

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta
Katedra botaniky

Studijní program: Biologie
Studijní obor: Ekologická a evoluční biologie



Bakalářská práce

**Reprodukční systémy a možnosti hybridizace v rodě
Arabidopsis**

Reproductive systems and possibility of hybridization in genus Arabidopsis

Veronika Vlčková

Vedoucí práce: Mgr. Magdalena Lučnová

Praha 2014

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 15. 5. 2014

.....

Podpis

Poděkování

Ráda bych zde poděkovala své školitelce Majdě Lučanové za vstřícnost a trpělivost při vedení této práce. Velký dík patří také Filipu Kolářovi za cenné připomínky a závěrečnou kontrolu práce.

Děkuji rodičům za to, že mi umožnili studovat vysněný obor, a také svému příteli za neutuchající psychickou podporu.

Abstrakt

Tato bakalářská práce je literární rešerší zabývající se rostlinami rodu *Arabidopsis*. Navzdory četným studiím, které se zaměřují na modelový druh *A. thaliana* existuje jen malý počet prací o jeho nejbližších příbuzných, zejména pak určitá hlediska jsou v dosavadní literatuře zcela opomíjena. Druhy rodu *Arabidopsis* můžeme nalézt téměř po celém světě, ale jejich vývojové centrum se nachází s největší pravděpodobností v Evropě.

Tato práce shrnuje obecné informace o všech zástupcích tohoto rodu se zaměřením na území Evropy a soustředí se především na jejich rozmnožovací systémy a hybridizaci.

Druhy rodu *Arabidopsis* hojně hybridizují jak mezi sebou navzájem, tak i v omezenější míře mezi jednotlivými ploidiemi uvnitř těchto druhů. Právě kvůli četným hybridizacím a polyploidizacím, které se zde dosud odehrávají nebo v blízké minulosti odehrávaly, je taxonomie tohoto rodu velmi složitá a dosud nebyla zcela objasněna. Práce také shrnuje hlavní způsoby experimentálního studia reprodukčních systémů.

Tato bakalářská práce je teoretickým základem pro navazující diplomovou práci, ve které se budu zabývat experimentálním studiem reprodukčních způsobů a možnostmi hybridizace mezi jednotlivými taxonomickými zástupci a cytotypy ze skupiny *A. arenosa*.

Klíčová slova

Arabidopsis, hybridizace, reprodukční systémy

Abstract

This bachelor thesis is a literature review focused on plants of genus *Arabidopsis*. Despite numerous studies dealing with the model species *A. thaliana* there are only a small number of papers about its closest relatives, especially certain aspects are completely neglected in present literature. Species of the genus *Arabidopsis* can be found almost all over the world but their development center is most likely in Europe.

This thesis summarizes general information on all representatives of this genus with a focus on European territory and concentrate mainly on their reproductive systems and hybridization.

Species of the genus *Arabidopsis* frequently hybridize with each other and between different ploidy levels within these species. Due to such numerous hybridization and polyploidizations, including past and recent ones, the taxonomy of this genus is extremely complicated and has not been fully elucidated yet. This paper also includes main methods of experimental study of the reproductive systems.

This bachelor thesis is a theoretical basis for the subsequent master thesis, in which I will conduct an experimental study addressing reproductive modes and the possibilities of hybridization between different taxonomic representatives and ploidy cytotypes of group *A. arenosa*.

Key words

Arabidopsis, hybridization, reproductive systems

Obsah

1. ÚVOD.....	2
2. STRUČNÁ CHARAKTERISTIKA RODU	3
3. CHARAKTERISTIKA JEDNOTLIVÝCH DRUHŮ RODU <i>ARABIDOPSIS</i>	4
3.1. <i>A. ARENOSA</i> (Linnaeus) Lawalrée.....	4
3.1.1. <i>A. ARENOSA</i> SUBSP. <i>ARENOSA</i>	5
3.1.2. <i>A. ARENOSA</i> SUBSP. <i>BORBASII</i> (Zapalowicz) O’Kane & Al-Shehbaz	5
3.2. <i>A. CEBENNENSIS</i> (de Candolle) O’Kane & Al-Shehbaz	6
3.3. <i>A. CROATICA</i> (Schott) O’Kane & Al-Shehbaz.....	6
3.4. <i>A. HALLERI</i> (Linnaeus) O’Kane & Al-Shehbaz	6
3.4.1. <i>A. HALLERI</i> SUBSP. <i>GEMMIFERA</i> (Matsumura) O’Kane & Al-Shehbaz	7
3.4.2. <i>A. HALLERI</i> SUBSP. <i>HALLERI</i>	8
3.4.3. <i>A. HALLERI</i> SUBSP. <i>OVIRENSIS</i> (Wulfen) O’Kane & Al-Shehbaz	8
3.5. <i>A. LYRATA</i> (Linnaeus) O’Kane & Al-Shehbaz.....	8
3.5.1. <i>A. LYRATA</i> SUBSP. <i>KAMCHATICA</i> (Fischer ex de Candolle) O’Kane & Al-Shehbaz	9
3.5.2. <i>A. LYRATA</i> SUBSP. <i>LYRATA</i>	10
3.5.3. <i>A. LYRATA</i> SUBSP. <i>PETRAEA</i> (Linnaeus) O’Kane & Al-Shehbaz	10
3.6. <i>A. NEGLECTA</i> (Schultes) O’Kane & Al-Shehbaz.....	10
3.7. <i>A. PEDEMONTANA</i> (Boissier) O’Kane & Al-Shehbaz.....	11
3.8. <i>A. SUECICA</i> (Fries) Norrlin	11
3.9. <i>A. THALIANA</i> (Linnaeus) Heynhold.....	12
4. REPRODUKČNÍ SYSTÉMY	12
4.1. OBECNÉ PRINCIPY	12
4.2. REPRODUKČNÍ SYSTÉMY V RODĚ <i>ARABIDOPSIS</i>	15
5. HYBRIDIZACE	19
6. MOŽNOSTI EXPERIMENTÁLNÍHO STUDIA	21
7. NAVAZUJÍCÍ PRÁCE	23
7.1. CÍLE	23
7.2. MATERIÁL A METODIKA.....	24
8. ZÁVĚR	25
9. LITERATURA	27

1. ÚVOD

Arabidopsis Heynh. in Holl & Heynh. (huseníček) je rod krytosemenných rostlin, jehož některé druhy se vyznačují často spleťtou taxonomií. Zatímco nejznámější druh tohoto rodu, *Arabidopsis thaliana*, je dobře prozkoumaným modelovým organizmem, informace o jeho příbuzných z rodu *Arabidopsis* jsou často málo dostupné nebo nejsou komplexně sumarizované. Dosavadní rešerše zabývající se rodem *Arabidopsis* se zaměřují spíše na rozšíření, ekologii a morfologii (např. Al-Shehbaz & O’Kane, 2002; Al-Shehbaz & Ihsan, 2003). Na speciaci, hybridizaci a polyploidizaci druhů v rodě *Arabidopsis* se zaměřuje jen velmi málo studií.

Co se týče rozmnožování, je tento rod poměrně složitý. Objevuje se zde autogamie i alogamie (Bechsgaard et al., 2006, Bomblies & Weigel, 2010; Willi & Mäattänen, 2010). Základem těchto procesů je rozpoznání cizího a vlastního pylu a jeho odmítnutí v případě, že je z hlediska příbuznosti pro danou rostlinu nevyhovující (Takayama & Isogai, 2003). Apomixie zatím nebyla v tomto rodě zjištěna.

V tomto rodě jsou významnými evolučními procesy polyploidizace a častá hybridizace, která přispívá k ploidní variabilitě (Clauss & Koch, 2006; Kolář et al., manuskript; Měsíček, 1970; Schmickl & Koch, 2011). Polyploidie je v rostlinné říši běžná a může být jedním z mechanismů speciace (Stebbins, 1940). Často jde ruku v ruce s hybridizací - například *A. suecica* je alotetraploidní druh, který pravděpodobně vznikl křížením druhů *A. arenosa* a *A. thaliana* (O’Kane et al., 1996). Hybridí vzniklých mezidruhovým křížením mohou být zajímaví i z hlediska analýzy evoluce genomu. Například amfidiploidi pocházející z křížení druhu *A. thaliana* a *A. lyrata* mohou být pro tyto analýzy dobrým materiálem, protože jejich rodiče jsou oba diploidní (Nasrallah et al., 2000). Ne každé křížení je ale vždy úspěšné, respektive různé studie přinášejí rozdílné výsledky. Například křížení *A. thaliana* s druhem *A. arenosa* subsp. *arenosa* bylo podle některých studií neúspěšné (Měsíček, 1967). Jiné studie naopak ukazují, že tyto druhy křížit lze (O’Kane et al., 1996). Možné je dokonce i mezirodové křížení *A. thaliana* s *Olimarabidopsis pumila* (dříve řazeného přímo do rodu *Arabidopsis*) – z tohoto křížení semena vznikají přibližně v 45 % (Berger, 1966).

Studium rozmnožovacích systémů a hybridizace je klíčové pro pochopení vývoje a vnitřního členění rodu. Literární zdroje se v názorech na hybridizaci a taxonomii v tomto rodě značně rozcházejí nebo nejsou zcela jednoznačné. Mnoho skutečností zde teprve čeká na ujasnění, což z tohoto tématu činí zajímavý předmět studia.

Cílem této práce je vytvořit rešerši shrnující dosavadní poznatky o rozmnožovacích systémech v rodě *Arabidopsis* a o jejich vzájemné hybridizaci, a to jak ve volné přírodě, tak i v kultivačních experimentech.

2. STRUČNÁ CHARAKTERISTIKA RODU

Arabidopsis je rod z čeledi *Brassicaceae*. Jedná se o vesměs plevelné terestrické rostliny menšího vzrůstu (10-50 cm), rostoucí na polích, rumišťích, podél řek, cest a železnic a na kamenitých svazích. Jako konkurenčně slabým rostlinám se jim daří především na narušovaných stanovištích a písčinyých substrátech.

