

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Botaniky



Bc. Pavel Zdvořák

**Způsob rozmnožování a reprodukční zabezpečení diploidních a
polyploidních jestřábníků (*Hieracium* s. str.)**

**Mode of reproduction and reproductive assurance of diploid and
polyploid hawkweeds (*Hieracium* s. str.)**

Diplomová práce

Vedoucí práce: Patrik Mráz

Praha, 2017

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem danou diplomovou práci vypracoval samostatně a použil jen pramenů, které cituji a uvádím v příloženém seznamu literatury. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 11. 8. 2017

Pavel Zdvořák

Poděkování

Chtěl bych poděkovat svému školiteli Patriku Mrázovi za množství cenných rad a připomínek, za ochotu a velikou trpělivost při psaní mé diplomové práce. Dále bych chtěl poděkovat Matthiasu Hartmannovi za pomoc s počítáním a sekáním semen. Tomáši Urfusovi za jeho rady a cenné připomínky k práci na cytometru a přípravě vzorků. Samozřejmě patří obrovské poděkování následujícím lidem, kteří mi různou měrou pomohli při zpracování mé diplomové práce, ať už se to týkalo sběrů semen na lokalitách, sekání semen a rostlin pro různé analýzy na FCM atd., bez jejich pomoci bych svojí diplomovou práci vůbec nedokončil a to jmenovitě Romaně Bartošové, Emilio Di Gristina, Lucii Hrůzové, Jindřichu Chrtkovi, Haně Jirsákové, Viere Mrázové, Janu Pincovi, Michaele Pinkové, Michalu Štefánkovi, J.-M. Tisonovi a Lukáši Vlkovi.

A v poslední řadě chci poděkovat svým rodičům a bratrovi za velkou trpělivost při mém studiu botaniky.

Tato diplomová práce byla podpořena z grantu grantové agentury ČR (GAČR grant no. 14-02858S) pod názvem: Geografická parthenogeneze: evoluční a ekologický význam apomiktického rozmnožování u cévnatých rostlin.

Abstrakt

Způsob reprodukce může výraznou mírou ovlivnit demografii a evoluční úspěch druhu. V případě autonomní nepohlavní tvorby semen jsou apomiktické taxony plně nezávislé od opylovačů a kompatibilních partnerů. U sexuálních taxonů se striktní autoinkompatibilitou je tomu naopak, tzn. potřebují opylovače a kompatibilní partnery pro vznik potomstva. Proto v okrajových populacích a za extrémnějších podmínek s nižší aktivitou opylovačů budou mít apomiktické taxony vyšší úroveň reprodukčního zabezpečení než sexuální taxony. Tato hypotéza byla jen málokdy testována u přírodních populací apomiktických a sexuálních taxonů cévnatých rostlin.

V diplomové práci zkoumáme způsob rozmnožování a reprodukční zabezpečení u 52 taxonů rodu *Hieracium* s. str. (čeleď *Asteraceae*) v Evropě. Z nich bylo 12 diploidních sexuálně se rozmnožujících taxonů a 42 polyploidních apomikticky se rozmnožujících taxonů. Z těchto taxonů jsme sbírali semena z plně vyvinutých úborů a stanovili jsme potenciální (celkový počet semen v úboru) a realizovaný (procento dobře vyvinutých semen na úbor) seed set. Ploidii potomstva (embrya a semenáčku) a způsob vzniku semen jsme zkoumali za pomoci průtokové cytometrie.

Z výsledků vyplývá, že rostliny z diploidních druhů produkovaly semena pouze sexuální cestou. Rostliny triploidních a tetraploidních taxonů produkovaly semena převážně apomikticky (99,75 %). Pouze u 16 semen (z celkového počtu 6 459 semen) u čtyř taxonů *H. amplexicaule*, *H. macilentum* s. l., *H. nigrescens* s. l. a *H. rapunculoides* byla nalezena zbytková sexualita. Ve většině případů (u 13 semen) se jednalo o BIII hybridy (vznik embrya po opylení z neredukovaného zárodečného vaku), u 3 semen vzniklo embryo po opylení z redukovaného zárodečného vaku. Realizovaný seed set byl ve shodě s naší hypotézou většinou nižší u sexuálních než u apomiktických taxonů. Pouze u druhu *H. alpinum*, kde byla semena sbíraná z přírodních populací, byl seed set nepatrně vyšší u sexuálních než asexuálních rostlin. U rostlin *H. alpinum* pěstovaných ve skleníku byl ale výsledný seed set opačný, tzn. u sexuálních rostlin byl mnohem nižší než u asexuálních rostlin. Bylo to způsobeno nedostatkem opylovačů a kompatibilních partnerů ve skleníku. Rozptyl v realizovaném seed setu jestřábníků byl většinou vyšší u sexuálních diploidních než asexuálních polyploidních taxonů. Je to zapříčiněno větší mírou stochasticity úspěšného opylení u sexuálních druhů.

Shrneme-li výsledky, tak diploidní rostliny produkují semena striktně pohlavně. Polyploidní rostliny produkují semena převážně nepohlavně, ale je zde také přítomna v malé míře zbytková sexualita. Realizovaný seed set u sexuálně diploidních rostlin může záviset na přítomnosti opylovačů a kompatibilních partnerů na lokalitě, ale u apomiktických polyploidních rostlin nehrají tyto dva efekty žádnou roli. U některých apomiktických rostlin jsme nezjistily realizovaný seed set, který by byl 100 %. Může to být zapříčiněno různými faktory např. nedostatkem živin, klimatem (mikroklimatem), škůdci nebo poruchami při vzniku semene.

Klíčová slova: apomixie, embryo, endosperm, *Hieracium* s. str., ploidie, průtoková cytometrie, produkce semen, zbytková sexualita

Abstract

The mode of reproduction can greatly influence the demography and the evolutionary success of the taxon. In the case of autonomous asexual formation seeds are apomictic taxa fully independent of pollinators and compatible partners. For sexual taxa with strict autoincompatibility it is the opposite, i.e. sexual taxa need pollinators and compatible partners for birth of offspring. Therefore, in marginal population and for more extreme situation with lower pollinating activity will have apomictic taxa a higher level of reproductive assurance than sexual taxa vascular plants.

This hypothesis was tested in natural populations of apomictic and sexual taxa. In the diploma thesis we therefore investigate the method mode of reproduction and reproductive assurance of 52 taxa of the genus *Hieracium* s. str. (family *Asteraceae*) in Europe. Of these, 12 were diploid sexually diploid taxa and 42 polyploid apomictic reproductive taxa. From these taxa we harvested seeds from fully developed capitulum and we determined the potential (total number of seeds in the capitulum) and the realized (the percentage of well-developed seeds at the capitulum). The ploidy of the offspring (the embryos and the seedling) and method origins of seeds we examined using flow cytometry.

The results show that the plants of diploid species produce the seeds only sexually. Plants of triploid and tetraploid taxa produced the seeds predominantly apomictically (99.75 %). Only 16 seeds (of the total of 6 459 seeds) in four taxa of *H. amplexicaule*, *H. macilentum* s. l., *H. nigrescens* s. l. and *H. rapunculoides* were identified as containing residual sexuality. In most cases (at 13 seeds), they were BIII hybrids (embryo formation after pollination from the unreduced embryo sac), at 3 seeds formation embryo after pollination from the reduced embryo sac. The realized seed set was in agreement with our hypothesis usually lower in case of sexual than apomictic taxa. Only species *H. alpinum*, which had its seeds collected in natural populations, showed seed set slightly higher in case of sexual rather than asexual plants. At plants *H. alpinum* of cultivated in the greenhouse was the result was inverse. The sexual plants had much lower seed set than asexual plants. It was due to the lack of pollinators and compatible partners in greenhouse. Dispersion in realized seed set hawkweeds was predominantly higher in case of sexual diploid plants than in case of asexual polyploid taxon. It is caused by higher the degree of stochasticity of successful pollination in sexual species.

