret et al. 1987) lze dokonce i spekulovat, že příčinou vyššího kompetičního úspěchu tetraploidů bylo, že se experimentální podmínky více blížily těm panujícím na jimi osídlovaných biotopech. Zastínění experimentálních ploch (analogie lesního podrostu) by naopak mohla teoreticky vést k vyšší kompetiční zdatnosti diploidního cytotypu. K výsledkům studií porovnávacích kompetiční schopnosti cytotypů je tak třeba přistupovat velmi kriticky.

## **4.2 KOLONIZACE NOVÝCH STANOVIŠŤ**

K expanzi polyploidní rasy může docházet, aniž by nezbytně museli být diploidní předci kompetičně vytlačeni ze svých stávajících lokalit. Areál polyploida se totiž může úspěšně rozšiřovat i kolonizací nových a druhem doposud neosídlených míst. Předmětem kolonizace bude s vyšší pravděpodobností alespoň do určité míry odlišný biotop. Osídlení nového prostředí pak bude patrně probíhat analogicky jednomu z již zmíněných scénářů (kapitola 3.1.1). Polyploidní výsadek se bude nejprve muset uchytit v novém biotopu (např. díky lokální disturbanci) a posléze početně růst, přestože je vystaven jiným selekčním tlakům, než na které je adaptován (Levin 2003). Polyploidi však mohou osídlivat i biotopy stejného typu jako diploidi. Lze předpokládat, že tato prostředí doposud nebyla kolonizována vlivem limitací v disperzi diploidních rostlin, nebo se v nich druh v minulosti vyskytoval, avšak následně vymřel.

### **4.2.1 Širší ekologická amplituda polyploidů**

Nezřídka se spekuluje, že by polyploidní rostliny mohly mít v porovnání s diploidními mateřskými taxony širší ekologickou amplitudu (Levin 2002). Polyploidi by tak byli schopni růst ve větším spektru biotopů, a pravděpodobně by kolonizovali nová stanoviště s vyšší efektivitou. Širší ekologickou amplitudu lze u polyploidní linie vysvětlit dvěma alternativními způsoby (Münzbergová 2007). Prvním je účinnější přizpůsobování se měnícím se podmínkám v podobě větší plasticity polyploidních rostlin. Druhý pak předpokládá existenci celé škály lokálně adaptovaných typů. Zatímco v prvním případě záleží obzvlášť na genetických vlastnostech rostliny, na jejichž formování se mohly podílet změny související s genomovou duplikací, druhý je komplexnější. Předpokládá totiž cílené adaptace na podmínky stanoviště a zároveň omezený genový tok ze strany okolních populací rostoucích v jiném typu biotopu. Jeho hlavní specifikou je, že širší ekologickou amplitudu má jen polyploidní taxon jako celek a nikoliv jednotlivé populace rostoucí v dílčích biotopech (Münzbergová 2007).

Petit a Thompson (1999) se na základě studia pyrenejské flóry pokusili kriticky zhodnotit vztah mezi ploidní úrovní a šířkou ekologické amplitudy. Ekologickou amplitudu posuzovali podle počtu osídlovaných biotopů definovaných kombinací ekologických charakteristik. Na úrovni rodů se závislost jevila nejednoznačnou. Například u violek (*Viola* spp.) obývali diploidi širší spektrum biotopů než polyploidi, zatímco u kostřav (*Festuca* spp.) tomu bylo naopak. Ve výsledku neprokázali, že by

polyploidie měli obecně širší ekologickou amplitudu. Zmíněná studie však trpí určitými nedostatky. Ploidní úrovně byly jednotlivým druhům přiřazovány na základě údajů z několika nezávislých literárních zdrojů a na rozdíly mezi autopolyploidy a alopolyploidy nebyl brán zřetel. Navíc byly mezi sebou porovnávány různé druhy, a to i z nepříbuzných taxonomických skupin. Přesto se zdá, že v rámci některých taxonomických skupin se mohou vyskytnout tendence polyploidů mít širší ekologickou amplitudu, avšak nezávisle tomu bývá i naopak. Širší ekologická amplituda polyploidů ale rozhodně nebude obecným pravidlem.

#### 4.2.2 Typy kolonizovaných biotopů

Na základě studia distribuce chromozómových ras lze u polyploidních linií vyzorovat určité biotopové preference. Ehrendorfer (1980) upozornil, že polyploidie jsou často nalézány v labilní vegetaci raných sukcesních stádií, zatímco diploidie spíše ve stabilních habitatech či až přímo v klimaxových společenstvech. Postupu sukcese na takových stanovištích brání disturbance, jež mohou být spjaty například s lidskou činností. Právě plochy antropicky udržovaného sekundárního bezlesí by se mohly jevit příhodným stanovištěm pro polyploidy. U sruhy *Dactylis glomerata* rostou diploidie v podrostu reliktních doubrav, avšak tetraploidie osidlují široké spektrum převážně otevřených biotopů, často narušovaných lidskou činností (Lumaret et al. 1987). Podobná je rovněž situace u metlice *Deschampsia cespitosa*. Diploidní rostliny se vyskytují v zachovalejších lesních společenstvech, tetraploidie naopak preferují novodobé lesní výsadby, louky, pastviny či narušená místa (Rothera a Davy 1986). Diploidie ovsíku *Arrhenatherum elatius* rostou na suťových svazích a v borových lesích ve vyšších polohách, zatímco tetraploidie jsou široce rozšířeny v umělých travinných biotopech nižších poloh (Petit et al. 1997).

Za velkoplošnou disturbanci je možno považovat i zalednění v průběhu čtvrtohorních klimatických oscilací. Velké pozornosti se těší hypotéza, že polyploidní linie jsou úspěšnější než diploidie v kolonizaci území po ústupu ledovce (Levin 2002). Kupříkladu fylogeografická studie jitrocele *Plantago media* s využitím chloroplastové DNA svědčí o rapidní expanzi tetraploida v průběhu pozdního würmského glaciálu a holocénu. Tetraploidie tak rozšířily svůj areál z jižně položených refugií až do Velké Británie a Skandinávie, zatímco diploidie jsou dodnes omezeny pouze na refugia v jižní a jihovýchodní Evropě (van Dijk a Bakx-Schotman 1997). Také u *Townsendia hookeri* (Asteraceae) se zdá, že současný výskyt cytotypů souvisí s polohou kontinentálního ledového štítu během poslední doby ledové. Diploidní jedinci rostou výhradně v nezaledněných oblastech, zatímco území po ústupu ledovce bylo kolonizováno apomiktickými polyploidy (Thompson a Whitton, 2006). Brochmann et al. (2004) se pokusili tuto hypotézu ověřit na základě empirických dat získaných studiem arktické flóry. Když byly do analýz zařazeny všechny studované taxony i oblasti, početnost polyploidů nebyla v dříve zaledněných oblastech vyšší. Prokazatelné rozdíly v souladu s původní hypotézou byly získány pouze při porovnávání arktických druhů s malými areály mezi Atlantskou oblastí (během posledního glaciálu

pokryta kontinentálním ledovcem) a Beringií (nezaledněným glaciálním refugiem). Navzdory zmíněným příkladům se tak pravděpodobně nemusí jednat o obecný trend.