Lodyhy a laločnaté listy v přízemní růžici jsou často porostlé jednoduchými či rozvětvenými trichomy. Lodyhy jsou přímé, často větvené, listy přisedlé nebo krátce řapíkaté. *Arabidopsis* tvoří hroznovitá květenství s bílými až fialovými aktinomorfními květy, které se skládají ze čtyř kališních a čtyř korunních lístků, pestíku, čtyř dlouhých a dvou krátkých tyčinek.

Vyskytuje se především v mírném pásu severní polokoule, ale i v Jižní Americe, jižní Africe, Austrálii a na Novém Zélandu (Al-Shehbaz & Ihsan, 2003).

Polyploidie je v tomto rodě častá. Vyskytují se zde diploidní a tetraploidní druhy (Al-Shehbaz & O'Kane, 2002). U druhu *A. arenosa* lze vzácně nalézt i triploidní či aneuploidní jedince (Měsíček, 1970).

Vnitřní členění rodu *Arabidopsis* je následující:

Arabidopsis

A. arenosa

A. arenosa subsp. *arenosa*

A. arenosa subsp. *borbasii*

A. cebennensis

A. croatica

A. halleri

A. halleri subsp. *gemmaifera*

A. halleri subsp. *halleri*

A. halleri subsp. *ovirensis*

A. lyrata

A. lyrata subsp. *kamchatica*

A. lyrata subsp. *lyrata*

A. lyrata subsp. *pertraea*

A. neglecta

A. pedemontana

A. suecica

A. thaliana

(podle Al-Shehbaz & O’Kane, 2002, seřazeno abecedně)

3. CHARAKTERISTIKA JEDNOTLIVÝCH DRUHŮ RODU *ARABIDOPSIS*

3.1. *A. ARENOSA* (Linnaeus) Lawalrée

Dvouletá či krátkodobě vytrvalá rostlina vysoká 8-80 cm. Její stonk je vzpřímený, porostlý trichomy, na vrcholu většinou rozvětvený a lysý. Listy v přízemní růžici řapíkaté a porostlé trichomy, jejich čepel má obvejčitý nebo obkopinatý tvar a zpeřený okraj. Na stonku vyrůstá 3-10 krátce řapíkatých zpeřených listů, horní jsou přisedlé s kopinatou čepelí. Květy jsou bílé až levandulové. Semeník obsahuje 28-74 vajíček. Tvoří podlouhlé šešule, semena jsou taktéž podlouhlá, světle červenohnědá, okřídlená.

Haploidní chromozomové číslo, tedy počet chromozomů v jedné sadě, je $x=8$ (Bomblies & Weigel, 2010). Somatický počet chromozomů je $2n=16$ nebo 32 (Al-Shehbaz & O’Kane, 2002). Vzácně byli zachyceni i triploidní ($2n=24$) či aneuploidní jedinci ($2n=18, 19, \text{cca } 38, 30, 31 \text{ a } 34; n=17$) (Měsíček, 1970). Triploidní cytotypy byly vždy reprezentovány ojedinělými jedinci v jinak diploidních populacích (Kolář et al., manuskript). Existuje ojedinělá zmínka i o pentaploidním jedinci druhu *A. arenosa* (Měsíček, 1970). Nalezen byl také jedinec, který díky anomální meióze tvořil mikrospory $n=8$, ačkoli jeho somatická ploidie byla $2n=32$. Zde se nejspíš jednalo o případ náhodného dvojnásobného snížení chromozomového počtu (Měsíček, 1970). Navzdory výskytu rozdílných cytotypů v různých částech areálu je většina populací cytotypově uniformních – diploidní nebo tetraploidní (Kolář et al., manuskript). Nápadně vysoká koncentrace diploidních jedinců *A. arenosa* je na území západních Karpat, což svědčí pro vývojové centrum tohoto komplexu (Měsíček, 1970; Schmickl et al., 2012).

Arabidopsis arenosa je spíše komplexem drobných druhů a poddruhů, které se mezi sebou kříží, čímž tato skupina nabývá na složitosti. Podle některých pojetí jsou do této

skupiny řazeny druhy *Arabidopsis nitida* nom.prov., *Arabidopsis carpatica*, *Arabidopsis petrogena* a *Arabidopsis arenosa* s.s., popřípadě i *Arabidopsis croatica* (Měsíček, 1970; Schmickl et al., 2012). Podle jiných pojetí se *A. arenosa* dělí pouze na dva poddruhy a to *A. arenosa* subsp. *borbasii* a *A. arenosa* subsp. *arenosa* (Al-Shehbaz & O’Kane, 2002). Definitivní rozdělení této skupiny je ale stále nejasné. V této skupině dochází často k hybridizaci a polyploidizaci, což z hlediska taxonomického členění způsobuje značné komplikace (Clauss & Koch, 2006).

3.1.1. *A. ARENOSA* SUBSP. *ARENOSA*

Tento poddruh je jednoletý až dvouletý, vzácně vytrvalý. Listy na bázi jsou peřenosečné s 1-6 bočními laloky na každé straně, občas zubaté, přední lalok je výrazně větší než postranní. Květy jsou bílé až šedivě. Semeník obsahuje 36-74 vajíček. Semena mají velmi úzká křídélka, zřídka bývají i bez křídel.

Vyskytuje se v Evropě. Roste na okrajích lesů a cest, železničních tratích, březích řek, disturbovaných areálech, svazích, polích a travnatých plochách od hladiny moře až do 2000 m n. m.

A. arenosa subsp. *arenosa* je snadno zaměnitelný s *A. suecica*. Lze je rozeznat podle okřídlených semen (*A. suecica* má semena bez křídélek), přisedlých děložních lístků, a silně zploštělých plodů (*A. suecica* má plody jen lehce zploštělé) (Al-Shehbaz & O’Kane, 2002).

Tento poddruh zahrnuje množství skupin s odlišnou geografii, různými ekologickými nároky a stupni ploidie, které Měsíček (1970) rozlišoval jako různé druhy. Tyto taxony jsou však definovány pouze na základě drobných odlišností dále komplikovaných vysokou variabilitou celého komplexu (Schmickl et al., 2012) a většinou nebyly legitimně publikovány. Proto je zde zmiňuji jen okrajově. Převládají tetraploidní populace ($2n=32$), časté jsou také diploidní ($2n=16$). Nalezeni byli i aneuploidní jedinci (Měsíček, 1970).

3.1.2. *A. ARENOSA* SUBSP. *BORBASII* (Zapalowicz) O’Kane & Al-Shehbaz

Většinou vytrvalá rostlina. Bazální listy jsou zpeřené se čtyřmi až jedenácti bočními laloky na každé straně, terminální lalok je přibližně stejně velký jako laloky postranní. Květy jsou světle šedivě. V semeníku je 28-38 vajíček, semena mají široká křídélka.

Somatický počet chromozomů je tetraploidní $2n= 32$.

Rozšířena je především ve střední Evropě, roste na okrajích lesů, svazích, březích řek a tratích od 400 do 2100 m n. m.

3.2. *A. CEBENNENSIS* (de Candolle) O’Kane & Al-Shehbaz

Vytrvalá rostlina vysoká 40-80 cm. Stonek je vzpřímený, na vrcholku větvený, s jednoduchými i rozeklanými trichomy. Listy v přízemní růžici mají řapíky dlouhé 1-4cm, listová čepel je vejčitá až kopinatá, se zubatým okrajem, velká kolem 2-7 x 1,5-4,5 cm, porostlá trichomy. Na stonku vyrůstá 7-15 lístků, podobných bazálním. Směrem k vrcholu se zmenšují, jsou krátce řapíkaté. Květy jsou tmavě fialové, levandulové nebo velmi vzácně bílé. V semeníku je 30-44 vajíček. Šešule jsou podlouhlé, semena rudohnědá s rovnými křídélky.

Rozšířen je ve Francii, na svazích a okrajích lesů od 600 do 2300 m n. m.

Jedná se o velmi vzácný a málo známý druh, chromozomy dosud nebyly spočítány. Nejvíce příbuzný je ale pravděpodobně s následujícími druhy (Al-Shehbaz & O’Kane, 2002).

3.3. *A. CROATICA* (Schott) O’Kane & Al-Shehbaz

Vytrvalá rostlina vysoká 8-20 cm se vzpřímeným, široce rozvětveným, pružným, holým stonkem. Listy v přízemní růžici jsou řapíkaté, dlouhé 3 cm, jejich čepel má obvejčitý tvar, je přibližně 0,5-2 x 0,4-1,5 cm velká, našedlá, dužnatá, holá nebo řídce ochlupená s jednoduchými až krátce rozvětvenými trichomy. Okraj je celistvý až zubatý. Listy vyrůstající na stonku jsou podobné bazálním, někdy jsou větší. Květy levandulové až purpurové. V jednom semeníku je obsaženo okolo padesáti vajíček. Tvoří podlouhlé šešule, semena jsou také podlouhlá, bez křidélek. Děložní lístky jsou přisedlé.

Rozšířena je v Chorvatsku, roste na kamenitých substrátech a ve skalních puklinách.

Svou morfologií se velmi podobá druhu *A. arenosa*, nelze vyloučit, že je jejím poddruhem. Počty chromozomů zatím nebyly u tohoto druhu zjištěny (Al-Shehbaz & O’Kane, 2002).

3.4. *A. HALLERI* (Linnaeus) O’Kane & Al-Shehbaz

Vytrvalá bylina tvořící stolony. Dorůstá 10-80 cm, nejběžnější délka se ale pohybuje mezi 20 a 65 cm. Stonky jsou poléhavé, z báze jich vyrůstá i více, jsou jednoduché nebo apikálně

větvené. Na jejich bázi vyrůstají trichomy, vrcholky jsou ale lysé. Listy v přízemní růžici jsou řapíkaté, adaxiálně porostlé trichomy, jejich čepel je oválná až vejčitá, velká 1-9 x 0,5-2-5 cm, se zpeřeným okrajem, který tvoří 1-7 okrouhlých bočních laloků na každé straně. Terminální lalok je podstatně větší než laloky boční. Na stonku vyrůstá několik lístků s krátkými řapíky, čepel spodních listů je vejčitá až oválná nebo kopinatá, velká 0,5-8 x 0,5-3 cm, hrubě zubatá, výjimečně i zvlněná, listy se postupně zmenšují směrem vzhůru. Květy jsou bílé, lila nebo fialové. 14-18 vajíček na semeník. Šešule jsou protáhlé, semena podlouhlá, zploštělá, světle hnědá, bez křídélek (Al-Shehbaz & O’Kane, 2002).