Summarizing the results, diploid plants produce seeds strictly sexually. Polyploid plants produce seeds predominantly asexual, but residual sexuality is also present to a small

extent. Realized seed set in sexually diploid plants may depend on the presence of pollinators and compatible partners on the site, but in apomictic polyploid plants these two effects do not play any role. At some apomictic plants we also never found a 100 % realized seed set. This can be caused by various factors, for example nutrients deficiency, climate (microclimate), pests or defects at formation seeds.

Keywords: apomixis, embryo, endosperm, flow cytometry, *Hieracium* s. str., ploidy, residual sexuality, seed set

Obsah

1	Úvod.....	10
1.1	Apomixie.....	11
1.1.1	Adventivní polyembryonie.....	13
1.1.2	Gametofytická agamospermie.....	14
1.1.3	Autonomní versus pseudogamní asgamospermie.....	15
1.1.4	Zastoupení apomixie u rostlin.....	15
1.2	Sexuální rozmnožování u apomiktických rostlin.....	16
1.3	Historie objevu apomixie.....	17
1.4	Metody k zjištění apomixie.....	18
1.4.1	Cytoembryologie.....	18
1.4.2	Kastrace květů.....	19
1.4.3	Průtoková cytometrie.....	20
1.4.4	Molekulární markery.....	22
1.4.5	Morfologie pylů.....	22
1.5	Výhody apomiktického rozmnožování.....	23
1.6	Nevýhody apomiktického rozmnožování.....	25
1.7	Rod <i>Hieracium</i>	26
1.8	Cíle práce, otázky a hypotézy.....	27
2	Materiál a metodika.....	29
2.1	Sběr semen.....	29
2.2	Stanovení procenta dobrých semen na úbor (seed set).....	30
2.3	Stanovení ploidie a způsobu reprodukce za pomoci průtokové cytometrie.....	36
2.4	Statistické vyhodnocení dat.....	38
3	Výsledky.....	40
3.1	Způsob rozmnožování.....	40
3.1.1	Způsob rozmnožování u druhu <i>Hieracium alpinum</i> L.....	40
3.1.2	Způsob rozmnožování u ostatních taxonů rodu <i>Hieracium</i> s. str.....	42
3.1.3	<i>Hieracium amplexicaule</i> L.....	42
3.1.4	<i>Hieracium macilentum</i> s. l.....	45
3.1.5	<i>Hieracium nigrescens</i> s. l.....	46
3.1.6	<i>Hieracium rapunculoides</i> Arv.-Touv.....	48
3.2	Potenciální a realizovaný seed set.....	50

3.2.1	Potenciální a realizovaný seed set u druhu <i>Hieracium alpinum</i> L.	50
3.2.2	Potenciální a realizovaný seed set u ostatních taxonů rodu <i>Hieracium</i> s. str.	51
4	Diskuze	60
4.1	Způsob rozmnožování v rodě <i>Hieracium</i> s. str.....	60
4.1.1	Aneuploidie v rodě <i>Hieracium</i> s. str.....	65
4.2	Potenciální a realizovaný seed set v rodě <i>Hieracium</i> s. str.	66
5	Závěr.....	72
6	Literatura	73
7	Přílohy	85

1 Úvod

Každý rostlinný a živočišný druh, aby nevyhynul, má danou svou primární úlohu zajistit, aby vlastní genetická výbava pokračovala i do dalšího potomstva (Dawkins 1998). Toto předání genetické informace se nazývá rozmnožování. Rozmnožování můžeme rozlišit na pohlavní (sexuální) nebo nepohlavní (asexuální). Velká část organismů se rozmnožuje sexuálně (Dacks a Roger 1999; Simpson a Roger 2004). Tento typ zahrnuje nejen splynutí pohlavních rozmnožovacích buněk (syngamii), ale také náhodný rozestup chromozómů do pohlavních buněk (segregaci) a přeskupování DNA materiálu (rekombinaci) (Toman 2011; Toman 2013). Díky těmto třem mechanismům pohlavního rozmnožování se v přírodě udržuje genetická variabilita, která je nezbytná pomoci danému druhu předat vhodnou a svoji poloviční genetickou výbavu do svého potomstva. Potomci mohou být lépe adaptovaní na okolní prostředí a mít tak větší pravděpodobnost, že přežijí do dalšího předání své genetické výbavy. Na druhou stranu u velké části živočichů (19 z 34 kmenů (Butlin et al. 1998), pravděpodobně jich ale bude více (Toman 2013)), hub, ale také rostlin se nacházejí druhy, které se rozmnožují nepohlavně nebo zde dochází ke střídání rozmnožování (Judson a Normark 1996; Normark et al. 2003; Neiman et al. 2009; Schurko et al. 2009; Schwander a Crespi 2009; Trebichavský 2015). To znamená, že jedinec se může rozmnožovat pohlavně i nepohlavně. Nepohlavní rozmnožování se u živočichů nazývá partenogeneze a u rostlin apomixie. Principiálně se však jedná o stejný typ rozmnožování. Nepohlavní rozmnožování se u rostlin dělí na dva typy. Prvním, daleko častějším typem je vegetativní rozmnožování, které je založeno na totipotentní vlastnosti buněk, tzn. že každá i specializovaná buňka se může změnit na nediferencovanou buňku, ze které může vzniknout nový jedinec (Klimeš et al. 1997). To se děje množením různých částí podzemních nebo nadzemních pletiv (např. šlahounami, oddenkami, cibulemi a pacibulkami) a jejich následným oddělením od mateřské rostliny, po kterém se vyvíjí nový samostatný jedinec. Daný typ rozmnožování spolu s pohlavní cestou se nachází u většiny rostlinných taxonů. Druhým způsobem, jak se rostliny nepohlavně množí, je prostřednictvím semen. V současnosti se tento typ označuje jako apomixie (v minulosti tento termín zahrnoval také vegetativní rozmnožování), neboli agamospermie. Tato vzniklá semena vypadají morfologicky stejně jako semena, která vznikla pohlavní cestou. U agamospermie však nedochází k splynutí pohlavních rozmnožovacích buněk syngamii a vytvořená semena jsou geneticky uniformní (vyloučíme-li případnou somatickou mutaci) s mateřskou rostlinou (Koltunow 1994). Daná semena se vytvářejí ve

stejných rostlinných orgánech (květech) jako semena, které vznikají sexuálním způsobem. Díky tomuto typu rozmnožování některé druhy nepotřebují jiného jedince a opylovače pro předání své genetické výbavy do svého potomstva.