Polyploidie mají rovněž v některých případech tendence osidlovat druhově saturovaná společenstva, zatímco diploidie jsou nečíslně vázány na prostředí s nižším rostlinným krytem a zároveň ovlivněná nepříznivými abiotickými podmínkami. Polyploidní rostliny by tak byly patrně úspěšnější v mezidruhové kompetici, a diploidie by snáze odolávaly stresu. Schönswetter et al. (2007) tímto způsobem popsali distribuci diploidních a hexaploidních jedinců starčku *Senecio carniolicus* ve východních Alpách. Diploidie převládali ve vyšších nadmořských výškách, níže se vyskytovali jen jako pionýrské rostliny na narušených místech a nepronikali tu do zapojené vegetace (Hülber et al. 2009). Naopak hexaploidie nebyli schopni úspěšně kolonizovat řídkší vegetaci vyšších poloh, snad vlivem abiotických stresových faktorů (Schönswetter et al. 2007). Tento scénář by však mohl mít podstatně širší uplatnění. U mnoha polyploidních komplexů je zřejmá obdobná separace cytotypů podél gradientu nadmořské výšky. Je tomu tak například u vrbovky *Chamerion angustifolium* ve Skalisticích horách (Husband a Schemske 1998), chrpy *Centaurea jacea* v belgických Ardenách (Hardy et al. 2000) a štírovníku *Lotus alpinus* ve francouzských Alpách (Gauthier et al. 1998). Přičemž ve všech uvedených případech osidlují vyšší nadmořské výšky právě diploidie. Lze spekulovat, že tu tak budou zároveň více čelit různým abiotickým stresům a naopak v nižších oblastech, osidlovaných polyploidy, bude s vyšší pravděpodobností hustší zápoj vegetace. Avšak analogická je situace i u metlice *Deschampsia cespitosa* (Rothera a Davy 1986) a srhy *Dactylis glomerata* (Lumaret et al. 1987). Diploidní rostliny jsou u nich vázány na bylinné patro lesů, kde lze předpokládat sníženou kompetici ze strany okolních rostlin a zároveň nižší intenzitu dopadajícího světla. Polyploidie naopak osidlují otevřené travinné formace s více zapojenou vegetací a příznivějšími světelnými podmínkami. Bylo by však jisté předčasně označit tento fenomén zákonitostí. U hvězdnice *Aster amellus* rostou diploidie v méně zapojených společenstvech, zatímco hexaploidie byli nalezeni v širším spektru stanovišť, včetně takových, kde čelí silné mezidruhové kompetici. Kompetiční pokusy na zahradě však neprokázaly rozdíly mezi cytotypy v míře, s jakou čelí mezidruhové kompetici ze strany sveřepu *Bromus erectus*, běžně hvězdnicí doprovázejícího na stanovištích (Münzbergová 2007).

### **4.3 URYCHLENÍ EXPANZE**

Oba výše zmíněné principy, jakými může k expanzi polyploidie docházet – tj. kompetiční vyloučení diploidie i kolonizace nových stanovišť, se vzájemně nevylučují. Nejen, že mohou působit při rozšiřování areálu polyploidní rasy současně, ale navíc je od sebe nelze vždy striktně rozlišit. Lze si například představit, že pokud diploidní rostliny osidlují široké spektrum biotopů, mohou být polyploidie schopny kompetičně je vyloučit jen v některých typech stanovišť, ve kterých jsou zvýhodněny. Poté ovšem budou populace různých cytotypů vázány na určité typy biotopů a situace bude velmi připomínat kolonizaci nového stanoviště. Při hodnocení příčin polyploidních expanzí je proto třeba postupovat kriticky.

Expanze polyploidní linie, bez ohledu na způsob jakým probíhá, může být nadále urychlena působením dalších faktorů. Jedním z nejdůležitějších je patrně vícenásobný nezávislý vznik polyploidních linií (eng. multiple origins). Ten je podle molekulárních studií velmi častým (Soltis a Soltis 1999). Polyploidi se tvoří opakovaně, jednotlivé linie vznikající z různých diploidních populací se mohou geneticky i morfologicky lišit a posléze mezi sebou i hybridizovat (Soltis a Soltis 2009). Vícenásobný vznik tak zvyšuje genetickou rozmanitost polyploidního taxonu a může tudíž pravděpodobně přispívat i k zvýšení jeho plasticity a adaptability. Na rozšiřování areálu polyploida se však vícenásobný nezávislý vznik nepodílí jen skrze genetické výhody. Umožňuje formování izolovaných polyploidních populací, díky nimž může polyploid kompetičně vytlačovat diploidy na více oddělených frontách současně, a zároveň se s vyšší pravděpodobností mohou v okolí vzniklé polyploidní populace nalézat nová stanoviště vhodná pro kolonizaci. Vícenásobný nezávislý vznik polyploidů byl v přirozených rostlinných populacích několikrát odhalen s využitím molekulárně-biologických metod. U dlužichy *Heuchera grossulariifolia* je předpokládán vznik tetraploidů až v sedmi nezávislých případech (Segraves et al. 1999), u tetraploidů jitrocele *Plantago media* tomu tak bylo nejméně třikrát (van Dijk a Bakx-Schotman 1997) a apomiktičtí triploidi prhy *Arnica cordifolia* vznikli zřejmě čtyřikrát (Kao 2008). Na základě studia geografické distribuce cytotypů byl vícenásobný vznik polyploidních linií navržen u *Melampodium leucanthum* a *M. cinereum* (Asteraceae; Stuessy et al. 2004) a některých hvozdíků *Dianthus* ze sekce *Plumaria* (Weiss et al. 2002). Předpokládán je rovněž u zlatobýlu *Solidago altissima* (Halverson et al. 2008) a chrp ze skupiny *Centaurea jacea* s. l. (Hardy a Vekemans 2001).

#### **4.4 KONTAKTNÍ ZÓNY CYTOTYPŮ**

V přírodě jsou běžně cytotypy na různých prostorových škálách separovány (van Dijk a Bakx-Schotman 1997, Husband a Schemske 1998), takže k jejich vzájemným interakcím dochází jen v určitém pásmu na kontaktu jejich populací. Může se jednat o lokální sympatrii, stejně tak jako o frontu mnohakilometrové délky. V literatuře bývají tato pásma označována jako kontaktní zóny cytotypů (Levin 2002). Již na první pohled je patrná jejich analogie s hybridními zónami u homoploidních taxonů. Dokonce lze kontaktní zóny cytotypů považovat za specifický typ hybridních zón vyznačující se zpravidla omezenou mírou genového toku mezi sousedními taxony (Petit et al. 1999).

Mezi různými cytotypy v rámci kontaktní zóny však může k výměnám genetické informace docházet. Genový tok může být zprostředkován prostřednictvím dvou typů hybridů (Petit et al. 1999). Hybridy prvního typu (eng. Type I hybrids) mají ploidní úroveň intermediární mezi oběma rodiči. Patří sem tak například triploidi vzniklí při křížení tetraploidů s diploidy. Přestože je pro ně příznačná snížená vitalita i fertilita, mohou skrze zpětná křížení s rodiči zprostředkovávat tok genetické informace mezi diploidy a tetraploidy oběma směry (Ramsey a Schemske 1998). Hybridy druhého typu (eng. Type II hybrids) mají naopak ploidní úroveň jako jeden z rodičů. Typičtí jsou například tetraploidní hybridy

vznikající fúzí neredukované gamety diploida s redukovanou gametou tetraploida. Hybridy druhého typu jsou často stejně zdatní, či dokonce zdatnější než rodiče, avšak zmíněný scénář vzniku tetraploidních kříženců vede pouze k jednosměrnému toku genetické informace (Ramsey a Schemske 1998). Oba typy hybridů mají značný vliv na transfer genů mezi cytotypy, zvyšují tak jejich genetickou diverzitu a mají vliv i na dynamiku kontaktních zón. Jednosměrný přenos genetické informace probíhá rovněž během vícenásobného nezávislého vzniku polyploidních linií (Soltis a Soltis 1999), zmíněného v předchozí kapitole. V případech, kdy nejsou triploidní jedinci schopni přežít do dospělosti a reprodukovat se, bude genový tok v kontaktní zóně diploidního a tetraploidního cytotypu probíhat pouze jedním směrem, a to z diploidů do tetraploidů. Zprostředkovávat jej budou neredukované gamety diploidů a nově vzniklí tetraploidi. Lze spekulovat, že následné zvyšování genetické diverzity tetraploidů může zvýšit jejich evoluční úspěch. Genový tok však může být i nežádoucí, pokud bude například zpomalovat přizpůsobování se tetraploidů novým podmínkám (Flegr 2005).