Haploidní chromozomové číslo je pro *A. halleri* $x=8$ (Bomblies & Weigel, 2010). Somatický počet chromozomů je $2n=16$ (Al-Shehbaz & O’Kane, 2002), informace o jiných stupních ploidie dosud nebyly publikovány.

A. halleri je široce rozšířený druh. Ze střední Evropy se dostal do severního Ruska, izolovaná arela je pak známá z Dálného východu (Al-Shehbaz & O’Kane, 2002). Vyznačuje se vysokou tolerancí vůči těžkým kovům (Clauss & Koch, 2006). *A. halleri* je schopen exportovat kovy jako kadmium nebo zinek do listů, které jsou tolerantnější ke koncentraci kovů, než listy např. *A. lyrata* nebo *A. thaliana*. Tato rezistence k těžkým kovům pravděpodobně souvisí s rezistencí i vůči chorobám (stejně obranné geny), což by do jisté míry mohlo působit jako izolační bariéra mezi *A. halleri* a jinými druhy v rodě *Arabidopsis*. Zda tyto lokální adaptace skutečně mohou působit genetické bariéry, ještě není zcela známo (Bomblies & Weigel, 2010).

Je vysoce variabilní co se týče morfologie listů, barvy květů a vývinu stolonů. Jeho tři poddruhy jsou od sebe výrazně odlišené (Al-Shehbaz & O’Kane, 2002).

3.4.1. *A. HALLERI* SUBSP. *GEMMIFERA* (Matsumura) O’Kane & Al-Shehbaz

Rostlina tvořící výhonky, vysoká 40-80 cm, rozvětvená. Bazální listy často lyrovitého tvaru, listy rostoucí nízko na stonku vejčité, zubaté. Květy jsou bílé.

Rozšíření v Rusku na Dálném východě, severovýchodní Číně, Koreji, Japonsku a na Tchaj-wanu. Roste na šterkových nebo travnatých svazích, v lesích, na stinných stanovištích do výšky 2600 m n. m. (Al-Shehbaz & O’Kane, 2002).

3.4.2. *A. HALLERI* SUBSP. *HALLERI*

Byliny s několika rozvětvenými stonky, které dosahují výšky 20-45 cm. Listy v bazální růžici jsou zpeřené s 1-7 bočními laloky na každé straně. Květy jsou bílé nebo vzácně levandulové.

Rozšíření v České republice, Rakousku, Německu, severní a střední Itálii, Polsku, Rumunsku, Slovensku, Chorvatsku, Slovinsku, Švýcarsku a na jižní Ukrajině. Pravděpodobně byl rozšířen i do severní Francie a vyhynul v Belgii.

Roste na horských svazích, okrajích lesů a ve skalních trhlinách ve výšce 600 – 2200 m n. m. (Al-Shehbaz & O’Kane, 2002).

3.4.3. *A. HALLERI* SUBSP. *OVIRENSIS* (Wulfen) O’Kane & Al-Shehbaz

Rostlina s četnými výhonky, vysoká 10-20 cm, apikálně lehce rozvětvená. Bazální listy jsou celistvé se slabě vyvinutými postranními laloky. Spodní stonkové listy mají okrouhlý či vejčitý tvar, okraje jsou většinou celistvé. Květy levandulové nebo fialové.

Rozšíření zatím není dostatečně známé. Udáván je v Albánii, Jugoslávii, Rumunsku, na jihozápadní Ukrajině, Slovensku, v Rakousku, na Slovinsku a v severovýchodní Itálii. Roste na kamenitých svazích a puklinách od 1200 do 2400 m n. m. (Al-Shehbaz & O’Kane, 2002).

3.5. *A. LYRATA* (Linnaeus) O’Kane & Al-Shehbaz

Dvouletá či vytrvalá rostlina se stolony, vysoká 5-45 cm. Stonek je vzpřímený nebo poléhavý, z báze jich může vyrůstat i více, jsou větvené, na bázi porostlé trichomy, apikálně holé. Listy v bazální růžici mají řapíky, obkopynatou nebo vejčitou čepel, velkou 0,5-8 x 0,3-1,5 cm. Adaxiálně jsou porostlé trichomy, vzácně lysé. Okraj může být celistvý, zubatý, lyrovitý nebo i zpeřený s 1-3 laloky na každé straně. Listy na stonku jsou krátce řapíkaté, v nejvyšší části přisedlé, jejich čepel je obkopynatá s celistvým, zvlňeným nebo hrubě zubatým okrajem. Spodní listy jsou vzácně laločnaté, postupně se zmenšují směrem nahoru. Květy jsou bílé, vzácně levandulové až fialové. V semeníku najdeme 20-36 vajíček. Tvoří podlouhlé zploštělé šesule, semena jsou také podlouhlá a zploštělá, světle hnědá, bez křídélek.

Jedná se o cirkumboreální druh rozdělený do tří poddruhů, které lze jen těžko rozeznat především v lokalitách, kde se jejich areály výskytu překrývají (Al-Shehbaz & O’Kane, 2002).

Haploidní chromozomové číslo je pro *A. lyrata* $x=8$ (Bomblies & Weigel, 2010). Somatický počet chromozomů je $2n=16$ nebo 32 (Al-Shehbaz & O’Kane, 2002).

Čistě diploidní populace se u druhu *A. lyrata* nachází pouze u poddruhů *A. lyrata* subsp. *lyrata* a *A. lyrata* subsp. *petraea*. Stabilní tetraploidní jedinci byli nalezeni u *A. lyrata* subsp. *petraea* a *A. lyrata* subsp. *kamchatica*. Je možné, že se jedná o alopolyploidy vzniklé hybridizací druhů *A. arenosa* a *A. halleri* (Clauss & Koch, 2006).

3.5.1. *A. LYRATA* SUBSP. *KAMCHATICA* (Fischer ex de Candolle) O’Kane & Al-Shehbaz

Vytrvalá rostlina s přímým, vzácně rozvětveným stonkem. Bazální listy jsou lyrovitě zpeřené, řapíky lysé nebo velmi vzácně řídkce porostlé trichomy. Laterální laloky jsou výrazně menší než lalok terminální.

U tohoto poddruhu je somatický počet chromozomů $2n=32$ (Al-Shehbaz & O’Kane, 2002). Novější studie ukazují, že se pravděpodobně jedná o alotetraploidní hybridní druh vzniklý křížením diploidních zástupců druhů *A. lyrata* a *A. halleri* (Shimizu et al. 2009).

Rozšířen je v boreálním pásmu Aljašky, v Kanadě (Yukon, Mackenzie, Britská Kolumbie), na východní Sibiři, na dálném východě Ruska, v Koreji, severní Číně, Japonsku a na Tchaj-wanu.

Roste na štěrkovitých svazích, v lesích, alpínských oblastech, u silnic i v zátopových oblastech do výšky 3500 m n. m. Ruské populace subsp. *kamchatica* rostou blíže k moři než populace *A. lyrata* subsp. *petraea*, která je více kontinentálním taxonem. Rostliny poddruhu *A. lyrata* subsp. *kamchatica* rostoucí v písčítých přímořských lokalitách mají tendenci k tvorbě masivních listů a morfologicky jsou téměř nerozeznatelné od japonské *Arabis kawasakiana* (Al-Shehbaz & O’Kane, 2002).

Tento poddruh je dnes již chápán jako samostatný druh *A. kamchatica* (Shimizu et al., 2005)

3.5.2. *A. LYRATA* SUBSP. *LYRATA*

Tento druh má drobný, vzácně rozvětvený stonek, bazální lístky jsou lyrovitě zpeřené s 1-5 laloky na každé straně (terminální lalok je výrazně větší než laloky boční), okraje listů jsou celistvé nebo zubaté, řapíky chlupaté.

Rozšířen v severovýchodní evropské části Ruska, na Aljašce, v Kanadě (Ontario), na jihovýchodě a ve středu USA.

Roste na útesech a vápencových římsách, ve skalních trhlinách, na písčitých půdách, v řídkých lesích a na březích řek do výšky 2200 m n. m. (Al-Shehbaz & O’Kane, 2002).

3.5.3. *A. LYRATA* SUBSP. *PETRAEA* (Linnaeus) O’Kane & Al-Shehbaz

Vytrvalá bylina se silným stonkem, který je obvykle lehce rozvětvený. Bazální listy mají celistvé i zubaté, zřídka lyrovité okraje. Jejich řapíky jsou lysé nebo i s trichomy.

Rozšířena je na Islandu, v Norsku, Švédsku, Skotsku, Anglii, Irsku, Německu, Polsku (zde ale již zřejmě vyhynula), České republice, Rakousku, severní Itálii, Maďarsku, na Ukrajině, v Rusku (severozápad, Sibiř, Dálný východ), v boreálním pásmu Severní Ameriky (Aljaška a Yukon).

Roste na kamenitých a štěrkovitých podkladech, na písčitých březích řek a tundrových svazích do výšky 2000 m n. m.

Taxon je podobný poddruhu *A. lyrata* subsp. *kamchatica*, mnohé populace jsou jen velmi nejistě přiřazeny do jednoho nebo druhého taxonu (Al-Shehbaz & O’Kane, 2002).

3.6. *A. NEGLECTA* (Schultes) O’Kane & Al-Shehbaz

Vytrvalá bylina vysoká 5-15 cm. Stonek je vzpřímený, lehce větvený, bez trichomů. Listy v přízemní růžici mají až 2cm dlouhé řapíky, jejich čepel je obvejčitá nebo obkopinatá, dužnatá, široká 0,5-2 x 0,3-1 cm. Stejně jako stonek jsou i listy holé nebo s řídce rostoucími vidlicovitými trichomy. Jejich okraj je téměř celistvý až zpeřený s malými postranními laloky. Na stonku vyrůstá 3-6 lístků s krátkým řapíkem a vejčitou či obkopinatou čepelí. I tyto listy jsou většinou hladké. Tento druh má větší fialové květy. V semeníku se nachází cca 30 vajíček. Šešule jsou podlouhlé, semena také podlouhlá, světle hnědá, bez křídélek. Děložní lístky jsou přisedlé.