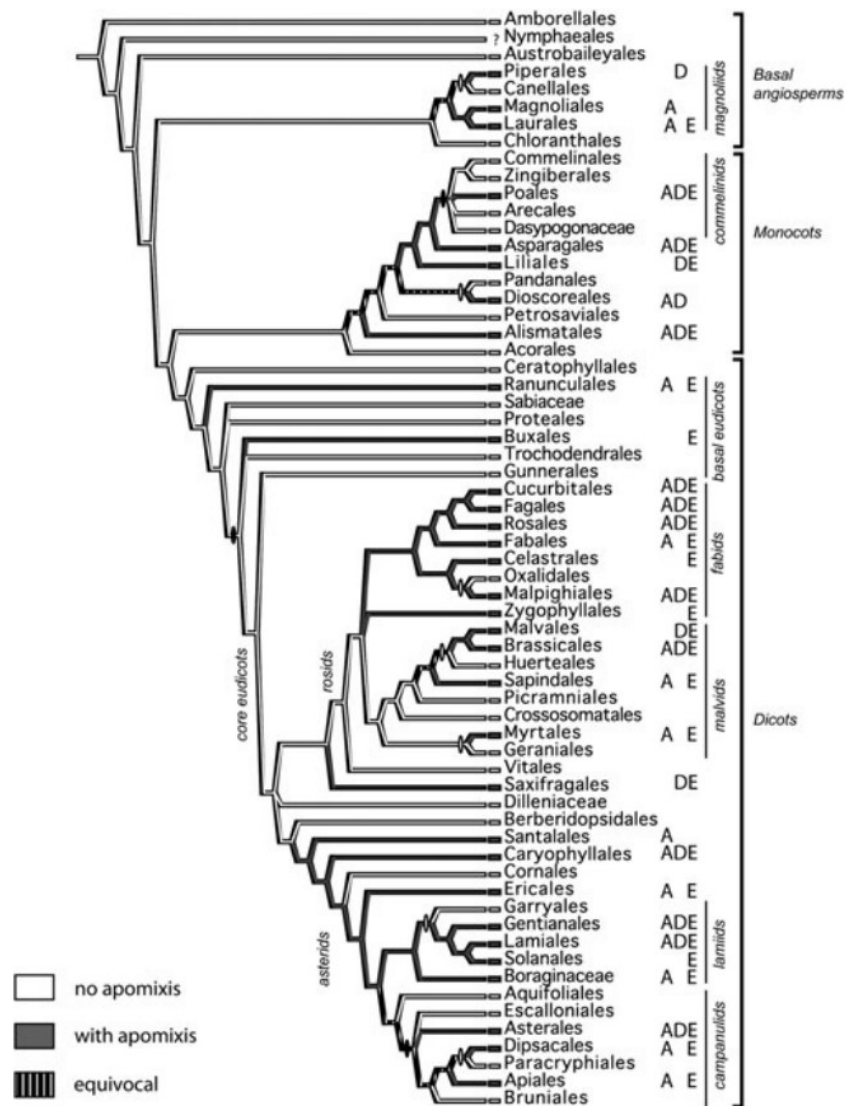
Ve své diplomové práci se věnuji zhodnocení výhody apomiktického rozmnožování v modelovém rodě *Hieracium* s. str., a to konkrétně kvantitativnímu porovnání tvorby semen mezi diploidními druhy, které se rozmnožují striktně sexuálně a druhy polyploidními, které jsou podle literatury považované za striktně, nebo téměř výhradně asexuální. Druhým cílem mé diplomové práce je ověření, zda-li jsou apomiktické druhy skutečně obligátní apomikti nebo zda může docházet do určité míry k fakultativní apomixii. A jsou-li pohlavně se rozmnožující diploidní druhy striktně nebo fakultativně sexuální.

1.1 Apomixie

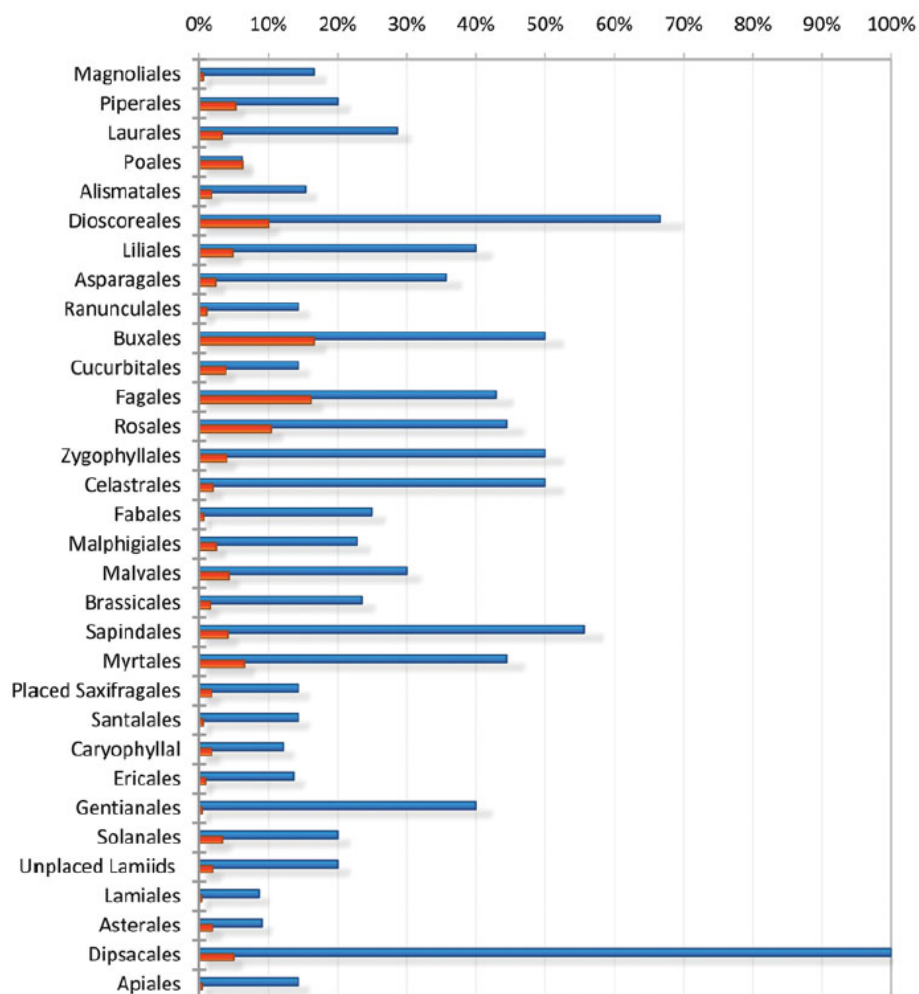
Termín apomixie je možné používat jako synonymum pro jakékoliv nepohlavní rozmnožování u rostlin, včetně vegetativního (viz kapitola Úvod). V užším slova smyslu se však používá pouze pro tvorbu semen nepohlavní cestou nebo-li agamospermii (Asker a Jerling 1992). V diplomové práci chápu význam slova apomixie jako synonymum pro agamospermii. Apomixie je brána jako proces, při němž nedochází k fúzi gamet (syngamii) a meióze (segregaci a rekombinaci) (Asker a Jerling 1992). Jak apomixie vzniká, není stále spolehlivě vyřešeno. Bylo navrženo několik hypotéz, a to například mutací genů zodpovědných za meiózu (Schurko a Logsdon 2008), kdy u sexuálních taxonů můžou vzniknout obligátní nebo fakultativní nepohlavní linie, u kterých následně může být apomixie fixována (Butlin et al. 1998; Simon et al. 2002). Další hypotézou, kterou navrhl Carman (2001), je tzv. „genome collision“ hypotéza. Do češtiny bychom ji přeložili jako srážka genomu. Jedná se o to, že apomixie nemusí být zapříčiněna nějakými zvláštními geny, které vznikly mutací genů zodpovědných za meiózu. Carman se naopak domnívá, že apomixie je způsobena rozdílnou expresí genů zodpovědných za florogenezi a gametogenezi, které se potkávají v jednom organismu jako následek mezidruhové hybridizace nebo hybridizace příbuzných linií, které byly adaptované na rozdílné podmínky. Rozdílně adaptované genomy potom způsobují „kolizi“ a mohou tak dát vzniknout apomixii u rostlin.

Apomixie je známa u 32 řádů (Obr. 1), 78 čeledí a 293 rodů krytosemenných rostlin (Obr. 2) (Hojsgaard et al. 2014). Celkový počet druhů, kde se vyskytuje apomixie, činí cca 13

000 druhů. Přesné číslo není možné uvést, jelikož závisí na taxonomickém pojetí druhů (Hojsgaard et al. 2014).



Obr. 1 Rozšíření apomixie v řádech krytosemenných rostlin. (A) aposporie, (D) diplosporie a (E) adventivní embryonie (Hojsgaard et al. 2014).



Obr. 2 Zastoupení (v procentech) apomiktických čeledí (modře) a rodů (červeně) u jednotlivých řádů (Hojsgaard et al. 2014).

Podle toho, zda vzniká semeno ze zárodečného vaku nebo nikoliv, lze apomixii rozdělit na sporofytickou (adventivní polyembryonii) a gametofytickou apomixii (Obr. 3).