Z hlediska genetické homogenity se jeví příhodné rozlišovat kontaktní zóny cytotypů na primární a sekundární (Petit et al. 1999). Primární kontaktní zóna je oblastí, ve které jedna chromozómová rasa dá vzniknout druhé a posléze spolu v sympatrii koexistují. Vzniká například jako důsledek zrodu neopolyploida v diploidní populaci. Naproti tomu sekundární kontaktní zóny představují druhotný kontakt mezi populacemi rostlin odlišných ploidních úrovní, které byly po určitou dobu geograficky separovány. Význam kontaktních zón spočívá v tom, že odráží jisté podmínky, které jsou charakteristické pro časná stádia uchycování polyploidů a umožňují tak testovat hypotézy týkající se dynamiky a evoluce polyploidních komplexů (Petit et al. 1999). Lze předpokládat, že v případě sekundárního kontaktu mohly obě populace za předchozí alopatrie nahromadit genetické odlišnosti či rozdílné evoluční adaptace. K odlišnému genetickému pozadí je poté třeba přihlížet. Ovšem populace cytotypů představujících primární kontaktní zónou jsou geneticky téměř totožné a velmi dobře tak simulují podmínky panující v nejranějších fázích vzniku nové polyploidní linie.

Petit et al. (1999) zmiňují, že většina známých kontaktních zón je považována za sekundární. Statut druhotného kontaktu přiřazují například Hardy et al. (2000) zóně, podél které se stýkají diploidní a tetraploidní populace chrpy *Centaurea jacea* v belgických Ardenách. Oba cytotypy jsou v jejím rámci morfologicky i geneticky diferencovány. U dlužichy *Heuchera grossulariifolia* zjistili Segreaves et al. (1999) studiem chloroplastové DNA, že tetraploidi nevznikli z diploidů, se kterými se v současnosti sympatricky vyskytují. U jitrocele *Plantago media* je sekundární kontaktní zóna diploidů s tetraploidy v Pyrenejích rovněž geneticky podložena (van Dijk a Bakx-Schotman 1997). Nezřídka jsou však z přirozených podmínek dokumentovány i primární kontaktní zóny cytotypů. U srhy *Dactylis glomerata* na severozápadě Španělska vznikli tetraploidi z lokální endemické diploidní rasy. Toto tvrzení bylo podloženo biochemickými i genetickými analýzami populací obou cytotypů (Bretagnolle a Thompson 2001). V rámci některých polyploidních komplexů byly dokonce objeveny jak primární tak sekundární kontaktní zóny. Tak tomu je u hvozdíku *Dianthus broteri* na Pyrenejském poloostrově (Balao et

al. 2009), u evropských hvozdíků *Dianthus* ze sekce *Plumaria* (Weiss et al. 2002) a snad i u *Melampodium leucanthum* (Asteraceae) v Severní Americe (Stuessy et al. 2004). Ve všech třech případech však byly primární i sekundární kontaktní zóny navrženy pouze na základě cytogeografických dat.

## **5. MODELOVÁ ROSTLINA**

### **5.1 VÝBĚR MODELOVÉ ROSTLINY**

Kolář et al. (2009) při studiu evoluční historie reliktních hadcových populací *Knautia arvensis* agg. (chrastavec rolní) odhalili přítomnost primární i sekundární kontaktní zóny v rámci jednoho druhového komplexu. Primární statut kontaktu byl ověřen pomocí kombinovaného metodického přístupu za použití průtokové cytometrie a molekulárně-biologických metod. Distribuce populací v terénu, stejně tak jako odpovídající velikosti monoploidních genomů (tzv.  $C_x$  hodnota) svědčí o tom, že tetraploidní rostliny z hadcových lokalit nedaleko Mariánských Lázní vznikly z reliktně zde přežívajících diploidních populací (Kolář et al. 2009). Následná aplikace molekulárně-biologické metody AFLP podpořila existenci primárního kontaktu tím, že oba cytotypy jsou po genetické stránce téměř identické (Kolář et al., v přípravě). O fylogenetické blízkosti diploidních a tetraploidních hadcových chrastavců byl přesvědčen již Štěpánek (1997). Kaplan (1998) podrobil diploidní i tetraploidní rostliny z okruhu *Knautia arvensis* agg. morfometrickým analýzám. Výsledky potvrdily, že svou morfologií mají hadcoví tetraploidi nejbližší k hadcovým diploidům. Přestože hadcové podloží může mít na vzhled rostlin zásadní vliv, chrastavce si zachovávaly svůj typický fenotyp i po dvouleté kultivaci v běžném zahradním substrátu. Evoluční příbuznost obou hadcových linií podporovala rovněž i ekologická pozorování na lokalitách (Kaplan 1998).

Studovaná primární kontaktní zóna mezi diploidy a tetraploidy *Knautia arvensis* agg. na hadcových lokalitách v západních Čechách tak byla podložena nezávislými analýzami morfologické, ekologické, cytogeografické, karyologické i genetické variability. Shledali jsme ji proto vhodnou pro studium procesů hrajících roli během uchycování polyploidů a následně řídicích koexistenci cytotypů, ať již dlouhodobého či pouze přechodného charakteru.

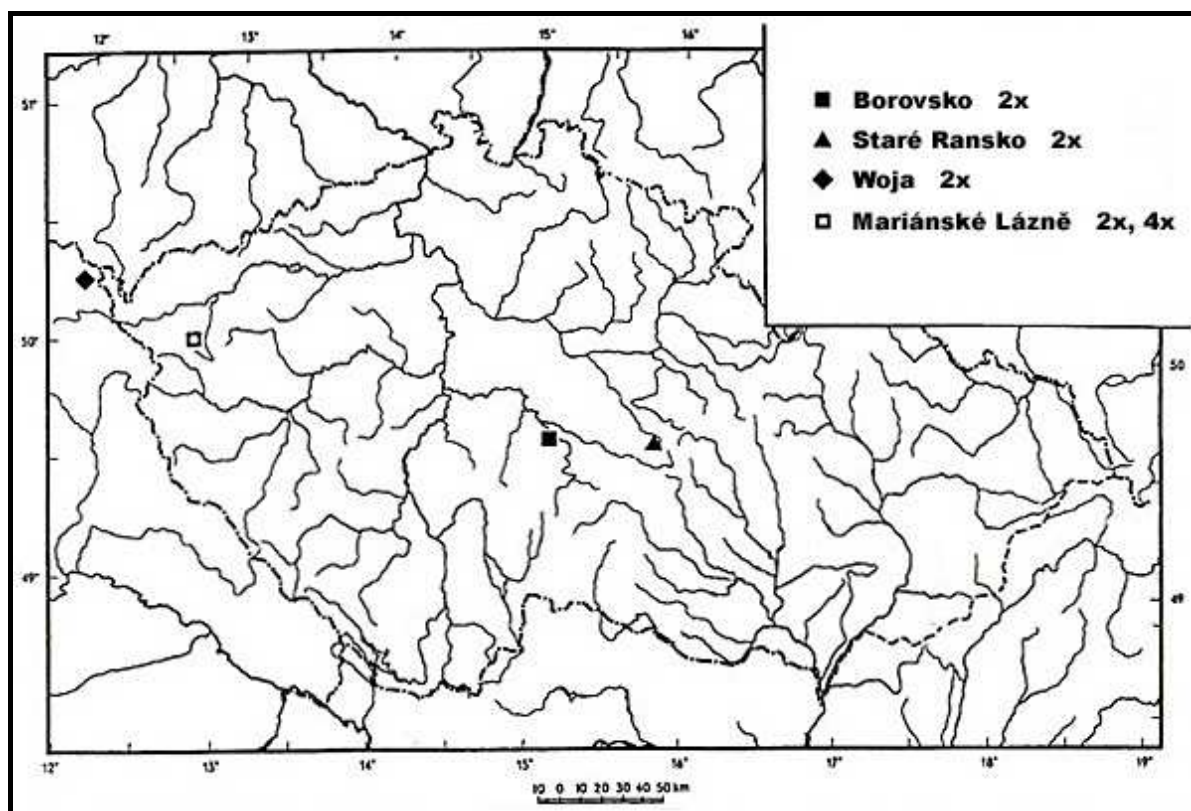
### **5.2 CHARAKTERISTIKA MODELOVÉ ROSTLINY**