Haploidní chromozomové číslo je pro *A. neglecta* $x=8$ (Bomblies & Weigel, 2010). Somatický počet chromozomů je $2n=16$ nebo 32 (Al-Shehbaz & O’Kane, 2002), druh je tedy diploidní nebo tetraploidní.

Rozšířena je v polských, rumunských, slovenských a ukrajinských Karpatech. Roste na horských svazích a okrajích lesů od 1200 do 2660 m n. m (Al-Shehbaz & O’Kane, 2002).

3.7. *A. PEDEMONTANA* (Boissier) O’Kane & Al-Shehbaz

Vytrvalá rostlina vysoká 10-30 cm. Stonek má vzpřímený, jednoduchý i větvený, listy v přízemní růžici s řapíkem. Čepel listů je kruhová až široce vejčitá či srdčitá, holá nebo velmi vzácně řídce ochlupená. Okraj je celistvý nebo s několika hrubými nepravidelně rozmístěnými zuby. Na stonku vyrůstá 3-6 listů, které jsou menší než listy bazální, řapíkaté, široce vejčité, vrchní přisedlé, kopinaté, postupně se zmenšující směrem k vrcholu. Květy jsou bílé. Semeník obsahuje 20-30 vajíček. Šešule jsou protáhlé, semena červenohnědá se širokými křídélky. Děložní lístky jsou přisedlé.

Rozšířena je v severozápadní Itálii. Dříve se vyskytovala i v jihozápadním Švýcarsku, kde ale už pravděpodobně vyhynula.

Roste na horských svazích a okrajích lesů.

Tento druh je morfologicky podobný *A. cebennensis*, ale bývá menšího vzrůstu a méně porostlý trichomy. Chromozomy zatím nebyly studovány a o jeho morfologických variacích je zatím známo málo (Al-Shehbaz & O’Kane, 2002).

3.8. *A. SUECICA* (Fries) Norrlin

Jednoletá rostlina vysoká 10-45 cm se vzpřímenými stonky, které se nahoře větví. Stonek je porostlý trichomy, apikálně lysý. Listy v přízemní růžici jsou dlouhé 0,6 – 2 cm, obvejčité až obkopinaté, porostlé trichomy. Na stonku vyrůstá 3-8 krátce řapíkatých kopinatých listů, nejvyšší listy mohou být i přisedlé. Listy rostoucí níže na stonku mají zubatý okraj, horní listy celistvý. Květy jsou bílé až levandulové, v semeníku nalezneme 40-70 vajíček. Tvoří rovné šešule s podlouhlými světle hnědočervenými semeny.

Haploidní chromozomové číslo je pro *A. suecica* $x=13$ (Bomblies & Weigel, 2010). Somatický počet chromozomů je $2n=26$ (Al-Shehbaz & O’Kane, 2002). Jedná se o alotetraploida (resp. amfidiploida) vzniklého křížením druhů *A. arenosa* a *A. thalina* (O’Kane et al., 1996). Tímto způsobem může být opakovaně vytvořen i v laboratoři (Bomblies &

Weigel, 2010). V přírodě vznikl pravděpodobně v posledním glaciálním maximu (Al-Shehbaz & O’Kane, 2002).

Tento druh je rozšířen ve Fennoskandinávii a baltské oblasti, původní oblastí jeho rozšíření je ale zřejmě Finsko.

Vyskytuje se především na polích, svazích, vlhkých lesních okrajích i travnatých plochách a to téměř od úrovně hladiny moře do 600 m n. m. (Al-Shehbaz & O’Kane, 2002).

3.9. *A. THALIANA* (Linnaeus) Heynhold

Tento druh má poměrně malý genom a rychlý životní cyklus a je snadné jej pěstovat, proto se stal nejdůležitější modelovou rostlinou a existuje o něm desetitisíce studií, jejichž převážná část se zabývá zejména genetickým a genomickým výzkumem tohoto druhu.

Jedná se o jednoletou rostlinu vysokou přibližně 5-30 cm. Stonek je porostlý trichomy, apikálně lysý. Listy v přízemní růžici řapíkatých listů jsou eliptické až vejčité, s řapíkem, celistvé i zubaté. Listy na stonku jsou kopinaté a přisedlé. Jsou menší a je jich méně než v růžici. Květy jsou bílé. V jednom semeníku se nachází 40-70 vajíček. Po oplození tvoří rovné hladké šešule, které obsahují elipsovité světle červenohnědá semena, dlouhá 0,3 – 0,5 mm.

Haploidní chromozomové číslo je pro *A. thaliana* $x=5$ (Bomblies & Weigel, 2010). Somatický počet chromozomů je $2n=10$ -tento druh je diploidní (Al-Shehbaz & O’Kane, 2002). Existují ale i zmínky o tetraploidních liniích (Bomblies & Weigel, 2010).

Rozšířen byl původně v celé Evropě až ke střední Asii, ale dnes už se jedná o téměř kosmopolitní druh. Vyskytuje se v celé Evropě kromě Islandu, v Americe, ve velké části Asie, Austrálii, na Novém Zélandě a v přibližně v polovině afrických států (Al-Shehbaz & O’Kane, 2002).

4. REPRODUKČNÍ SYSTÉMY

4.1. OBECNÉ PRINCIPY

U rostlin můžeme najít tři hlavní způsoby rozmnožování: alogamii (cizosprašnost), autogamii (samosprašnost) a nepohlavní rozmnožování, které lze dále rozdělit na apomixii

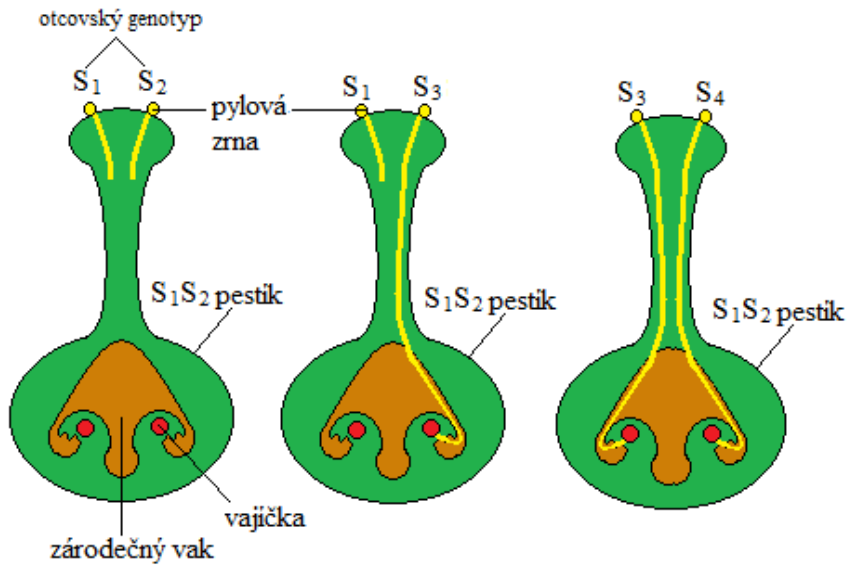
(vývoj semene bez oplození), množení pomocí vegetativních propagulí a prostou fragmentaci (podle Briggs a Walters, 2001).

Autogamie spočívá v oplodnění vajíčka vlastním pylem ať už v rámci jednoho květu či mezi různými květy téže rostliny. Rostlina, která je schopná se opylit sama, nepotřebuje mít ve svém okolí rozmnožovacího partnera – její rozmnožení tedy je zajištěno i za nepříznivých podmínek. Další výhodou autogamie je rychlá segregace letálních a subletálních typů způsobená selekcí na homozygotitu a udržení dobře adaptovaných genotypů (podle Briggs a Walters, 2001). Autogamní rostliny také snáze kolonizují nová území. Podle Bakerova pravidla může na kolonizaci stačit jediná rostlina (Baker, 1967). Nevýhodou je naopak nízká variabilita, patogen či nepříznivé podmínky prostředí pak mohou snadno zahubit celou populaci (Briggs a Walters, 2001). Autogamií také dochází k postupnému snižování fitness. Po zkřížení dvou čistých linií výrazně stoupá fitness hybridů oproti jejich rodičům (Jones, 1924). Autogamie se dobře uplatňuje především v extrémních biotopech nebo při absenci opylovačů (Briggs a Walters, 2001).

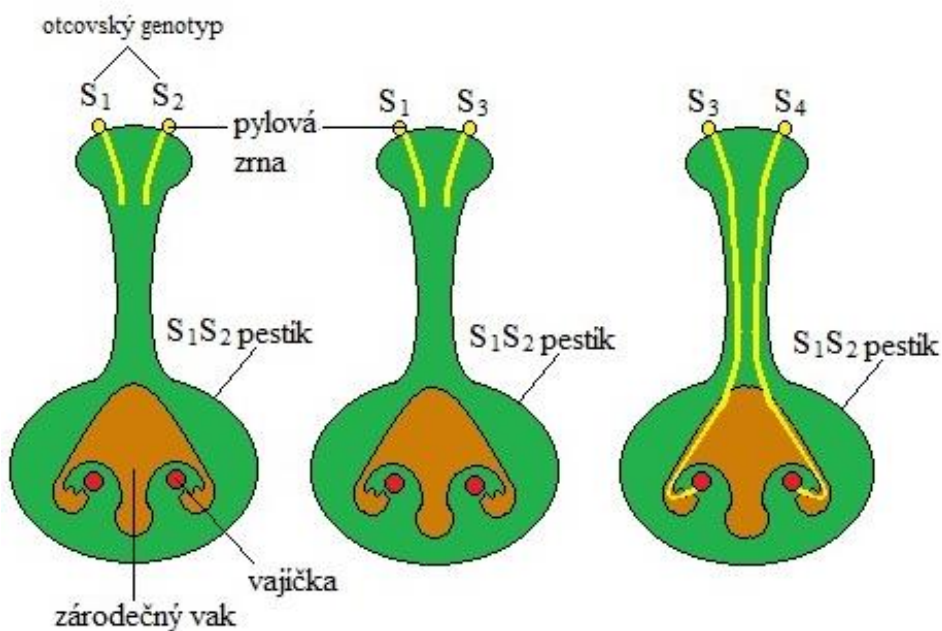
Alogamie neboli cizosprašnost vyžaduje opylení další rostlinou s odlišným genotypem. I přesto je ve většině případů výhodnější než autogamie. Udržuje vyšší variabilitu a tím i plasticitu populace. Většina disturbancí pravděpodobně nebude mít pro alogamickou populaci tak fatální důsledky jako pro populaci rozmnožující se výhradně autogamicky. I alogamie má ale své nevýhody, kterými je především tvorba nových kombinací alel a tím i ztráta osvědčených variant a související genetická zátěž – vyskytne-li se v populaci jedinec s extrémně výhodnými adaptacemi, nemůže je všechny předat svým potomkům, ale musí svůj genom „rozředit“ geny jiné hůře adaptované rostliny (podle Briggs a Walters, 2001).