1.1.1 Adventivní polyembryonie

U adventivní polyembryonie vzniká embryo z redukovaného zárodečného vaku jako u běžného oplození pohlavní cestou, ale také zde vzniká somatické (adventivní, proembryo) embryo z nucellu. Adventivní embryo je vyživováno, z endospermu oplozeného zárodečného vaku se kterým sousedí (Toman 2013). Může se tak stát, že z jednoho plodu vyrostou dvě rostliny. Adventivní polyembryonie je nejčastějším typem agamospermického rozmnožování u krytosemenných rostlin. Vyskytuje se u 148 rodů, které rostou převážně v tropickém a

subtropickém klimatu (Hojsgaard et al. 2014). Asi nejznámějším rodem, u něhož se vyskytuje tento typ nepohlavního rozmnožování je rod *Citrus* (čeleď *Rutaceae*) (Strasburger 1878). Dále se nachází např. u druhů (v závorce napsána čeleď) *Myracrodruon urundeuwa* a *Tapirira guianensis* (*Anacardiaceae*), *Byrsonima basiloba* (*Malpighiaceae*), *Cariniana estrellensis* (*Lecythidaceae*), *Copaifera langsdorffii* (*Caesalpinaceae*), *Hancornia speciosa* (*Apocynaceae*), *Magonia pubescens* (*Sapindaceae*) a *Tabebuia ochracea* (*Bignoniaceae*) (Salomão a Allem 2001). Adventivní polyembryonie se rovněž vyskytuje u taxonů, které rostou v České republice např. *Euphorbia dulcis* (Carano 1926).

1.1.2 Gametofytická agamospermie

Samotnou gametofytickou agamospermii je možné rozdělit na dva typy podle způsobu vzniku zárodečného vaku a odchylek v megagametogenezi, a to na aposporii a diplosporii (Rutishauser 1967). Druhy s aposporickou apomixií tvoří redukovaný zárodečný vak z megaspory. Dále zde vznikají jeden nebo více neredukovaných zárodečných vaků ze somatických buněk nucellu. Tyto buňky začínají svůj vznik až po vzniku redukovaného zárodečného vaku. V určitém období je ve vajíčku redukovaný i neredukovaný zárodečný vak. Poté většinou neredukovaný eliminuje redukovaný zárodečný vak. Může se stát, že redukovaný zárodečný vak se nevytěsňuje a dochází k vzniku potomstva pohlavní cestou. Při samotném vývoji zárodečných vaků může docházet k různým morfologickým odchylkám v jejich uspořádání a polaritě (Rutishauser 1967). Kvůli těmto odchylkám se aposporie dále rozděluje na dvě kategorie podle typu zárodečného vaku, a to na typ *Hieracium* (neredukovaný 8 jaderný embryonální vak) a typ *Panicum* (neredukovaný 4 jaderný embryonální vak) (Rutishauser 1967). Typ *Hieracium* se nachází např. u druhů rodu *Pilosella* (Rosenberg 1907) a *Potentilla* (Hunziker 1954). Typ *Panicum* se vyskytuje např. u druhů rodu *Panicum* (Warkme 1951) nebo *Pennisetum* (Snyder et al. 1955). Aposporie (bez rozlišení jednotlivých typů) se vyskytuje u 110 rodů krytosemenných rostlin (Hojsgaard et al. 2014).

U diplosporických druhů vzniká neredukovaný zárodečný vak z neredukované megaspory. Tento typ apomixie můžeme rozdělit na následující kategorie: meiotickou (typ *Taraxacum*) a mitotickou (typ *Antennaria*) diplosporii. U meiotické diplosporie typu *Taraxacum* dochází v profázické fázi k meióze, tedy k částečnému nebo úplnému párování chromozomů. Může se tu vyskytovat různý počet multivalentů a univalentů (nespárovaných

chromozómů). Poté dochází ke vzniku neredukovaného zárodečného vaku z neredukované megaspory. Vzniklé embryo má neredukovaný počet chromozómů. Tento typ diplosporie se vyskytuje např. v rodě *Chondrilla* (Bergman 1944) a *Taraxacum* (Gustafsson 1935). U mitotické diplosporie, jak už název napovídá, nedochází k žádné meióze, tzn. nedochází zde k párování chromozómů, ale jen k mitóze. Neredukovaný zárodečný vak vzniká opět z neredukované megaspory. Tento způsob rozmnožování můžeme nalézt např. v rodech *Antenaria* (Juel 1900) a *Hieracium* s. str. (např. Gustafsson 1935). Diplosporie (bez rozlišení jednotlivých typů) se vyskytuje u 68 rodů krytosemenných rostlin (Hojsgaard et al. 2014).

1.1.3 Autonomní versus pseudogamní asgamospermie

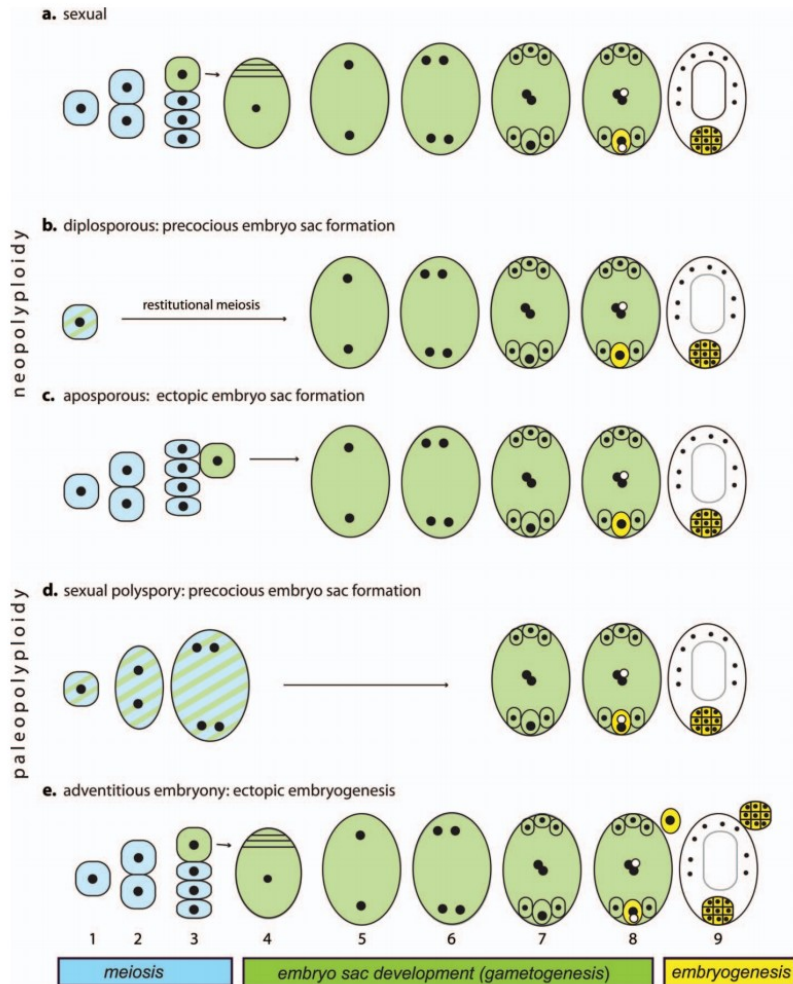
Podle způsobu vzniku endospermu je možné rozdělit agamospermii na autonomní nebo pseudogamní.

Samčí gametofyt může ovlivnit vznik endospermu několika způsoby, a to přímým ovlivněním (tzv. pseudogamií), nebo nepřímým ovlivněním (semigamií). Při pseudogamii dochází k opylení a následnému splynutí samčí gamety s jádrem zárodečného vaku. Tento samotný proces je důležitý pro vznik endospermu, který je potřebný ke vzniku životaschopného embrya (Briggs a Walters 1988; Grimanelli et al. 2001; Richards 2003). Pseudogamie je vázaná jen na taxony, které mají aposporii, a vyskytuje se u čeledí *Rosaceae* (např. u rodů *Amelanchier* (Campbell et al. 1987), *Potentilla* (Smith 1963), *Sorbus* (Bílá 2012)) a dále např. u druhů rodu *Poa* (Kelly et al. 2009). U semigamie dochází ke vzniku samčí gamety do megaspory. Následně se začne megaspora dělit, ale nedochází zde ke splynutí jader.