#### **5.2.1 Taxonomická specifikace a rozšíření**

Rod *Knautia* L. patří mezi nejpočetnější evropské rody v rámci čeledi Dipsacaceae (štetkovité) (Ehrendorfer 1976). Speciace u rodu *Knautia* probíhá s reprodukčními bariérami typu geografické izolace a polyploidie (Ehrendorfer 1962). Významná je tu hybridizace, která často působí proti speciaci. Na kontaktu taxonů se stejným počtem chromozómů vznikají běžně hybridní roje s přechodem v morfologii mezi rodiči, častá je rovněž introgrese mezi taxony (Štěpánek 1997). Není proto překvapivé, že *Knautia arvensis* agg. představuje taxonomicky obtížnou skupinu.

V prostoru střední Evropy je *Knautia arvensis* agg. zastoupen dvěma druhy: *Knautia kitaibelii* (SCHULT.) BORBÁS a *Knautia arvensis* (L.) COULTER (Štěpánek 1979). V rámci *Knautia arvensis* jsou dále rozlišovány nižší taxonomické jednotky lišící se svou ploidní úrovní, morfologií a často i geografickým rozšířením (Štěpánek 1997). Nejběžnějším zástupcem je tetraploidní nominální subspecie druhu osidlující široké spektrum otevřených biotopů, často udržovaných lidskou činností. Na jižní a východní Moravě jej na obdobných stanovištích nahrazuje diploidní taxon *Knautia arvensis* subsp. *pannonica* (HEUFFEL) O. SCHWARZ. Kontaktní zóna mezi nimi je sekundárního původu a probíhá střední Evropou podél severozápadního okraje Panonské oblasti (Kolář et al. 2009). V rámci areálu běžného tetraploidního poddruhu se však na stanovištích reliktního charakteru vyskytují i rostliny diploidního cytotypu. Štěpánek (1989) postuloval hypotézu, že diploidní předek těchto linií osidloval na počátku holocénu otevřená stanoviště. Ovšem s postupně se šířícími zapojenými lesními formacemi byl zatlačen na extrémní stanoviště nevhodná pro uchycení zonální vegetace. Do dnešních dob se tak zachovaly diploidní populace v polohách nad horní hranicí lesa a na hadcových výchozech. Rostliny z krkonošských Kotelných jam byly popsány jako *Knautia arvensis* subsp. *pseudolongifolia* (SZABÓ) O. SCHWARZ (Štěpánek 1997). Hadcovým populacím ovšem nebylo doposud přiřazeno platné jméno. V Květeně ČR (Štěpánek 1997), stejně tak jako v Klíči ke květeně ČR (Štěpánek 2002) je proto použito provizorní jméno *Knautia arvensis* subsp. *serpentinicola* SMEJKAL ined. (chrastavec rolní hadcový).

*Knautia arvensis* subsp. *serpentinicola* se vyskytuje na čtyřech mezi sebou izolovaných hadcových tělesech (viz obr. č. 1; Kaplan 1998, Kolář et al. 2009). V Čechách jsou to Dolnokralovické hadce u Borovska, okolí Starého Ranska a rozlehlejší komplex serpentinitů u Mariánských Lázní (Vlčí hřbet, Planý vrch, Křížky, Dominova skalka). V přilehlém Bavorsku se jedná o lokalitu Woja. Na základě dostupných informací o rozšíření taxonu tak nelze vyloučit, že by mohl být subendemitem České republiky. S jedinou výjimkou jsou všechny lokality osídleny rostlinami diploidního cytotypu ( $2n = 2x = 20$ ). Komplexnější je však situace v oblasti hadcového tělesa ležícího nedaleko Mariánských Lázní. Donedávna byly odsud udávány jen rostliny tetraploidního cytotypu ( $2n = 4x = 40$ ), řazené na základě taxonomických studií do *Knautia arvensis* subsp. *serpentinicola* spolu se svými diploidními protějšky (Štěpánek 1997, Kaplan 1998). Kolář et al. (2009) však našli na dvou lokalitách (Vlčí hřbet, Planý vrch) kromě tetraploidního cytotypu i diploidy, což vedlo k odhalení primární kontaktní zóny v rámci tohoto taxonu.



**Obr. č. 1:** Lokality výskytu *Knautia arvensis* subsp. *serpentinicola*. Převzato z Kaplan (1998), upraveno.

### 5.2.2 Biologické vlastnosti a ekologie

Omezený (a možná doposud ne zcela známý) areál výskytu taxonu, jeho teprve nedávné taxonomické odlišení i systematické problémy provázející neplatnost jeho pojmenování, jsou možnými příčinami nedostatku informací o biologii a ekologii chrastavce rolního hadcového. Podstatnou část údajů proto přejímám ze studií nominátního tetraploidního poddruhu *Knautia arvensis* subsp. *arvensis*. Vzhledem k možným odlišnostem mezi oběma taxony, způsobeným patrně dlouhodobou separátní historií a podstatnými rozdíly v typu osidlovaných stanovišť, je však třeba k nim přistupovat s patřičnou opatrností.

*Knautia arvensis* subsp. *serpentinicola* je vytrvalá bylina s podzemním oddenkem a řídce větvenou či nevětvenou lodyhou, dorůstající 25–70 cm výšky. Bazální listy tvoří přízemní růžici, lodyžní listy vyrůstají ve vstřícném postavení a jsou velmi proměnlivého tvaru. Květy jsou čtyřčetné a skládají ploché strbouly kryté zákrovem listenů. Plodem je nažka (Štěpánek 1997). Reprodukčním systémem je gynodiecie (Štěpánek 1979), tedy diferenciacie rostlin v populacích na oboupohlavné a funkčně samičí jedince. Gynodiecie umožňuje obvykle kombinovat výhody sexuální rekombinace i samosprášení a účinně se tak přizpůsobovat podmínkám stanoviště (Briggs a Walters 2001). Zástupci rodu *Knautia* však bývají označováni za obligátně alogamní (Štěpánek 1997), protože samosprášení brání časový posun v zakládání samčích a samičích pohlavních orgánů v květech. Jedná se o proterandrii, kdy je pyl