Některé rostliny využívají kombinace těchto strategií. Např. primárně cizosprašné rostliny, u kterých dojde k opylení vlastním pylem jen v případě, že nejsou během sezony opyleny cizím pylem. U jiných rostlin zase dochází ke kompetici mezi cizím a vlastním pylem po návštěvě opylovačem (podle Briggs a Walters, 2001).

Alogamické rostliny jsou proti opylení vlastním pylem chráněny autoinkompatibilitou. Rozlišujeme dva druhy autoinkompatibility: gametofytickou a sporofytickou. Gametofytická autoinkompatibilita je určena pouze genotypem pylového zrna a blizny, které spolu interagují. Naproti tomu u rostlin se sporofytickou autoinkompatibilitou, mezi které spadá i rod *Arabidopsis*, je na povrchu pylových zrn uložen materiál i z mateřského sporofytu a tak spolu interagují všechny alely rodičovských rostlin. Je-li alespoň jedna z nich shodná, dojde k odmítnutí pylu. (Bombliés & Weigel, 2010). Sporofytická autoinkompatibilita je tedy důslednější a má na způsob rozmnožování větší dopad než gametofytická autoinkompatibilita.



Obr.1. Gametofytická autoinkompatibilita (podle Briggs a Walters, 2001, upraveno)



Obr.2. Sporofytická autoinkompatibilita (podle Briggs a Walters, 2001, upraveno)

Autoinkompatibilita je kontrolována polymorfickým S-lokusem složeným ze tří vysoce polymorfních genů. Prvním z těchto genů je gen pro S-receptorovou kinázu (SRK) kódující membránovou kinázu, která určuje specifitu blizny. Druhý je gen pro S-lokusový protein 11 (SP11), také známý jako SCR (S-lokus cysteine-rich protein), kódující malý cysteinový protein, který určuje specifitu pylu. Poslední z nich, S-lokus glykoprotein (SLG), je formou

bliznového proteinu, podobnou extracelulární oblasti SRK (Takayama & Isogai, 2003). Jeho funkce v autoinkompatibilitě zatím nebyla zcela objasněna, ale pravděpodobně slouží jako prostředek ke kumulaci SRK a přispívá ke zrání SRK receptoru (Nasrallah, 2000). Interakce SP11 a SRK indukuje autofosforylaci SRK, která je spouštěčem signální kaskády ústící v odmítnutí vlastního pylu. Tato interakce je základem rozpoznání vlastního pylu (Takayama & Isogai, 2003).

Pravděpodobně velká část rostlinných taxonů (přibližně 60%) je cizosprašných, ale autoinkompatibilních je jen 40% rostlin. Samosprašnost byla zjištěna u cca 9% druhů, zbylé druhy mají smíšené strategie nebo nebyly prozkoumány (Igic & Kohn, 2006).

4.2. REPRODUKČNÍ SYSTÉMY V RODĚ *ARABIDOPSIS*

Do rodu *Arabidopsis* se řadí samosprašné i cizosprašné (entomogamní) rostliny. Rozmnožování v tomto rodě je tedy značně variabilní. Všechny dosud známé způsoby rozmnožování zde ale nenajdeme. Například apomixie zatím nebyla v přirozených podmínkách v rodě *Arabidopsis* zaznamenána. V minulosti se objevila teorie, že by apomixie mohla hrát roli v komplexu *A. halleri*, tenkrát označovaném jako *Cardaminopsis hallerii* (Měsíček, nepublikováno). Tato teorie ale nebyla prokázána. K apomixii by teoreticky mohlo dojít skrze mutantní apomeiotickou samičí gametu, která byla vytvořena při genetických manipulacích (Ravi et al., 2008). Bez umělých zásahů se ale v tomto rodě apomixie s největší pravděpodobností nevyskytuje.

Starší literatura udává, že všechny druhy dříve řazené do rodu *Cardaminopsis* jsou výhradně alogamické a po nuceném inbreedingu je jejich plodnost snížena až nulová nebo dokonce dochází k postembryonálním úhynům (Měsíček, nepublikováno). To ale moderní studie do značné míry vyvrací. Jednotlivé druhy tohoto rodu se ve svých rozmnožovacích systémech liší:

A. thaliana je převážně samosprašný druh, který během evoluce učinil přechod od obligátní cizosprašnosti k upřednostňování samosprašnosti (Bechsgaard et al., 2006). Jak již bylo zmíněno výše, alogamické rostliny se chrání před opylením vlastním pylem mechanismem pylové autoinkompatibility. Je-li ale rostlina autogamická, pak vlastní pyl naopak upřednostňuje. Aby byl pyl odmítnut nebo přijat, musí dojít k jeho druhovému rozpoznání, které se odehrává v několika krocích.

První úroveň probíhá u *A. thaliana* již na povrchu blizny, která přijde do kontaktu s pylem jako první. Blizna reaguje s exinou - vnější vrstvou buněk na pylovém zrnu. Schopnost navázání pylu na voskovitý povrch blizny je úměrná fylogenetické vzdálenosti – u druhu *A. thaliana* přilnou pylová zrna téhož druhu k blizně mnohem efektivněji než zrna jiných druhů. Naproti tomu u alogamických rostlin přilnavost s bližší příbuzností klesá (Bomblies & Weigel, 2010).

Další úroveň rozpoznání nastává během klíčení pylu, když pylová láčka proroste do čnělkové části a je navigována směrem k vajíčkům. Tento proces vyžaduje úzkou interakci mezi mateřským a otcovským jedincem. Druhovú specifitu je zde také zřejmá. Podobně jako při rozpoznávání pylu bliznou, vajíčka *A. thaliana* přitahují pylové láčky téhož druhu lépe než vajíčka jiného druhu – přitažlivost rychle klesá s rostoucí fylogenetickou vzdáleností (Bomblies & Weigel, 2010).

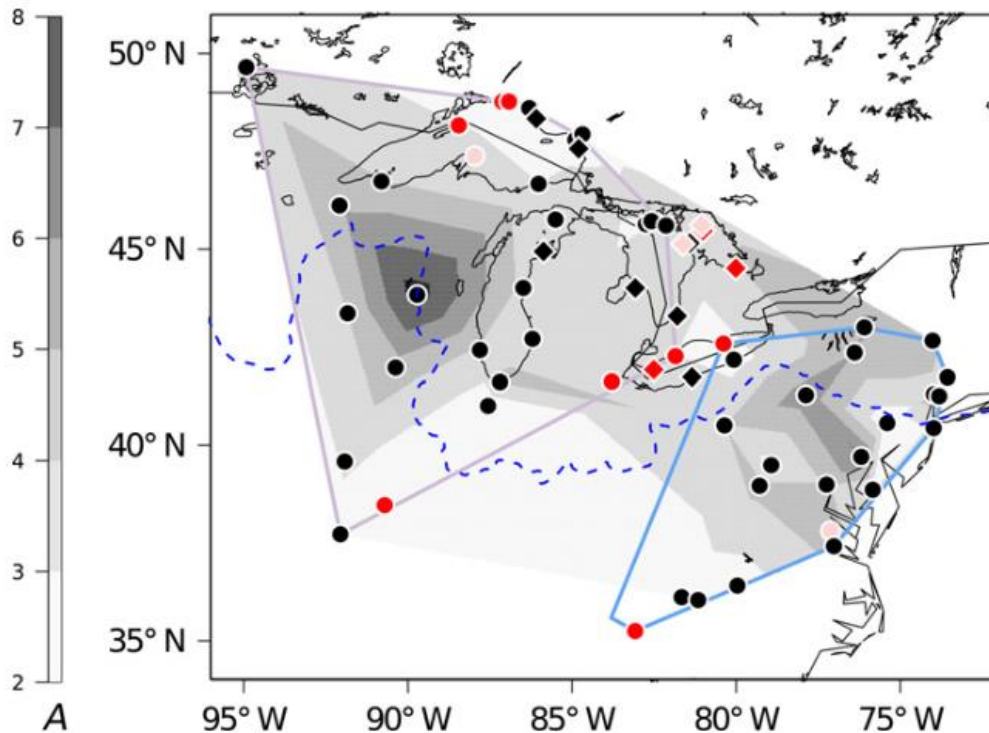
Třetí úroveň je řízena FERONIA (FER) receptorovou kinázou, která zastavuje růst pylové láčky poté, co láčka proroste k vajíčkům. U jedinců *A. thaliana*, kteří měli mutaci rušící činnost této kinázy, se objevovala přerostlost pylové láčky, stejně jako u jedinců, jejichž bliznou prorostl cizí pyl (Bomblies & Weigel, 2010).

FER lokus je také silně diferencovaný mezi některými populacemi druhu *A. lyrata*, což je zřejmě známka lokální adaptace - FER mohl usnadňovat opylování uvnitř populací, takže druhy této populace nepotřebovaly partnera z jiné populace a byly tak úspěšnější než ty, které jej potřebují (Bomblies & Weigel, 2010). Tyto skutečnosti zřejmě sehrály určitou roli při přechodu od cizosprašnosti k samosprašnosti u některých populací druhu *A. lyrata*. I když většina populací je stále autoinkompatibilní, v oblasti Velkých jezer v Severní Americe se vyskytly i téměř zcela autokompatibilní populace (Willi & Mäattänen, 2010). Velké rozdíly v míře autoinkompatibility se vyskytovaly mezi populacemi i v rámci jednotlivých populací. Důležité je, že severoameričtí autokompatibilní jedinci netvořili jednu jasně definovanou skupinu, ale naopak se vyskytovaly v několika genetických skupinách tvořených jinak jedinci autoinkompatibilními. To naznačuje, že samosprašnost se zde buď vyvinula několikrát nezávisle na sobě, nebo se postupně rozšířila do různých genetických pozadí. Jako pravděpodobnější se jeví spíše její opakovaný vznik (Fuxe et al., 2010).