1.1.4 Zastoupení apomixie u rostlin

Podle frekvence apomixie u rostlin je možné ji rozdělit na obligátní (striktní) a fakultativní (příležitostnou) (viz kapitola Sexuální rozmnožování u apomiktických rostlin) apomixii.

U obligátní apomixie je potomstvo identické s mateřskou rostlinou. Neredukované vaječné buňky se v celém semeníku vyvíjejí partenogeneticky (Briggs a Walters 1988). Tento typ apomixie se nachází např. u některých zástupců rodu *Alchemilla* (Briggs a Walters 1988).



Obr. 3 Způsoby rozmnožování u krytosemenných rostlin. Barvy odkazují na předpokládanou expresy genů (sporogeneze = modrá; gametogeneze = zelená; embryogeneze = žlutá). (A) sexuální vývoj; (B) diplosporie; (C) aposporie; (D) sexuální polysporie; (E) adventivní polyembryonie (Hörandl and Hojsgaard 2012).

1.2 Sexuální rozmnožování u apomiktických rostlin

Na tomto místě je důležité zmínit pojmy sexuální rozmnožování a zbytková sexualita u apomiktických rostlin, protože obligátní apomixie je v přírodě velice vzácná (Nogler 1984; Asker a Jerling 1992; Koltunow 1993). Většinou se apomiktické rostliny rozmnožují fakultativně tzn. rostliny si zachovávají určitou úroveň sexuality, tedy zbytkovou sexualitu (Richards 2003; Bicknell a Koltunow 2004; Whitton et al 2008).

Sexuální rozmnožování je proces, při němž dochází ke vzniku gamet redukčním dělením tzv. meióze. Tento proces zahrnuje segregaci, rekombinaci a následně splynutí gamet (syngamii), při níž dochází ke vzniku zygoty, která se následně dělí a vzniká z ní embryo a endosperm.

Zbytková sexualita je chápána jako proces, při němž apomiktická rostlina produkuje semena především apomiktickou cestou, ale některá semena zde také vznikají sexuálně. To znamená, že mateřská rostlina má některá vajíčka s pohlavně vzniklým zárodečným vakem, který obsahuje redukované vaječné buňky. Tyto buňky mohou být oplozeny pylem sexuální cestou (Asker 1980). Zbytková sexualita u apomiktických rostlin může dát vznik geneticky různorodému potomstvu (Nogler 1984; Koltunow 1993) a je tak brána jako nejdůležitější zdroj evoluční variability u apomiktických rostlin (Asker a Jerling 1992; Richards 2003). Tento způsob rozmnožování nacházíme nalézt např. u rodů *Pilosella* (Krahulcová et al. 2016) a *Sorbus* (Liljefors 1955).

1.3 Historie objevu apomixie

Projevy agamospermie byly pozorované poprvé v 19. století, kdy ji roku 1841 popsal John Smith u druhu *Alchornea ilicifolia* (čeleď *Euphorbiaceae*) (Smith 1841). Rostlina pocházela z východní Austrálie a do Královské botanické zahrady v Kew v Anglii byla dovezena v první polovině 19. století. V botanické zahradě byly pěstovány jen samičí rostliny, které překvapivě produkovaly semena. Právě tato vlastnost byla u rostliny zvláštní. Smith pozoroval tuto samičí rostlinu a došel tak k závěru, že semena se musela vyvinout bez oplození. Strassburger (1878) tuto domněnku potvrdil embryologickými preparáty u rodu *Citrus*, u nichž pozoroval vznik poměrně častých adventivních embryí z nucelárního pletiva a tento jev nazval adventivní polyembryonií.

Gregor Johann Mendel v 19. století popsal u křížení hrachu tři známá pravidla (princip segregace, volné kombinovatelnosti a dominance), které vešla ve známost jako Mendelovy zákony dědičnosti (Křížová 2012). Po této zkušenosti chtěl Mendel křížit i jiné druhy např. z rodu *Hieracium*, jak *Hieracium* subgen. *Hieracium*, tak i *Hieracium* subgen. *Pilosella* (Orel 2003). Chtěl tak potvrdit své zjištění u hrachu. A tak mezi sebou křížil různé druhy např. *Hieracium praealtum* a *H. stoloniflorum*; *H. pilosella* s *H. pratense*, *H. praealtum* a *H. auricula*; také *H. murorum* s *H. umbellatum* a *H. pratense* (Mendel 1950). U rodu *Hieracium*

nastaly komplikace. Mendel upozoroval, že potomstvo v F1 generaci vypadá stejně jako mateřská rostlina. To znamená, že u ještěbříčků odporovaly výsledky jeho předchozím pokusům s hrachem. Mendel si to nedokázal vysvětlit, i přes to své výsledky publikoval, ale jen ty, které se týkaly *Hieracium* subgen. *Pilosella* (Mendel 1866). Tuto práci odeslal do desítek institucí po celé Evropě (Mendel 1866). Jediný, kdo mu odepsal, byl Carl von Nägeli, který rod *Hieracium* experimentálně křížil a začal si Mendelem dopisovat a spolupracovat (Schwarzbach et al. 2014). Výsledky z křížení v *Hieracium* subgen. *Hieracium* Mendel nikdy nepublikoval, ale částečné výsledky vzpomenu v listech, které psal Nägelimu (Mendel 1950). Primární problém, který nastal u křížení rodu *Hieracium*, byl ten, že v Mendelově době ještě nebyla známá apomixie. Nemohl tak tušit, proč křížení u rodu *Hieracium* vychází jinak než u hrachu, a tak Mendel nechtěně dokázal apomixii u rodu *Hieracium* a *Pilosella* na základě shodné morfologie mateřských druhů a jejich potomků.

1.4 Metody k zjištění apomixie

Prítomnost agamospermie u rostlin lze zjistit cytoembryologií, molekulárními (genetickými) markery, kastročnými metodami nebo průtokovou cytometrií (FCSS = flow cytometric seed screening). Dále je možné zjistit apomixii nepřímo, a to pomocí morfologie pylů. V následujícím textu budou dané metody podrobněji vysvětleny.

1.4.1 Cytoembryologie

Cytoembryologické rozdíly se objevují mezi různými typy apomiktického rozmnožování, a to v různých částech vývoje embrya a spor. Lze tak odlišit několik způsobů reprodukce např. adventivní polyembryonii, aposporii a diplosporii (Obr. 3). U adventivní polyembryonie dochází, jak už název napovídá, k polyembryonii tzn. vzniku více než jednoho embrya ve vajíčku. U aposporie může také docházet k tomuto jevu, ale u diplosporie a sexuálního rozmnožování nikoliv (Leblanc a Mazzucato 2001). Rozdíl mezi aposporií a diplosporii spočívá při vzniku neredukovaného gametofytu. U aposporie vzniká neredukovaný gametofyt ze somatických buněk nucellu a u diplosporie vzniká neredukovaný gametofyt přímo z megasporu mateřské buňky (Noyes a Wagner 2014). První, kdo dokázal

cytoembryologicky apomixii u rostlin, byl Juel (1898), a to u druhu *Antennaria alpina*. Mezi dalšími taxony, kde byla prokázána apomixie, byl např. rod *Pilosella* (Rosenberg 1907). Cytoembryologické metody byly použity při studiu např. rodů *Hieracium* a *Pilosella* (Bergman 1941; Gentcheff a Gustafsson 1940; Hand et al. 2015) a také u druhu *Panicum maximum* (Savidan 1980). Dále byly také tyto metody použity u druhu *Hieracium alpinum*, kde Skawińska (1963) zjistila, že u některých triploidních apomiktických jedinců dochází k částečné aborcii zárodečného vaku.