rozšířen do okolí dřívě, než se v květu blizna stane receptivní. Tím se poněkud mění význam gynodiecie, neboť všechny rostliny v populaci se stávají obligátně cizospašnými a jednotlivé populace se liší jen frekvencí rostlin schopných poskytnout pyl. Gynodiecii nezbytně doprovází specializace rostlin v populacích, přičemž funkčně samičí a oboupohlavní jedinci nemusí reprezentovat řádně vymezené entity. Ehrendorfer (1962) totiž zmiňuje u *Knautia arvensis* plynulý přechod mezi nimi, vykazující všechny mezistupně v redukcii andrecea. Štěpánek (1979) uvádí, že strbouly samičích rostlin obsahují menší počet květů než oboupohlavné a zároveň postrádají okrajové paprskující květy. Ovšem Larsson (2005) ve své práci o opylovačích *Knautia arvensis* píše, že v rámci jím studované populace nebyly rozdíly v počtu květů mezi rostlinami obou typů zaznamenány. Situace u *Knautia arvensis* subsp. *serpentinicola* by mohla být navíc poněkud specifická, neboť Štěpánek (1979, 1997) pozoroval na lokalitách vždy jen oboupohlavné rostliny. Přestože mechanismem gynodiecie může být například jen omezená vitalita pylových zrn některých jedinců, bez jakýchkoliv nápadných změn v morfologii rostlin, nelze ani vyloučit, že u hadcových populací není gynodiecie vyvinuta.

Reprodukční biologii druhu přiblížilo experimentální studium tetraploidů *Knautia arvensis* subsp. *arvensis* z Norska. K vývinu semen docházelo i při samosprašení, takže rostliny patrně nebudou autosterilní (Vange 2002). Přestože je splývání gamet v rámci jednoho jedince kompatibilní, ve skutečnosti k němu dochází jen velmi zřídka. Prodleva mezi vývinem obou pohlaví je totiž synchronizována, takže proterandrie úspěšně brání samosprašení nejen v rámci jednoho květu, ale i v celém strboulu a částečně i mezi květenstvími jedné ramety. Strbouly obalené nylonovými síťkami bránícími přenosu pylu zakládaly semena jen v 2,8 % případů (Vange 2002). Nejpravděpodobnějším mechanismem autogamie se tak jeví přenos pylu mezi květy různých ramet téže genety. Pokud ale k samosprašení dojde, již v první generaci se projevuje nápadným snížením vitality vzniklého potomstva. Inbrední deprese je patrná i během klíčení a etablování rostlin, avšak největší efekt má na biomasu rostlin v juvenilní fázi (následně již nebylo potomstvo sledováno). Rostliny vzniklé alogamií byly v průměru 2,4krát zdatnější než autogamické potomstvo (Vange 2002). Ovšem jedná se o hodnoty zjišťované při *ex situ* kultivacích.

Přenos pylu mezi květy je zprostředkován výhradně hmyzem, jedná se tedy o obligátní entomogamii (Štěpánek 1997). Hmyz je patrně lákán barvou koruny a je v této souvislosti zajímavé, že hadcové populace mají nezřídka sytější zbarvení korun v porovnání s běžným tetraploidním poddruhem (Štěpánek 1979). Tyčinky oboupohlavných květů obvykle vyčnívají 4–5 mm nad korunu a k jejich prezentaci dochází po dobu 1–4 dní, v závislosti na četnosti hmyzích návštěv strboulů (Larsson 2005). *Knautia arvensis* subsp. *arvensis* láká široké spektrum různých opylovačů z řádů blanokřídlých, dvoukřídlých, motýlů a brouků (Larsson 2005), avšak situace na hadcových lokalitách může být velmi odlišná.

Šíření druhu na lokalitách může probíhat prostřednictvím semen a vegetativního rozrůstání. Ke klonálnímu množení dochází přirůstáním větveného oddenku spojeným s tvorbou nových

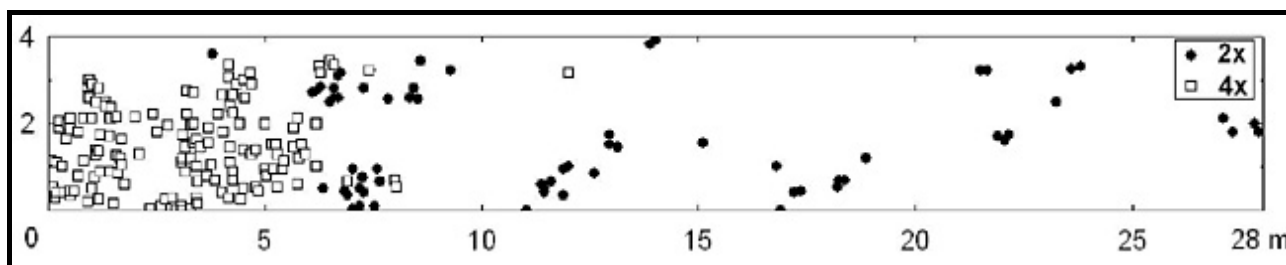
přízemních listových růžic. Právě pro *Knautia arvensis* subsp. *serpentinicola* je typická vytrvalost těchto listových růžic i přes období kvetení, kdy u příbuzných taxonů obvykle růžice usychají (Štěpánek 1979). Semena chrastavců jsou opatřena elaiosomem a proto se předpokládá, že je jejich šíření zprostředkováno mravenci (Vandvik a Vange 2003, Štěpánek 1997). Vandvik a Vange (2003) upozorňují, že štětiny na semenech by mohly umožňovat i exozoochorii.

*Knautia arvensis* subsp. *serpentinicola* osidluje reliktní bory, lesní světliny a okraje cest v oblastech se skeletovitými půdami vznikajícími zvětráváním hadce (Štěpánek 1997). Jedná se o serpentinoxyt.

### 5.3 STRUKTURA PRIMÁRNÍ KONTAKTNÍ ZÓNY

Kolář et al. (2009) v souvislosti se studiem populací *Knautia arvensis* subsp. *serpentinicola* na hadcovém tělese nedaleko Mariánských Lázní, tedy v oblasti primární kontaktní zóny mezi diploidním a tetraploidním cytotypem, zmiňují četné informace týkající se struktury této zóny, jež jsou významné z hlediska následného studia.

Na lokalitách Vlčí hřbet a Planý vrch byl proveden předběžný průzkum rozšíření cytotypů, který naznačil, že rostliny v terénu tvoří menší a relativně dobře vymezené subpopulace, které jsou v naprosté většině případů cytologicky uniformní. Převládajícím cytotypem jsou tetraploidi. Kolář et al. (2009) posléze identifikovali i několik smíšených subpopulací a na dvou z nich zaznamenali distribuci cytotypů na malém prostorovém měřítku. Situaci na jedné ze smíšených ploch (lokalita Planý vrch) ilustruje obr. č. 2. Agregace rostlin stejné ploidní úrovně je patrná a zároveň byla statisticky ověřena Mantelovým testem (Kolář et al. 2009).