V samosprašných populacích pochopitelně dochází k úbytku diverzity. V případě samosprašných populací *A. lyrata* v Severní Americe je diverzita také redukována, ale ne tak markantně jak by se dalo očekávat v populacích, kde se samosprašnost vyvinula tlakem na zajištění reprodukce v souvislosti se silným působením efektu zakladatele. Rozšíření autokompatibility pravděpodobně bylo v tomto regionu podpořeno působením efektu

zakladatele během kolonizací území uvolněných po ústupu zalednění, případně migrací z Evropy, čímž došlo k redukcí inbrední deprese (Foxe et al., 2010).

O významu postglaciálního období se zmiňují i jiné studie. Griffin & Willi (2014) zjistili, že cizosprašné populace druhu *A. lyrata* v Severní Americe vykazují genetické stopy postglaciálního šíření směrem k severu. Na jihu byl naopak zaznamenán jejich ústup. Potvrzují také hypotézu opakovaného vzniku samosprašnosti. Dějiště této události kladou na okraje areálů, kde byly původní cizosprašné populace malé a s nízkou genetickou diverzitou. Samosprašné populace se nikdy neobjevovaly ve středu těchto původních cizosprašných populací (viz obr.3). Fakt, že se samosprašnost objevovala na geneticky málo variabilních okrajích a ne vprostřed populací, kde byla genetická diverzita vyšší, svědčí pro nízkou efektivní velikost populace jako pro možný evoluční stimul vzniku autokompatibility (Griffin & Willi, 2014).



Obr. 3.: Rozmístění genetické diverzity (kvantifikována jako relativní bohatost alel, *allelic richness*, čím tmavší plocha tím vyšší diverzita) a rozmnožovacích způsobů v rámci populací druhu *Arabidopsis lyrata*. Černě jsou označeny cizosprašné populace; samosprašné populace a populace se smíšeným rozmnožováním jsou vyznačeny červeně a růžově. Čtvercové značky označují data převzatá ze studie Foxe et al., 2010. Modrá přerušovaná linie značí největší dosah zalednění v posledním glaciálním maximu. Fialový a modrý mnohoúhelník vyznačují hranici hlavních dvou generických linií (Griffin & Willi, 2014).

Již tak složitý systém opakovaných vzniků autokompatibility je komplikován polyploidii přítomnou v jiných částech areálu *A. lyrata*. V Japonsku byla zaznamenána tetraploidní populace *A. lyrata* subsp. *kawasakiana* (dnes rozlišována jako poddruh *A. kamchatica* (Shimizu et al., 2005)), která vykazovala plnou autokompatibilitu a produkovala životaschopné potomstvo po nejméně tři generace. To naznačuje, že polyploidie by mohla být nápomocná při přechodu k autokompatibilitě (případně mohl u nově vzniklého polyploida nastat silný selekční tlak na vyvinutí autokompatibility). Naproti tomu jedinci z jiné tetraploidní populace *A. lyrata* subsp. *petraea* v Rakousku byli silně autoinkompatibilní. Polyploidie tedy není zárukou samosprašnosti, ale pravděpodobně může jejím vlivem dojít k přesmyku k autokompatibilitě (Mable et al., 2004).

Dalším příkladem polyploidie spojené s přechodem k autokompatibilitě je alotetraploidní druh *Arabidopsis kamchatica*. Tento druh je hybridním potomkem druhů *A. lyrata* a *A. halleri*, jak bylo prokázáno sekvenováním jaderných genů WER a CHS. *A. kamchatica* je samosprašný druh - na rozdíl od svých rodičovských druhů, převážně autoinkompatibilních diploidů. Bylo zjištěno, že *A. kamchatica* vykazuje nižší genovou diverzitu než její rodičovské druhy, což může reflektovat její přechod k samosprašnosti a efekt hrdla láhve, který umožnil inkorporaci jen omezeného množství rodičovské variability do genomu *A. kamchatica* (Shimizu et al. 2009).

Druh *A. arenosa* je pravděpodobně cizosprašný, pro což svědčí jeho vysoká úroveň genetické diverzity (Schmickl et al. 2012) a také zmínky o neúspěšném samosprašení při pokusech. Konkrétní populace ani jejich ploidie v těchto experimentech bohužel nejsou zmíněny (Clauss & Koch, 2006, Schmickl & Koch, 2011). Jiným možným vysvětlením této variability je hybridizace s druhem *A. lyrata* (Koch & Matschinger, 2007). Nicméně i v případě, že by diverzita druhu *A. arenosa* byla zapříčiněna křížením s *A. lyrata*, je zřejmé, že alespoň některé populace tohoto druhu musí být schopné alogamického rozmnožování.

Rozmnožovací systémy tohoto rodu jsou tedy značně komplikované, velmi variabilní na úrovni druhů i jednotlivých populací a stále zde panuje mnoho nejasností, které teprve bude potřeba objasnit.

5. HYBRIDIZACE

Mezidruhovou hybridizací se obecně rozumí křížení dvou různých druhů, které jsou sice vzájemně geneticky odlišné a izolované od rodičovského genofondu, avšak reprodukční bariéra mezi nimi je stále neúplná (Schmickl & Koch, 2011). V rodě *Arabidopsis* je hybridizace velmi častá (Schmickl & Koch, 2011). Životaschopné potomstvo může v tomto rodě vzniknout téměř jakýmkoliv křížením, ačkoli některé zdroje uvádějí, že rozdíly v počtech chromozomů mezi jednotlivými druhy mohou mít za následek sníženou fertilitu F1 hybridů (Bombliès & Weigel, 2010). Jiné studie ale uvádějí, že mezi druhy (s částečnou výjimkou homoploidních taxonů komplexu *A. arenosa*) ani mezi heteroploidními vnitrodruhovými jednotkami nedochází ke zcela volné genové výměně (Měsíček, nepublikováno). Většina výše zmíněných studií však vychází z pokusných hybridizací kombinujících i druhy, které se v přírodě nesetkávají. Jako silná reprodukční bariéra v rodě *Arabidopsis* tak může působit právě geografická separace a odlišné ekologické niky (např. Hoffmann, 2005)

U *A. arenosa*, jak již bylo zmíněno výše, se obvykle vyskytují dva cytotypy: diploidní a tetraploidní. Byly zachyceny i triploidní rostliny, ale vždy jako jeden jedinec v čistě diploidní populaci (Kolář et al., manuskript). Meziploidní kříženci tedy zatím nebyli prokázáni.

Co se týče mezidruhové hybridizace, dobře doloženým příkladem hybridizace spojené se speciací je *A. suecica*, která vznikla křížením druhů *A. arenosa* a *A. thaliana* (O’Kane et al., 1996, Jakobsson et al. 2006). Mezidruhoví hybridi i hybridi mezi ploidiemi mají však sníženou fitness a často tato křížení vedou k abortovaným semenům (Bombliès & Weigel, 2010). V některých případech umělé křížení *A. thaliana* a tetraploidní *A. arenosa* subsp. *arenosa* (resp. *Cardaminopsis arenosa* (L.) subsp. *arenosa*) bylo zcela neúspěšné (Měsíček, 1967). Existuje studie, která dokonce tvrdí, že *A. suecica* je spíše potomkem *A. neglecta* než *A. arenosa* (Beck, 2007).

Jedinci komplexu *A. arenosa* a druhu *A. neglecta* mezi sebou pravděpodobně hybridizují, i když zřejmě pouze jedinci téže ploidie. Diploidní *A. neglecta* ($2n=16$) byla neúspěšně křížena s tetraploidní *A. arenosa*. Úspěšně byla naopak křížena s dnes již nerozlišovaným (a dosud řádně nepopsaným) druhem z komplexu *A. arenosa* - *Cardaminopsis carpatica* – z tohoto křížení vznikla fertiltní semena a následně rostliny s počtem chromozomů $2n=16$ (Měsíček, 1970).

Hybridizace se pravděpodobně uplatnila i při vzniku tetraploidních populací v rámci taxonu *A. lyrata* subsp. *petraea* a tetraploidního druhu *A. kamchatica* (dříve označovaného jako *A. lyrata* subsp. *kamchatica*). Clauss & Koch (2006) předpokládají, že jde o alotetraploidní hybridy. Tetraploidní populace *A. lyrata* subsp. *petraea* pravděpodobně vznikly křížením diploidních populací *A. lyrata* subsp. *petraea* s tetraploidy z okruhu *A. arenosa* (Clauss & Koch, 2006). Ve východní části rakouských Alp se areály obou druhů překrývají a mezi těmito skupinami dochází ke genovému toku (prokázanému pomocí sekvencí plastidové DNA a jaderných mikrosatelitů), který pravděpodobně dal vznik tetraploidním populacím *A. lyrata* (Schmickl & Koch, 2011). Druhý alotetraploidní taxon *A. lyrata* subsp. *kamchatica* je výsledkem hybridizace druhů *A. lyrata* a *A. halleri* subsp. *gemmifera* (Clauss & Koch, 2006). Hybridní původ tohoto druhu byl potvrzen molekulárními metodami za použití sekvencí plastidové DNA, ITS a homologických párů jaderných genů. (Shimizu et al. 2009).