1.4.2 Kastrace květů

Mezi nejjednodušší metody, jak zjistit apomixii, patří kastrace květů. Tato metoda se nejčastěji využívá u čeledi *Asteraceae* např. u rodu *Hieracium* s. str. (např. Chrtěk 1997; Mráz 2001; Mráz a Szelağ 2004; Szelağ a Ilnicki 2011), *Pilosella* Hill. (např. Hand et al. 2015; Krahulcová a Krahulec 1999; Krahulec et al. 2008; Křišťálová et. al. 2010; Rotreklová 2004; Rotreklová et al. 2002, 2005; Šingliarová et al. 2011) a *Taraxacum* (např. Raunkiaer 1903). Samotný princip metody je velice jednoduchý. Stačí odříznout (např. žiletkou) horní polovinu úboru (specifický typ květenství u čeledi *Asteraceae*) před jeho otevřením (Obr. 4/1) tak, aby se odstranily blizny s částí čnělek, ale zároveň musí zůstat nedotčené semeníky (Obr. 4/2). Tímto postupem zabráníme případnému opylení květů a následné syngamii. Když se na rostlině přesto vytvoří semena, tak zde muselo dojít k autonomní tvorbě semen apomiktickou cestou (Obr. 4/3). Někdy se stává, že po odříznutí poloviny úboru dochází k jeho aborcii (tzv. zakrnění, deformaci). To může být zapříčiněno stresem vyvolaného odříznutím části úboru.

Kastrачní experimenty se využívají i jiných skupin rostlin, ale zde je nutná malá obměna metody. Nejdříve se musí květ otevřít z pupenu a následně kastrovat. Daná metoda se využívá např. u čeledi *Brassicaceae* u taxonu *Arabis holboellii* agg. (Böcher 1951).



Obr. 4 Kastrace úboru u čeledi *Asteraceae*. (1) odříznutí úboru, (2) odříznutý úbor, (3) semena vzniklá apomikticky (foto B. Šingliarová).

1.4.3 Průtoková cytometrie

Metoda průtokové cytometrie semen je založena na odlišných poměrech ploidii endospermu a embrya mezi sexuálně a apomikticky vzniknutými semeny (Matzk et al. 2000). Tato metoda využívá princip dvojitého oplození (oosféry a centrálního jádra zárodečného vaku) u krytosemenných rostlin.

U sexuálních rostlin je poměr ploidii endospermu a embrya 3:2. Nejdříve se pyl přenesl na bliznové laloky, kde následuje klíčení pylového zrna a růst pylové láčky čnělkovým kanálem. V pylové láčce dochází k rozdělení generativní buňky ($2n$) na dvě spermatické buňky ($1n + 1n$). Pylová láčka prorůstá do zárodečného vaku a dochází zde k uvolnění dvou spermatických buněk. Jedna spermatická buňka ($1n$) proniká do oosféry ($1n$), kde splyne s jejím jádrem a posléze z ní vzniká embryo ($2n$). Druhá spermatická buňka ($1n$) splyne s centrálním jádrem zárodečného vaku ($2n$) a vzniká tak endosperm ($3n$) (Erdelská 1981).

U apomiktických rostlin, které nepotřebují opylení pro vývoj semene, je poměr ploidii endospermu a embrya 2:1. U těchto rostlin nedochází k oplodnění spermatických buněk s oosférou ($1n$) ani s centrálním jádrem zárodečného vaku ($2n$). Vzniknuté embryo ($1n$) má tedy totožnou ploidii jako mateřská rostlina a endosperm ($2n$) má dvakrát větší genom než embryo.

U apomiktických rostlin, které potřebují opylení (pseudogamii) pro zdárný vývoj endospermu, je poměr ploidii endospermu a embrya mezi 3:2 a 2:1. Záleží zde hlavně jakou má ploidní úroveň spermatická buňka, která oplodní centrální jádro zárodečného vaku ($2n$). Samotná oosféra ($1n$) není oplodněná spermatickou buňkou.

V dřívějších dobách byla pro stanovení obsahu DNA (ploidií) embrya a endospermu za pomoci průtokové cytometrie použita nezralá semena. Nejdříve byly tkáně embrya a endospermu vyříznuty a následně zvlášť měřeny jejich ploidiie. Tento postup byl velice časově náročný a mohl být použit jen v krátké časovém období vývoje rostlin. Daná metoda byla využita ve studiích Grimanelli et al. (1997), Kowles et al. (1994) a Naumova et al. (1999).

V roce 2000 Matzk et al. prvně publikoval méně komplikovanou metodu k stanovení ploidií embrya a endospermu za pomoci průtokové cytometrie. Metoda byla založena na využití zralých a suchých semen, kde nebylo nutné od sebe oddělit tkáně embrya a endospermu. U této metody byla jedna z hlavních podmínek přítomnost dostatečného množství nedotčeného endospermu. Tato metoda byla nazvaná flow cytometric seed screening (FCSS), tedy průtoková cytometrie semen. Metoda byla použita u jednoděložných a dvouděložných rostlin např. u druhů *Arabidopsis thaliana*, *Hordeum vulgare*, *Hypericum perforatum*, *Panicum maxicum*, *Poa nemoralis*, *Poa palustris*, *Poa pratensis*, *Poa trivialis*, *Triticum aestivum* a *Zea mays* (Matzk et al. 2000).

U zástupců rodu *Hieracium* s. str., u kterého je známá autonomní diplosporie typu *Antenaria* (viz kapitola Apomixie) a s ohledem na nejčastější ploidií úroveň a téměř úplnou absencii aneuploidie (např. Schuhwerk 1996), můžeme při cytometrické analýze semen zjistit následující základní situace:

(1) U diploidních rostlin, které se rozmnožují sexuálně, bude poměr ploidiie endospermu k ploidií embrya 3:2, tedy 1,5.

(2) U triploidních rostlin, které se rozmnožují apomikticky, bude poměr ploidiie endospermu k ploidií embrya 6:3, tedy 2.

(3) U tetraploidních rostlin, které se rozmnožují apomikticky, bude poměr ploidiie endospermu k ploidií embrya 8:4, tedy 2.

Kdyby se sexuální rozmnožování vyskytovalo u tetraploidních rostlin, které mají pravidelnou meiózu, tak poměr ploidiie endospermu k ploidií embrya bude vždy 1,5 jako u diploidních rostlin. U tri- a tetraploidních rostlin by teoreticky mohlo docházet k nepravidelné meióze. Poměr ploidiie endospermu k ploidií embrya by kolísal, ale nikdy by nebyl roven 2 jako u rostlin, které se rozmnožují apomikticky. Rostliny, které se rozmnožují apomikticky, mají poměr ploidiie endospermu k ploidií embrya vždy roven 2 a rostliny, které se rozmnožují

sexuálně, mají poměr ploidie endospermu k ploidii embrya 1,5 nebo jiný poměr kromě 2. (Matzk et al. 2000)

Daná metoda byla již využita v rodě *Hieracium* s. str. (např. Kocián 2013) a také v příbuzném rodě *Pilosella* Hill. (např. Hand et al. 2015; Krahulec a Krahulcová 2011; Rodrigues et al. 2008; Šingliarová et al. 2011).