**Obr. č. 2:** Prostorové uspořádání cytotypů ve smíšené subpopulaci.  
Převzato z Kolář et al. (2009).

Kolář et al. (2009) se následně pokusili navrhnout možné příčiny agregace cytotypů na lokalitě. Při zběžných pozorováních v terénu nebyly zaznamenány výraznější rozdíly ve vegetačním krytu ani abiotickém charakteru stanovišť osidlovaných diploidními a tetraploidními rostlinami. Proto nepovažovali ekologickou separaci za hlavní hnací sílu udržující tento typ rozšíření. Dávají přednost neadaptivnímu vysvětlení kombinujícímu efekt zakladatele a následně omezenou distribuční schopnost chrastavců. Ovšem pozorovaná koexistence cytotypů nemusí být nezbytně jakýmkoliv mechanismy udržována, pokud je důsledkem pouze přechodného stavu vedoucího postupně ke kompetičnímu vyloučení jednoho z nich. Jistě si lze představit, že kompetičně zdatnější by mohla být tetraploidní rasa,

jež na hadcových skalkách v oblasti početně převládá. Dokonce se při studiu cytotypového složení věkových kohort dvou výše zmíněných smíšených subpopulací ukázalo, že na úrovni semenáčků je poměrné zastoupení diploidů vyšší než mezi dospělými rostlinami. Rozdíly na zmíněných experimentálních plochách však kromě rozdílné míry přežívání jednotlivých cytotypů mohly odrážet pouze vyšší transport diploidních semen z okolních ploch (Kolář et al. 2009). Stejně tak větší početnost tetraploidů nemusí svědčit o jejich úspěšném vytlačování diploidní rasy, nýbrž jen o schopnosti expandovat kolonizací míst mimo disperzní a fyziologické možnosti diploidního cytotypu. Další studium je proto třeba, aby bylo možno situaci kriticky zhodnotit.

V rámci celého rodu *Knautia* jsou uváděny silné reprodukční bariéry mezi diploidními a tetraploidními rostlinami, jež byly rovněž potvrzeny opylovacími experimenty (Breton Sintes 1974). Navzdory intenzivnímu cytologickému průzkumu nebyli nalezeni na lokalitě žádné triploidní semenáčky ani rostliny. Identifikováno bylo jen jedno triploidní semeno odebrané z tetraploidní matky (Kolář et al. 2009). Genový tok mezi diploidními a tetraploidními rostlinami tak nelze vyloučit, avšak bude pravděpodobně velmi omezený. Vzhledem k absenci triploidů mezi staršími rostlinami může být potomstvo vzniklé křížením mezi cytotypy neživotoschopné či kompetičně vyloučeno dříve, než dosáhne dospělosti (Kolář et al. 2009). Nemůže však být vyloučen jednosměrný genový tok z diploidních populací do tetraploidních prostřednictvím produkce neredukovaných gamet.

## **6. OTÁZKY KLADENÉ DO NAVAZUJÍCÍ MAGISTERSKÉ PRÁCE**

### **I. Jaký je charakter distribuce cytotypů v oblasti primární kontaktní zóny?**

- Který z cytotypů početně převládá?
- Jak časté jsou smíšené subpopulace?
- Tvoří subpopulace jedinců stejné ploidní úrovně v zájmovém území shluky nebo jsou rozmístěné spíše náhodně?

### **II. Liší se diploidi od tetraploidů svými stanovištními preferencemi?**

- Rostou diploidi ve společenstvech tvořených jinými druhy, upřednostňují jiné hodnoty abiotických parametrů než tetraploidi?
- Má jeden z cytotypů širší ekologickou amplitudu (a osidluje tak širší spektrum různých prostředí)?

### **III. Jaká je prostorová struktura smíšených subpopulací?**

- Je agregace cytotypů patrná ve všech smíšených subpopulacích?
- Odráží tato agregace vegetační či abiotické poměry na stanovišti?
- Změní se pozorovaný stav po 1–2 letech nerušeného vývoje (např. šíření jednoho z cytotypů)?

### **IV. Jsou patrné rozdíly v populační dynamice cytotypů v rámci smíšených subpopulací?**

- Jaké jsou kritické fáze v životním cyklu rostlin, liší se mezi cytotypy?

- Jaká je frekvence vzniku triploidních semen v populacích, závisí na ploidní úrovni mateřské rostliny?

#### **V. Projeví se rozdíly v biologických vlastnostech cytotypů i při kultivacích ve standardizovaných podmínkách?**

- Mají semena jednoho z cytotypů vyšší klíčivost?
- Existují rozdíly v rychlosti růstu a množství produkované biomasy mezi diploidy a tetraploidy?
- Liší se cytotypy mírou svých kompetičních schopností?
- Ovlivňuje působení hadcového substrátu tyto kompetiční schopnosti odlišně mezi cytotypy?

## **7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- Arvanitis, L., Wiklund, C., Ehrlén, J. (2008):** Plant ploidy level influences selection by butterfly seed predators. *Oikos*, 117: 1020–1025.
- Baack, E. J. (2004):** Cytotype segregation on regional and microgeographic scales in snow buttercups (*Ranunculus adoneus*: Ranunculaceae). *American Journal of Botany*, 91(11): 1783–1788.
- Baack, E. J. (2005a):** To succeed globally, disperse locally: effects of local pollen and seed dispersal on tetraploid establishment. *Heredity*, 94: 538–546.
- Baack, E. J. (2005b):** Ecological factors influencing tetraploid establishment in snow buttercups (*Ranunculus adoneus*, Ranunculaceae): minority cytotype exclusion and barriers to triploid formation. *American Journal of Botany*, 92(11): 1827–1835.
- Balao, F., Casimiro-Soriguer, R., Talavera, M., Herrera, J., Talavera, S. (2009):** Distribution and diversity of cytotypes in *Dianthus broteri* as evidenced by genome size variations. *Annals of Botany*, 104: 965–973.
- Barringer, B. C. (2007):** Polyploidy and self-fertilization in flowering plants. *American Journal of Botany*, 94(9): 1527–1533.
- Begon, M., Townsend, C. R., Harper, J. L. (2006):** *Ecology: from individuals to ecosystems*. Edition 4. Oxford: Blackwell Publishing.
- Bicknell, R. A., Koltunow, A. M. (2004):** Understanding apomixis: recent advances and remaining conundrums. *The Plant Cell*, 16: 228–245.
- Bretagnolle, F. (2001):** Pollen production and spontaneous polyploidization in diploid populations of *Anthoxanthum alpinum*. *Biological Journal of the Linnean Society*, 72: 241–247.
- Bretagnolle, F., Thompson, J. D. (2001):** Phenotypic plasticity in sympatric diploid and autotetraploid *Dactylis glomerata*. *International Journal of Plant Sciences*, 162(2): 309–316.
- Breton Sintès, S. (1974):** Etude biosystematique du genre *Knautia* (Dipsacaceae) dans le Massif Central français. I. Analyse morphologique et cytogenetique d'hybrides experimentaux. *Annales des sciences Naturelles, Botanique*, 12: 277–320.
- Briggs, D., Walters, S. M. (2001):** *Proměnlivost a evoluce rostlin*. Vydání 3., český překlad. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci.
- Brochmann, C., Brysting, A. K., Alsos, I. G., Borgen, L., Grundt, H. H., Scheen, A.-C., Elven, R. (2004):** Polyploidy in arctic plants. *Biological Journal of the Linnean Society*, 82: 521–536.