U druhu *A. thaliana* jsou v pokusných podmínkách známa vnitrodruhová křížení mezi různými ploidiemi, která mohou dát vznik částečně fertlním triploidním či aneuploidním jedincům. *A. thaliana* je možno uměle zkřížit i s jinými druhy, jako jsou *A. lyrata* nebo *A. arenosa* (Bomblies & Weigel, 2010; Měsíček, 1967). *A. lyrata* subsp. *petraea* byla s *A. thaliana* úspěšně křížena také při pokusech ke zjištění cest ke vzniku polyploidie u *A. thaliana*. V tomto případě se potomci v F1 generaci podobali spíše druhu *A. lyrata* (Beaulieu et al., 2009). Další studie zabývající se křížením druhů *A. thaliana* a *A. lyrata* tvrdí, že jejich potomci v F1 generaci a hybridi vzniklí jejich prvním zpětným křížením mají sterilní pyl, ale produkují funkční vajíčka. Prostřednictvím těchto vajíček je možné uskutečnit další zpětná křížení. Morfogeneze prašníků při křížení F1 hybridů s *A. lyrata* je vážně narušená, ale při zpětném křížení hybridů s *A. thaliana* se prašníky vyvíjí normálně. Zřejmě proto, že cytoplasma *A. thaliana* se od oddělení těchto dvou druhů výrazně odlišila a stala se víceméně inkompatibilní s jadernými geny druhu *A. lyrata*. Nenormální vývoj tyčinek pozorovaný u většiny rostlin, které byly zpětně kříženy s *A. lyrata*, může reflektovat nerovnováhu způsobenou zvýšeným zastoupením jaderného genomu *A. lyrata* v cytoplazmě *A. thaliana* (Nasrallah et al., 2000). Sterilitu hybridů mezi *A. thaliana* a *A. lyrata* (konkrétně *A. lyrata* subsp. *petraea*) potvrzují i jiná experimentální křížení (Měsíček, 1967).

Nasrallah et al. (2000) uvádějí podstatný poznatek, že na jinak pylově sterilních hybridech druhů *A. thaliana* a *A. lyrata* se mohou objevit fertlní šesule i v případě izolace rostliny. To lze vysvětlit tím, že došlo ke zdvojení somatických chromozomů, které vedlo k

produkcí pylu, jež dal vznik amfidiploidním jedincům. Amfidiploidní jedinci mohou vzniknout následkem neredukování gamet nebo somatického zdvojení chromozomů a vykazují vyšší potenciál pro druhovou diverzifikaci.

Crossing-over mezi homologními segmenty genomů těchto dvou druhů nebyl zjištěn, v tomto případě se patrně vyskytuje v abnormálně nízké frekvenci (Nasrallah et al., 2000).

Druh *A. thaliana* je možné křížit i s druhy spadajícími do jiných příbuzných rodů. Například s druhem *Olimarabidopsis pumila*, který byl v minulosti řazen do rodu *Arabidopsis*. Při křížících pokusech prorůstaly pylové láčky druhu *A. thaliana* čnělkou rostliny *Olimarabidopsis pumila* stejně rychle jako láčky jedinců stejného druhu, zpomalení bylo zaznamenáno až ve chvíli, kdy láčky dorazily k vajíčkům a prorůstaly skrz mikropyle. Semena vznikala přibližně ze 45 % těchto křížení (Berger, 1966).

6. MOŽNOSTI EXPERIMENTÁLNÍHO STUDIA

Tato kapitola shrnuje příklady studií využívajících metody, které pravděpodobně budou použity při pokusech k navazující diplomové práci.

Možnosti alogamie či hybridizace můžeme zjišťovat přenosem pylu mezi jednotlivými květy různých rostlin. Hybridizační experimenty prováděl např. Clausen (1951) s poddruhy *Layia glandulosa*. Prokázal, že křížením různých poddruhů je možné odhalit reprodukční zábrany mezi nimi. Pokud jsou tyto zábrany jen částečné, lze je odhalit opakovaným křížením. Potomstvo je po několika generacích mnohem méně vitální než původní rodičovské rostliny nebo životaschopné potomstvo nevzniká vůbec. Hybridizační experimenty ale mohou být zavádějící, protože jsou často prováděny s malým počtem jedinců a generací (podle Briggs a Walters, 2001).

Křížící pokusy prováděl i Paterniani (1969), který pracoval se *Zea mays*. Křížil dvě odrůdy: jednu s bílými rohovitými obilkami podmíněnými genotypem *yy SuSu* a jednu se žlutými sladkými obilkami určenou alelami *YY susu*. Pro každou odrůdu tak charakterizoval jeden dominantní a jeden recesivní znak. Po křížení se v palicích potomků objevovaly oba znaky (v palicích bělozrného žluté obilky a naopak). Tyto projevy je možné pozorovat již ve vyvíjejících se palicích – intenzitu hybridizace (resp. stupeň cizosprašnosti) je tedy možné odečíst poměrně rychle (podle Briggs a Walters, 2001).

V případě rodu *Arabidopsis* byly obdobné experimenty prováděny na druhu *A. lyrata*, ke zjištění dědičnosti autoinkompatibility. Konkrétně byli kříženi jedinci, kteří vykazovali

vysokou míru autoinkompatibility s jedinci s vyšším stupněm autokompatibility (Mable et al., 2004).

V některých případech je potřeba květy kastrovat. G. Turesson, který tuto metodu používal, pracoval s druhem *H. umbellatum* tvořícím květenství (úbery). Svrchní části nerozvinutých úborů byly odříznuty žiletkou. I když do té doby byla v tomto rodu předpokládána apomixie, žádné nažky nevznikly a tím bylo prokázáno, že tento druh se rozmnožuje sexuálně. Tyto pokusy pak v roce 1962 zopakoval B. Lövkist (podle Briggs a Walters, 2001).

Rod *Arabidopsis* tvoří hroznovitá květenství, proto zde bude potřeba tyčinky z květů odstraňovat jednotlivě. Kastrace nemusí být uplatněna jen při ověřování apomixie, ale i v případech, chceme-li zjistit míru cizosprašnosti. V tomto případě musí být tyčinky odstraněny, aby bylo zabráněno kontaminaci vlastním pylem, který by u samosprašných rostlin ovlivňoval výsledek pokusu.

Lze předpokládat, že takovéto pokusy využívající křížení, kastraci, izolaci květů a podobné metody prováděl s největší pravděpodobností i Měsíček. Bohužel v jeho článku (1970), který je pro toto téma stěžejní, metodika není popsána. Tento problém se bohužel netýká pouze jednoho článku. Schmickl & Koch (2011) udávají, že prováděli experimenty se samosprašením a vzájemným cizosprašením mezi populacemi *A. arenosa*, přesný popis metodiky těchto pokusů však chybí.

Chceme-li porovnat výhodnost autogamie a alogamie v určitém druhu, můžeme tak provést pomocí porovnání různých měřítek fitness rostlin vyrostlých ze semen získaných cizosprašením a semen získaných samosprašením. Těmito měřítky může být např. výška rostlin, množství květů, semen, plodů atp. Tento experiment prováděl již Darwin s druhem *Zea mays* (Briggs a Walters, 2001). Se *Zea mays* pracoval i Jones (1920), který křížením čistých linií prokázal existenci heterózního efektu. Tento experiment také potvrzuje nevýhody dlouhodobého autogamického rozmnožování (Jones, 1924). Pokles fitness při dlouhodobé autogamii prokázal také Gottlieb (1981), když zkoumal enzymovou variabilitu samosprašných a cizosprašných druhů (Briggs a Walters, 2001).

Tento experiment využíval i tým Foxe et al. (2010), který pozoroval fenotyp jedinců druhu *A. lyrata* vzniklých samosprašením.

Vznik různých úrovní ploidie lze testovat křížením jedinců téhož druhu s odlišnými stupni ploidie a měřením stupně ploidie jejich potomků. Tyto pokusy využíval Winge na počátku 20. století. Jeho modelovými rostlinami byly diploidní a tetraploidní zástupci druhu *Nicotiana tabacum*. Po jejich zkřížení vznikalo hexaploidní potomstvo. Tím prokázal existenci alopolyploidie v tomto druhu. Dalšími modelovými rostlinami byly diploidní druhy *Raphanus sativus* a *Brassica oleracea*, jejichž zkřížením vznikl tetraploidní druh. V tomto případě se tedy jednalo o autopolyploidii, tedy prosté zdvojení chromozomové sady (podle Briggs a Walters, 2001).

U některých druhů se jisté úrovně ploidie v přírodě vyskytují jen vzácně, většinou se jedná o jedince s lichým stupněm ploidie nebo o vysoké polyploidy (např. *Gymnadenia conopsea* (Trávníček et al., 2012)). Tyto vzácné cytotypy však stále lze vytvořit pokusným zkřížením vhodných rodičů. Podle klíčivosti takto vzniklých semen a viability z nich vzniklých jedinců můžeme odhadnout, jakou roli ve vzácném výskytu meziploidních hybridů hraje omezená produkce a snížená životaschopnost hybridních potomků. V rodě *Arabidopsis* lze meziploidní křížení pozorovat pouze v omezeném počtu případů, nejlépe prozkoumaným druhem je *A. suecica* ($x=13$), který vznikl křížením *A. thaliana* ($x=5$) a *A. arenosa* ($x=8$) a to jak v přírodě, tak i při experimentálním křížení (Bombliés & Weigel, 2010; O’Kane et al., 1996), v přírodních podmínkách se však předpokládá pouze jedna hybridizační událost v historii (Jakobsson et al. 2006). Dalším příkladem meziploidní hybridizace by mohl být triploidní *A. arenosa*, jeho původ však ještě bude potřeba prozkoumat.

7. NAVAZUJÍCÍ PRÁCE

7.1. CÍLE

V navazující práci bych se chtěla zaměřit na taxonomicky a evolučně nejsložitější a nejméně prozkoumaný komplex rodu *Arabidopsis* - *A. arenosa*. Konkrétně na ověření možností způsobů rozmnožování rostlin v tomto druhu a jejich hybridizaci – tedy zjistit, do jaké míry jsou schopné autogamie, které poddruhy či evoluční linie a ploidie se mohou navzájem křížit a jaké vlastnosti budou mít semena a potažmo jedinci vzniklí tímto křížením.

Dalším bodem práce budou pokusy s triploidními rostlinami *A. arenosa*. Tito jedinci jsou v přírodě velmi vzácní, ale v laboratorních experimentech není problém získat triploidní semena a dokonce je nechat vyklíčit. Proto bych ráda zjistila, jaká je evoluční síla působící ve

volné přírodě proti nim – v jaké fázi vývoje se tato selekce projevuje nejsilněji a jakým způsobem působí.