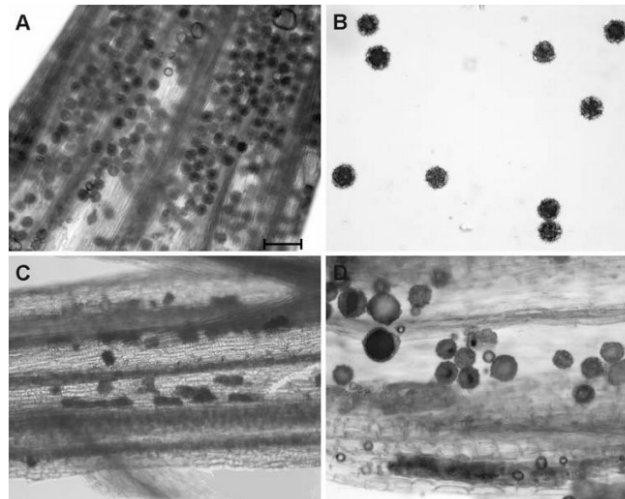
1.4.4 Molekulární markery

Hlavním principem této metody je, že apomiktické rostliny produkují potomstvo, které má identickou genetickou výbavu jako mateřská rostlina. U sexuálně se rozmnožujících rostlin má potomstvo vždy jen polovinu genetické výbavy od jednoho z rodičů tzn. jednu polovinu genetické výbavy má od matky a druhou polovinu od otce. Dalším typem rozmnožování je také fakultativní apomixie, při níž dochází nejen k apomiktickému, ale také k sexuálnímu rozmnožování. Potomstvo, které vzniklo tímto typem rozmnožování má větší genetickou výbavu než potomstva, které vzniklo obligátní apomixií, ale zároveň má menší genetickou výbavu než potomstvo, které vzniklo sexuální cestou. Při porovnání této genetické výbavy mateřské rostliny a potomstva nebo samotných potomků, lze zjistit, zda se daná rostlina rozmnožuje/vzniká apomikticky nebo sexuální cestou. Pro zjištění typu rozmnožování u rostlin lze použít následující molekulární markery, a to např. AFLP (Amplified fragment length polymorphism) a RAPD (Random amplified polymorphic DNA). Tato metoda byla využita např. u druhu *Ranunculus carpaticola* (Paun et al. 2006).

1.4.5 Morfologie pylů

Apomixie je téměř výhradně spjata s polyploidií. V samčí mikrosporogenezi a mikrogametogenezi může docházet k poruchám při tvorbě pylu. Tato skutečnost je zapříčiněna poruchou v meióze, zejména kvůli potížím v párování chromozomů, což může vést k nízké produkci pylu heterogenní velikosti nebo úplné samčí sterilitě (Obr. 5) (Mráz et al. 2009). Tato porucha byla prokázána u druhů s autonomní diplosporií a autonomní aposporií např. u *Amelanchier* sp. div. (Burgess et al. 2014), *Hieracium alpinum* (Mráz et al. 2009), *Hieracium baeticum* (Aparicio 1994), *Hieracium pietroszense* agg. (Mráz 2003),

Taraxacum sect. *Ruderalia* (Tschermak-Woess E. 1949), *Apluda mutica*, *Bothriochloa ischaemum* a *Panicum maximum* (Ma et al. 2009). Proto můžeme brát tvorbu pylu, jeho tvar a velikost jako indikátor polyploidie a tím pádem i apomixie v těchto taxonech. Naopak sexuálně se rozmnožující druhy, které vyžadují opylení, potřebují funkční pyl, a proto produkují často hodně pylu homogenní velikosti (Obr. 5) (Mráz et al. 2009).



Obr. 5 Pyl u druhu *Hieracium alpinum*. (A) prašníky s množstvím pylu u diploidní rostliny, (B) homogenní velikost pylu u diploidní rostliny, (C) prašníky bez pylu se zbytky degenerované vrstvy tapet u triploidní rostliny, (D) heterogenní velikost pylu u triploidní rostliny. Měřítko: 100 µm (A a C) a 50 µm (B a D) (Mráz et al. 2009).

1.5 Výhody apomiktického rozmnožování

Sexuální i asexuální rozmnožování má své výhody a nevýhody. Mezi nejdůležitější výhody asexuálního rozmnožování patří bezesporu to, že každý jedinec (mateřská rostlina) může dát vzniknout novým potomkům, aniž by k tomu potřeboval jiného jedince. Díky tomu má jeden nepohlavní jedinec velkou kolonizační výhodu, protože jedna rostlina může dát základ celé nové populaci (tzv. Bakerovo pravidlo) (Stebbins 1957). Naproti tomu jsou u rostlin, které se rozmnožují sexuálně, dvojnásobné náklady na rozmnožování tzv. "twofold cost of sex". U většiny pohlavně se rozmnožujících taxonů se populace skládá ze dvou pohlaví (samičí a samčí), ale jenom samičí rostliny mohou dát vzniknout novým potomkům. Aby vzniknul nový jedinec musí nejdříve samčí rostliny opylit samičí rostliny, a také jen polovina rodičovského genomu se přenáší na potomstvo (Lehtonen et al. 2012). Pokud každá rostlina

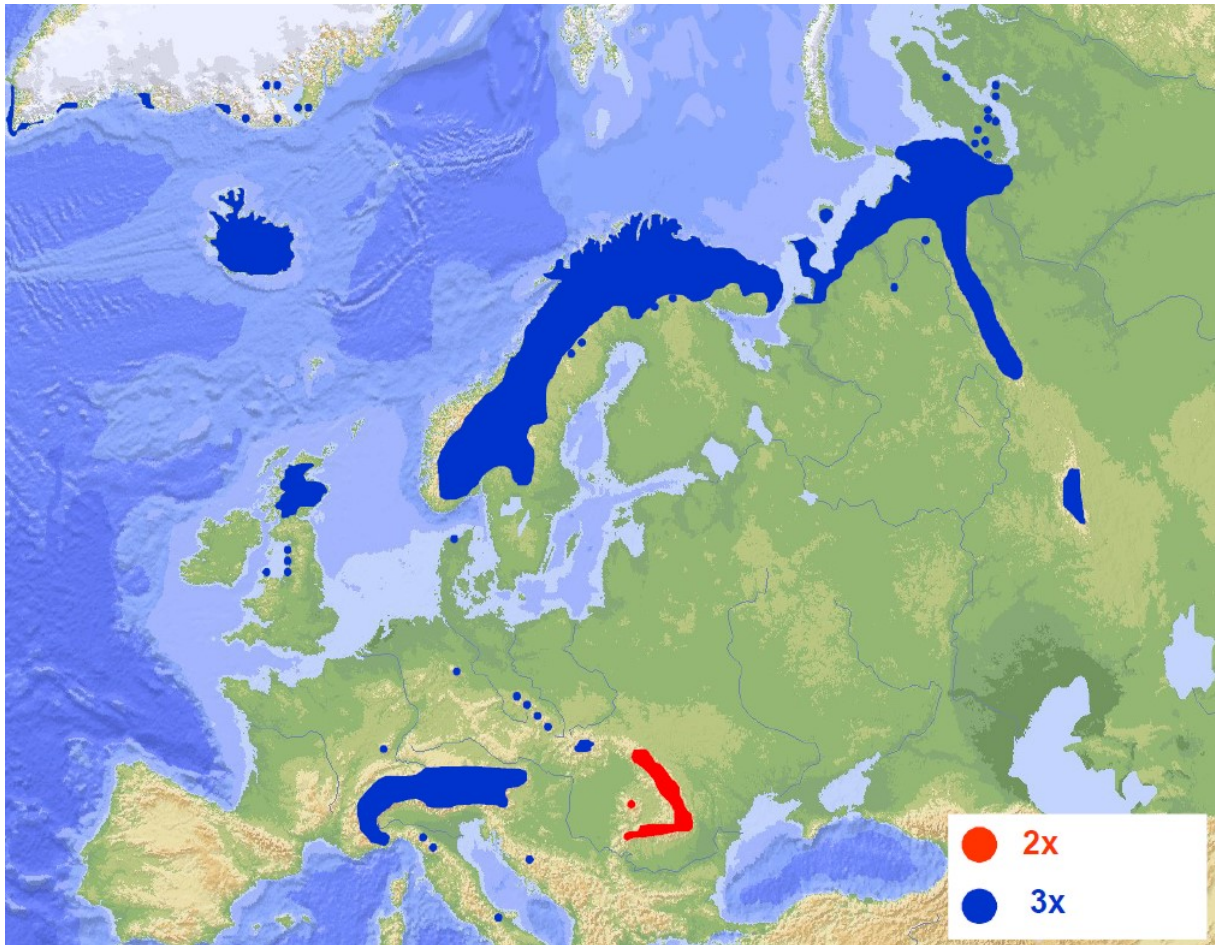
přispívá stejným počtem potomků, tak pohlavní populace zůstává v každé generaci stejně velká, ale u asexuální populace se každá generace ve své velikosti zdvojnásobí (viz výše). Tudíž nemůže jedna pohlavní rostlina dát vzniknout celé nové populaci.