- Buggs, R. J. A., Pannell, J. R. (2007):** Ecological differentiation and diploid superiority across a moving ploidy contact zone. *Evolution*, 61(1): 125–140.
- Burton, T. L., Husband, B. C. (1999):** Population cytotype structure in the polyploid *Galax urceolata* (Diapensiaceae). *Heredity*, 82: 381–390.
- de Kovel, C. G. F., de Jong, G. (2000):** Selection on apomictic lineages of *Taraxacum* at establishment in a mixed sexual-apomictic population. *Journal of Evolutionary Biology*, 13: 561–568.
- Ehrendorfer, F. (1962):** Beiträge zur Phylogenie der Gattung *Knautia* (Dipsacaceae), I. Cytologische Grundlagen und allgemeine Hinweise. *Österreichische Botanische Zeitschrift Z.*, 109: 276–343.
- Ehrendorfer, F. (1976):** 6. *Knautia* L. In: Tutin, T. G., Heywood, V. H., Burges, N. A., Moore, D. M., Valentine, D. H., Walters, S. M., Webb, D. A. [eds.]. *Flora Europaea*. Volume 4. Cambridge: Cambridge University Press, 60–67.
- Ehrendorfer, F. (1980):** Polyploidy and distribution. In: Lewis, W. H. [ed.]. *Polyploidy, biological relevance*. New York: Plenum, 45–60.
- Felber, F. (1991):** Establishment of a tetraploid cytotype in a diploid population: effect of the relative fitness of cytotypes. *Journal of Evolutionary Biology*, 4: 195–207.
- Felber-Girard, M., Felber, F., Buttler, A. (1996):** Habitat differentiation in a narrow hybrid zone between diploid and tetraploid *Anthoxanthum alpinum*. *New Phytologist*, 133: 531–540.
- Flegr, F. (2005):** *Evoluční biologie*. Vydání 1. Praha: Academia.
- Fowler, N. L., Levin, D. A. (1984):** Ecological constraints on the establishment of a novel polyploid in competition with its diploid progenitor. *The American Naturalist*, 124(5): 703–711.
- Gauthier, P., Lumaret, R., Bédécarrats, A. (1998):** Genetic variation and gene flow in Alpine diploid and tetraploid populations of *Lotus* (*L. alpinus* (D.C.) Schleicher/*L. corniculatus* L.). I. Insights from morphological and allozyme markers. *Heredity*, 80: 683–693.
- Halverson, K., Heard, S. B., Nason, J. D., Stireman, J. O. (2008):** Origins, distribution, and local co-occurrence of polyploid cytotype in *Solidago altissima* (Asteraceae). *American Journal of Botany*, 95(1): 50–58.
- Hardy, O. J., Vanderhoeven, S., de Loose, M., Meerts, P. (2000):** Ecological, morphological and allozymic differentiation between diploid and tetraploid knapweeds (*Centaurea jacea*) from a contact zone in the Belgian Ardennes. *New Phytologist*, 146: 281–290.
- Hardy, O. J., Vekemans, X. (2001):** Patterns of allozyme variation in diploid and tetraploid *Centaurea jacea* at different spatial scales. *Evolution*, 55(5): 943–954.
- Hülber, K., Sonnleitner, M., Flatscher, R., Berger, A., Dobrovsky, R., Niessner, S., Nigl, T., Schneeweiss, G. M., Kubešová, M., Rauchová, J., Suda, J., Schönswetter, P. (2009):** Ecological segregation drives fine-scale cytotype distribution of *Senecio carniolicus* in the Eastern Alps. *Preslia*, 81: 309–319.
- Husband, B. C. (2000):** Constraints on polyploid evolution: a test of the minority cytotype exclusion principle. *Proceedings of the Royal Society, B: Biological sciences*, 267: 217–223.
- Husband, B. C. (2004):** The role of triploid hybrids in the evolutionary dynamics of mixed-ploidy populations. *Biological Journal of the Linnean Society*, 82: 537–546.
- Husband, B. C., Ozimec, B., Martin, S. L., Pollock, L. (2008):** Mating consequences of polyploid evolution in flowering plants: current trends and insights from synthetic polyploids. *International Journal of Plant Sciences*, 169(1): 195–206.
- Husband, B. C., Sabara, H. A. (2003):** Reproductive isolation between autotetraploids and their diploid progenitors in fireweed, *Chamerion angustifolium* (Onagraceae). *New Phytologist*, 161: 703–713.

- Husband, B. C., Schemske, D. W. (1997):** The effect of inbreeding in diploid and tetraploid populations of *Epilobium angustifolium* (Onagraceae): implications for the genetic basis of inbreeding depression. *Evolution*, 51(3): 737–746.
- Husband, B. C., Schemske, D. W. (1998):** Cytotype distribution at a diploid-tetraploid contact zone in *Chamerion (Epilobium) angustifolium* (Onagraceae). *American Journal of Botany*, 85(12): 1688–1694.
- Husband, B. C., Schemske, D. W., Burton, T. L., Goodwillie, C. (2002):** Pollen competition as a unilateral reproductive barrier between sympatric diploid and tetraploid *Chamerion angustifolium*. *Proceedings of the Royal Society, B: Biological sciences*, 269: 2565–2571.
- Jarošík, V. (2005):** Růst a regulace populací. Vydání 1. Praha: Academia.
- Jersáková, J., Castro, S., Sonk, N., Milchreit, K., Schödelbauerová, I., Tolasch, T., Dötterl, S. (2010):** Absence of pollinator-mediated premating barriers in mixed-ploidy populations of *Gymnadenia conopsea* s.l. (Orchidaceae). *Evolutionary Ecology* [in press].
- Johnson, M. T. J., Husband, B. C., Burton, T. L. (2003):** Habitat differentiation between diploid and tetraploid *Galax urceolata* (Diapensiaceae). *International Journal of Plant Sciences*, 164(5): 703–710.
- Kao, R. H. (2007):** Asexuality and the coexistence of cytotypes. *New Phytologist*, 175: 764–772.
- Kao, R. H. (2008):** Origins and widespread distribution of co-existing polyploids in *Arnica cordifolia* (Asteraceae). *Annals of Botany*, 101: 145–152.
- Kaplan, Z. (1998):** Relict serpentine populations of *Knautia arvensis* s. l. (Dipsacaceae) in the Czech Republic and an adjacent area of Germany. *Preslia*, 70: 21–31.
- Keeler, K. H. (2004):** Impact of intraspecific polyploidy in *Andropogon gerardii* (Poaceae) populations. *The American Midland Naturalist*, 152: 63–74.
- Keeler, K. H., Davis, G. A. (1999):** Comparison of common cytotypes of *Andropogon gerardii* (Andropogoneae, Poaceae). *American Journal of Botany*, 86(7): 974–979.
- Kennedy, B. F., Sabara, H. A., Haydon, D., Husband, B. C. (2006):** Pollinator-mediated assortative mating in mixed ploidy population of *Chamerion angustifolium* (Onagraceae). *Oecologia*, 150: 398–408.
- Kolář, F., Štech, M., Trávníček, P., Rauchová, J., Urfus, T., Vít, P., Kubešová, M., Suda J. (2009):** Towards resolving the *Knautia arvensis* agg. (Dipsacaceae) puzzle: primary and secondary contact zones and ploidy segregation at landscape and microgeographic scales. *Annals of Botany*, 103: 963–974.
- Larsson, M. (2005):** Higher pollinator effectiveness by specialist than generalist flower-visitors of unspecialized *Knautia arvensis* (Dipsacaceae). *Oecologia*, 146: 394–403.
- Levin, D. A. (1975):** Minority cytotype exclusion in local plants populations. *Taxon*, 24(1): 35–43.
- Levin, D. A. (1983):** Polyploidy and novelty in flowering plants. *The American Naturalist*, 122(1): 1–25.
- Levin, D. A. (2002):** The role of chromosomal change in plant evolution. Oxford series in ecology and evolution. New York: Oxford University Press.
- Levin, D. A. (2003):** The ecological transition in speciation. *New Phytologist*, 161: 91–96.
- Lumaret, R., Guillerm, J.-L., Delay, J., Ait Lhaj Loutfi, A., Izco, J., Jay, M. (1987):** Polyploidy and habitat differentiation in *Dactylis glomerata* L. from Galicia (Spain). *Oecologia*, 73: 436–446.
- Mable, B. K. (2004):** Polyploidy and self-compatibility: is there an association?. *New Phytologist*, 162: 803–811.