7.2. MATERIÁL A METODIKA

Práce je součástí projektu Grantové agentury ČR, probíhajícího již dva roky. Proto jsou k dispozici semena *A. arenosa* agg. z různých částí evropského areálu z předchozích dvou sezón. Konkrétní navštívené lokality zobrazuje obr.3. Pokud zde byl sebrán pouze materiál na DNA analýzy či semena nejsou životaschopná, bude v letošním roce lokalita navštívena znovu a další semena pro účely diplomové práce zde budou dosbírána.

Při autogamických pokusech budou jednotlivá květenství izolována pomocí sáčků z monofilu. Každé květenství budou překrývat dvě vrstvy, aby se tak zabránilo případnému přenosu pylu hmyzem, který by mohl nastat v případě, kdy by byl květ izolován pouze jednou vrstvou a této vrstvy se dotýkal.

Pokusy ke zjištění cizosprašnosti budou prováděny řízeným přenosem pylu mezi květy a izolací takto opylených květů. Aby se zabránilo samosprašení a tím ovlivnění výsledků, budou z takto zkoumaných květů odstraněny tyčinky. Vzniklá semena budou následně měřena cytometrickým screeningem. Metoda průtokové cytometrie je již pro *Arabidopsis arenosa* vyzkoušena a úspěšně optimalizována a ukázala se být ideálním prostředkem k určení ploidie rodičovských rostlin i vzniklých semen a semenáčků.

Selekce působící proti triploidním jedincům *A. arenosa* bude zjišťována pomocí klíčících pokusů. Část semen bude podrobena cytometrickému screeningu k odhadnutí proporcí jednotlivých ploidii v potomstvu (analýza semen je bohužel destruktivní), další část bude vyseta a průběžně cytometricky zkoumána (analýza větších jedinců již destruktivní není – stačí část pletiva), aby bylo odhaleno, v jakých stádiích vývoje nastává úbytek triploidních jedinců a jak je tento úbytek silný.



- Tetraploidní jedinci
- Diploidní jedinci
- Triploidní jedinci
- Aneuploidní jedinci
- Nezměřeni jedinci

Obr. 4. Mapa navštívených lokalit *A. arenosa* agg. v Evropě (podle Kolář et al., manuskript, upraveno)

8. ZÁVĚR

Tato bakalářská práce přináší literární přehled dosud publikovaných a částečně i nepublikovaných často si protirečících prací o rozmnožovacích systémech a možnostech hybridizace v rodě *Arabidopsis*. V tomto rodě dochází k častým hybridizacím a polyploidizacím, což jej především z hlediska taxonomie značně komplikuje. Ve většině více rozšířených druhů se vyskytují alespoň dva cytotypy. Velká část druhů v tomto rodě ale ještě nebyla dostatečně cytologicky zkoumána průzkumem v přírodních populacích. Většina studií

týkající se rodu *Arabidopsis* se zaměřuje na *A. thaliana* a její využití jako modelového organismu. Ostatní druhy jsou často opomíjeny nebo jsou o nich uváděny mylně zažité informace. Poznání tohoto rodu má tedy spoustu rezerv. Především v komplexu *A. arenosa* narážíme stále ještě na mnoho nejasností, například co se týče jeho taxonomie či ploidní a genetické variability. Nejméně informací však máme ohledně proměnlivosti ve způsobu rozmnožování u populací tohoto komplexu, přičemž zcela chybí jakékoliv experimentální zhodnocení provedené na širším výběru populací napříč areálem komplexu a jednotlivých cytotypů.

Tato práce by měla posloužit jako teoretický základ k navazující diplomové práci, ve které budou experimentálně ověřeny reprodukční způsoby a možnosti hybridizace ve skupině *A. arenosa*.

9. LITERATURA

Al-Shehbaz, I.A., & O’Kane, S.L. Jr. 2002. Taxonomy and Phylogeny of *Arabidopsis* (Brassicaceae). The *Arabidopsis* Book. American Society of Plant Biologists

Al-Shehbaz, Ihsan. 2003. Brassicaceae of the World: Descriptions, Illustrations, Identification, and Information Retrieval.

Version: 2003. <http://flora.huh.harvard.edu/Brassicaceae/>

Baker, H. G. 1967. Support for Baker's law-as a rule. *Evolution* 21: 853-856

Beaulieu, J. et al. 2009. The allotetraploid *Arabidopsis thaliana*–*Arabidopsis lyrata* subsp. *petraea* as an alternative model system for the study of polyploidy in plants. *Molecular Genetics and Genomics* 281: 421–435

Beck, J.B. et al. 2007. Further insights into the phylogeny of *Arabidopsis* (Brassicaceae) from nuclear *Atmyb2* flanking sequence. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 42: 122–130

Bechsgaard, J. S., et al. 2006. The transition to self-compatibility in *Arabidopsis thaliana* and evolution within S-haplotypes over 10 Myr. *Molecular Biology and Evolution* 23: 1741–1750

Berger, B. 1966. Pollen tube growth in intra- and interspecific combinations. The *Arabidopsis* information resource 03.

Bomblies, K., Weigel, D. 2010. *Arabidopsis* and relatives as models for the study of genetic and genomic incompatibilities. Review. *Philosophical Transactions of the Royal Society B – Biological sciences* 365: 1815–1823

Briggs, D., Walters, S. M. 2001. Proměnlivost a evoluce rostlin. Univerzita Palackého v Olomouci – 1. české vydání

Clauss, M.J., & Koch M.A. 2006. Poorly known relatives of *Arabidopsis thaliana*. Review. *TRENDS in Plant Science* 11: 449-459

Drescher W., Kranz A.R. 1987. First evidence for entomogamous hybridization in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. The *Arabidopsis* information resource 23.

Foxe J.P. et al. 2010. Reconstructing origins of loss of self-incompatibility and selfing in north american *Arabidopsis lyrata*: a population genetic context. *Evolution* 64-12: 3495–3510

Griffin, P.C. & Willi, Y. 2014. Evolutionary shifts to self-fertilisation restricted to geographic range margins in North American *Arabidopsis lyrata*. *Ecology Letters* 17: 484–4

Hoffmann M. H. 2005. Evolution of the realized climatic niche in the genus: *Arabidopsis* (brassicaceae). *Evolution* 59: 1425–1436

Igic, B., & Kohn J. R. 2006. The distribution of plant mating systems: study bias against obligately outcrossing species. *Evolution* 60: 1098-1103

Jakobsson, M. et al. 2006. A Unique Recent Origin of the Allotetraploid Species *Arabidopsis suecica*: Evidence from Nuclear DNA Markers. *Molecular Biology and Evolution* 23: 1217-1231

Jones, D.F. 1924. The attainment of homozygosity in inbred strains of maize. *Genetics* 9: 405–418

Koch, M. A. & Matschinger, M. 2007. Evolution and genetic differentiation among relatives of *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104: 6272– 6277

Kolář, F. et al. Manuskript. Cytogeography of the *Arabidopsis arenosa* group (Brassicaceae): cytotype contact zones, incidence of odd ploidy levels, and intra-population ploidy variation in the neglected member of plant model genus.

Kusaba, M. et al. 2001. Self-Incompatibility in the Genus *Arabidopsis*: Characterization of the S Locus in the Outcrossing *A. lyrata* and Its Autogamous Relative *A. thaliana*. *The Plant Cell* 13: 627–643

Mable, B. K. et al. 2004. Inheritance and dominance of self-incompatibility alleles in polyploid *Arabidopsis lyrata*. *Heredity* 93: 476–486

Měsíček, J. 1967. The chromosome morphology of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. and some remarks on the problem of *Hylandra suecica* (Fr.) Löve. *Folia Geobotanica et Phytotaxonomica* 2: 433-436

Měsíček, J. 1970. Chromosome Counts in *Cardaminopsis arenosa* Agg. (Cruciferae). *Preslia* 42: 225-248

Měsíček, J. Nepublikováno. Biosystematická studie československých druhů rodu *Cardaminopsis* (C: A. Meyer) Hayek

Nasrallah, M.E. et al. 2000. *Arabidopsis* Species Hybrids in the Study of Species Differences and Evolution of Amphiploidy in Plants. *Plant Physiology* 124: 1605–1614.

Nasrallah, J.B. 2000. Cell–cell signaling in the self-incompatibility response. *Current Opinion in Plant Biology* 3: 368–373

O’Kane, S.L., et al. 1996. The Origins of *Arabidopsis suecica* (Brassicaceae) as Indicated by Nuclear rDNA Sequences. *Systematic Botany* 21: 559-566

Ravi, M., et al. 2008. Gamete formation without meiosis in *Arabidopsis*. *Nature* 451: 1121-1125

Shimizu, K. K. et al. 2005. *Arabidopsis kamchatica* (Fisch. ex DC.) K. Shimizu & Kudoh and *A. kamchatica* subsp. *kawasakiana* (Makino) K. Shimizu & Kudoh, New Combinations. *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica* 56: 163-172

Shimizu-Inatsugi R. et al. 2009. The allopolyploid *Arabidopsis kamchatica* originated from multiple individuals of *Arabidopsis lyrata* and *Arabidopsis halleri*. *Molecular ecology* 18: 4024–4048

Schmickl, R., & Koch M. A. 2011. Arabidopsis hybrid speciation processes. Centre for Organismal Studies Heidelberg, Department of Biodiversity and Plant Systematics, University of Heidelberg, D-69120 Heidelberg, Germany

Schmickl R., et al. 2012. The Evolutionary History of the *Arabidopsis arenosa* Complex: Diverse Tetraploids Mask the Western Carpathian Center of Species and Genetic Diversity. PLoS ONE 7: e42691

Stebbins G.L. 1940. The significance of polyploidy in plant evolution. The American Naturalist 74:54–66

Takayama S., & Isogai, A. 2003. Molecular mechanism of self-recognition in Brassica self-incompatibility. Journal of Experimental Botany 54: 149±156

Trávníček, P. et al. 2012. Minority cytotypes in European populations of the *Gymnadenia conopsea* complex (Orchidaceae) greatly increase intraspecific and intrapopulation diversity. Annals of Botany 110: 977-986

Willy, Y., & Mäattänen, K. 2010. Evolutionary dynamics of mating system shifts in *Arabidopsis lyrata*. Evolutionary Biology 23: 123–2131