- Maceira, N. O., Jacquard, P., Lumaret, R. (1993):** Competition between diploid and derivative autotetraploid *Dactylis glomerata* L. from Galicia. Implications for the establishment of novel polyploid populations. *New Phytologist*, 124: 321–328.
- McArthur, E. D., Sanderson, S. C. (1999):** Cytogeography and chromosome evolution of subgenus *Tridentatae* of *Artemisia* (Asteraceae). *American Journal of Botany*, 86(12): 1754–1775.
- Miller, J. S., Venable, D. L. (2000):** Polyploidy and the evolution of gender dimorphism in plants. *Science*, 289: 2335–2338.
- Münzbergová, Z. (2007):** No effect of ploidy level in plant response to competition in a common garden experiment. *Biological Journal of the Linnean Society*, 92: 211–219.
- Nuismer, S. L., Cunningham, B. M. (2005):** Selection for phenotypic divergence between diploid and autotetraploid *Heuchera grossulariifolia*. *Evolution*, 59(9): 1928–1935.
- Nuismer, S. L., Thompson, J. N. (2001):** Plant polyploidy and non-uniform effects on insect herbivores. *Proceedings of the Royal Society, B: Biological sciences*, 268: 1937–1940.
- Otto, S. P., Whitton, J. (2000):** Polyploid incidence and evolution. *Annual Review of Genetics*, 34: 401–437.
- Pannell, J. R., Obbard, D. J., Buggs, R. J. A. (2004):** Polyploidy and the sexual system: what can we learn from *Mercurialis annua*?. *Biological Journal of the Linnean Society*, 82: 547–560.
- Petit, C., Bretagnolle, F., Felber, F. (1999):** Evolutionary consequences of diploid-polyploid hybrid zones in wild species. *Tree*, 14(8): 306–311.
- Petit, C., Lesbros, P., Ge, X., Thompson, J. D. (1997):** Variation in flowering phenology and selfing rate across a contact zone between diploid and tetraploid *Arrhenatherum elatius* (Poaceae). *Heredity*, 79: 31–40.
- Petit, C., Thompson, J. D. (1999):** Species diversity and ecological range in relation to ploidy level in the flora of the Pyrenees. *Evolutionary Ecology*, 13: 45–66.
- Pfennig, K. S., Pfennig, D. W. (2009):** Character displacement: ecological and reproductive responses to a common evolutionary problem. *The Quarterly Review of Biology*, 84(3): 253–276.
- Ramsey, J., Schemske, D. W. (1998):** Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 29: 467–501.
- Ramsey, J., Schemske, D. W. (2002):** Neopolyploidy in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 33: 589–639.
- Rausch, J. H., Morgan, M. T. (2005):** The effect of self-fertilization, inbreeding depression, and population size on autopolyploid establishment. *Evolution*, 59(9): 1867–1875.
- Rodríguez, D. J. (1996):** A model for the establishment of polyploidy in plants. *The American Naturalist*, 147(1): 33–46.
- Rothera, S. L., Davy, A. J. (1986):** Polyploidy and habitat differentiation in *Deschampsia cespitosa*. *New Phytologist*, 102: 449–467.
- Segraves, K. A., Thompson, J. N. (1999):** Plant polyploidy and pollination: floral traits and insect visits to diploid and tetraploid *Heuchera grossulariifolia*. *Evolution*, 53(4): 1114–1127.
- Segraves, K. A., Thompson, J. N., Soltis, P. S., Soltis, D. E. (1999):** Multiple origins of polyploidy and the geographic structure of *Heuchera grossulariifolia*. *Molecular Ecology*, 8: 253–262.
- Schönswetter, P., Lachmayer, M., Lettner, C., Prehler, D., Rechnitzer, S., Reich, D. S., Sonnleitner, M., Wagner, I., Hülber, K., Schneeweiss, G. M., Trávníček, P., Suda, J. (2007):** Sympatric diploid

and hexaploid cytotypes of *Senecio carniolicus* (Asteraceae) in the Eastern Alps are separated along an altitudinal gradient. *Journal of Plant Research*, 120: 721–725.

- Schranz, M. E., Osborn, T. C. (2004):** De novo variation in life-history traits and responses to growth conditions of resynthesized polyploid *Brassica napus* (Brassicaceae). *American Journal of Botany*, 91(2): 174–183.
- Soltis, D. E., Albert, V. A., Leebens-Mack, J., Bell, C. D., Paterson, A. H., Zheng, C., Sankoff, D., de Pamphilis, C. W., Wall, P. K., Soltis, P. S. (2009):** Polyploidy and angiosperm diversification. *American Journal of Botany*, 96(1): 336–348.
- Soltis, D. E., Soltis, P. S. (1999):** Polyploidy: recurrent formation and genome evolution. *Tree*, 14: 348–352.
- Soltis, P. S., Soltis, D. E. (2009):** The role of hybridization in plant speciation. *Annual Review of Plant Biology*, 60: 561–588.
- Stuessy, T. F., Weiss-Schneeweiss, H., Keil, D. J. (2004):** Diploid and polyploid cytotype distribution in *Melampodium cinereum* and *M. leucanthum* (Asteraceae, Heliantheae). *American Journal of Botany*, 91(6): 889–898.
- Suda, J., Kron, P., Husband, B. C., Trávníček, P. (2007):** Flow cytometry and ploidy: applications in plant systematics, ecology and evolutionary biology. In: Doležel, J., Greilhuber, J., Suda, J. [eds.]. *Flow cytometry with plant cells. Analysis of genes, chromosomes and genomes*. Weinheim: Wiley-VCH, 103–130.
- Štěpánek, J. (1979):** Příspěvek k řešení taxonomicko-chorologické problematiky komplexu *Knautia arvensis* v ČSSR [Diplomová práce, uložena v Knihovně katedry botaniky PřF UK]. Praha.
- Štěpánek, J. (1989):** Chrastavec rolní krkonošský – *Knautia arvensis* (L.) Coulter subsp. *pseudolongifolia* (Szabó) O. Schwarz. In: Slavík, B. [ed.]. *Vybrané ohrožené druhy flóry ČSR. Studie ČSAV. Díl 10*. Praha: Academia, 25–36.
- Štěpánek, J. (1997):** 6. *Knautia* L. – chrastavec. In: Slavík, B. [ed.]. *Květena České republiky. Díl 5*. Praha: Academia, 543–554.
- Štěpánek, J. (2002):** 6. *Knautia* L. – chrastavec. In: Kubát, K., Hrouda, L., Chrtěk, J. jun., Kaplan, Z., Kirschner, J., Štěpánek, J., Zázvorka, J. [eds.]. *Klíč ke květeně České republiky*. Praha: Academia, 498–499.
- Thompson, S. L., Whitton, J. (2006):** Patterns of recurrent evolution and geographic parthenogenesis within apomictic polyploid Easter daises (*Townsendia hookeri*). *Molecular Ecology*, 15: 3389–3400.
- van Dijk, P., Bakx-Schotman, T. (1997):** Chloroplast DNA phylogeography and cytotype geography in autopolyploid *Plantago media*. *Molecular Ecology*, 6: 345–352.
- Vandvik, V., Vange, V. (2003):** Germination ecology of the clonal herb *Knautia arvensis*: Regeneration strategy and geographic variation. *Journal of Vegetation Science*, 14: 591–560.
- Vange, V. (2002):** Breeding system and inbreeding depression in the clonal plant species *Knautia arvensis* (Dipsacaceae): implications for survival in abandoned grassland. *Biological Conservation*, 108: 59–67.
- Weiss, H., Dobeš, C., Schneeweiss, G. M., Greimler, J. (2002):** Occurrence of tetraploid and hexaploid cytotypes between and within populations in *Dianthus* sect. *Plumaria* (Caryophyllaceae). *New Phytologist*, 156: 85–94.