Rostliny s autonomní apomixií nepotřebují, kromě jiných jedinců ani opylovače (jestliže se jedná o rostliny opylované opylovači). Proto mateřské rostliny nemusejí čekat na vhodné klimatické podmínky, aby opylovači mohli zahájit svoji roli v přenosu pylu na jiné rostliny.

U apomiktické mateřské rostliny nedochází k rekombinaci ani segregaci, mluvíme-li o mitotické diplosporii. Nedochází zde ke ztrátě genetické výbavy a potomci mají identickou genetickou informaci jako jejich mateřská rostlina. To může být výhodné v případě adaptace na prostředí, ve kterém se daný nepohlavně rozmnožující jedinec nebo populace vyskytuje. Dobré geny jsou už vyselektované a dobrá kombinace genů (genotypu) není zřetřována nevýhodnými alelami a jejich kombinacemi. Tato vlastnost je výhodná jen tehdy, když se nemění prostředí, v němž žijí apomiktičtí jedinci.

Lepší kolonizační schopnost apomiktických oproti sexuálním rostlinám se může odrážet v tzv. geografické partenogenezi. Jedná se o jev, kdy se sexuální a asexuální formy stejného nebo blízce příbuzného taxonu liší ve velikosti a pozici areálu (Vandel 1928). Dobrým příkladem, kde se vyskytuje geografická partenogeneze, je druh *Hieracium alpinum* (Mráz et al. 2009). Tento taxon má dva cytotypy, a to diploidní (striktně sexuální rozmnožování) a triploidní (striktně apomiktické rozmnožování). Bylo zjištěno, že diploidní jedinci se vyskytují jen ve východních a jižních Karpatech. Triploidní jedinci se vyskytují ve zbývajících oblastech (západní Karpaty, Alpy, Skandinávie a Vranická planina) areálu druhu (Obr. 6). Dalšími příklady, kde se nachází geografická partenogeneze, jsou např. taxony *Taraxacum officinale* agg. (Van Dijk 2003), taxony z čeledi *Ranunculaceae*, a to *Ranunculus kuepferi* (Cosendai et al. 2013) a *Ranunculus auricomus* agg. (Hörandl a Paun 2007). Neznamená to ale, že geografická partenogeneze se vyskytuje u všech nepohlavních taxonů (Hörandl 2009).

Cenná výhoda apomiktického rozmnožování je oproti vegetativnímu rozmnožování ta, že se může jedinec rozmnožovat pomocí semen. Všeobecně se semena šíří lépe na větší vzdálenost než šlahouny nebo oddenky.



Obr. 6 Celkový areál druhu *Hieracium alpinum* L. Červené značené (2x) jsou diploidní populace a modře značené (3x) jsou triploidní populace (mapa P. Mráz).

1.6 Nevýhody apomiktického rozmnožování

Nevýhodou apomiktických linií je, že zde nedochází k syngamii, segragaci a rekombinaci. Nedochází zde k výměně genetického materiálu mezi jedinci v populaci a mimo ni. Dotyční jedinci nemohou přijímat nové výhodné alely. Když se změní jejich prostředí, v němž žijí, je zde vysoká pravděpodobnost, že se nedokážou novým podmínkám přizpůsobit.

Asexuálně i sexuálně se rozmnožující rostliny mohou být napadeny herbivory (např. býložravci a některými chorobami). Pohlavně se rozmnožující rostliny mohou přijímat nové výhodné alely, a tak se mohou přizpůsobit herbivorům. Naproti tomu u rostlin, které se rozmnožují nepohlavně, nedochází k přijímání nových výhodných alel, které by mohly danou rostlinu ubránit před herbivory. Proto u nepohlavně se rozmnožujících jedinců neprobíhá

hypotéza červené královny. Tato hypotéza předpokládá, že u organismu dochází k evoluci a může se tak adaptovat na dané podmínky (Ridley 1999).

1.7 Rod *Hieracium*

Rod *Hieracium* L. se vyskytuje především v holarktické části zeměkoule, primárně v Evropě, Asii a Severní Americe. Jedná se o vytrvalé byliny s mléčnicemi. Lodyhy jsou přímé, jednoúborné až mnohoúborné a s olistěnými nebo někdy s bezlistými lodyhami. Listy jsou většinou drobně zubaté, zelené až sivozelené, chlupaté (hvězdovité, jednoduché a žláznaté chlupy) až ± lysé. Květy jsou jazykovité, žluté a oboupohlavné. Plody jsou nažky s dvouřadým chmýrem. (Chrtek 2004)

Někdy bývá do rodu *Hieracium* řazen i rod *Pilosella* Hill., který je mu blíže příbuzný. Některými autory bývají tyto dva rody spojovány jako podrody do společného rodu *Hieracium* (např. Chrtek 2004, Sell a West 1976) nebo jsou ponechávány na úrovni samostatných rodů (např. Danihelka et al. 2012, Schou 2001). Důvodem, proč rozdělovat dané taxony do dvou rodů, je ten, že se liší některými morfologickými znaky (rod *Pilosella* má chmýr jednořadý, nažky nanejvýš 2,5 mm dlouhé, rostliny většinou s podzemními nebo nadzemními výběžky a rod *Hieracium* má chmýr dvouřadý, nažky 2,5–5,0 mm dlouhé, rostliny vždy bez výběžků (Chrtek 2004)) a typem rozmnožování (rod *Pilosella* má aposporii a *Hieracium* má diplosporii).

Na celém světě je více než 1 000 polyploidních (většinou tri- a tetraploidních) taxonů *Hieracium* s. str., které se rozmnožují apomikticky (Mráz ústní sdělení). Vzácně byly nalezeny i další stupně ploidie. U pěti taxonů byla nalezena pentaploidie (Chrtek 1996; Pulkina a Tupitsyna 2000; Stace et al. 1995; Tyler a Jönsson 2009). U druhu *H. virosum* Pall. bylo nalezeno dokonce 5 cytotypů (di-, tri-, tetra-, penta- a dokonce hexa- a heptaploidie) (Pulkina a Tupitsyna 2000). Diploidů se vyskytuje cca 20 taxonů, které se rozmnožují striktně sexuálně (Chrtek et al. 2007, Merxmüller 1975, Vladimirov a Szelağ 2006). Aneuploidie byla nalezena jen velice vzácně (např. Stace et al. 1995).

Proč vlastně existuje tolik různých taxonů *Hieracium*? Na toto téma bylo vypracováno několik teorií. Například teorie dle Tennant a Rich 2008 předpokládá, že apomixie vznikla ze sexuálního typu rozmnožování. Druhy, které vznikly, měly apomiktické rozmnožování a

nadále produkovaly pyl. Mohly se tak křížit s pohlavními druhy a dát vzniknout novým liniím, které se lišily mezi sebou nepatrnými morfologickými rozdíly. Vzniklá morfologická variabilita byla zafixována apomiktickým způsobem rozmnožování.

1.8 Cíle práce, otázky a hypotézy

Diplomová práce se zabývá studiem způsobu rozmnožování rostlin u různých druhů rodu *Hieracium* s. str. stanoveného za pomoci průtokové cytometrie. Dále se zabývá možným rozdílem v procentu dobře vyvinutých semen na úbor (tzv. seed set) mezi sexuálně se rozmnožujícími diploidními a asexuálně se rozmnožujícími polyploidními (většinou 3x a 4x) taxony.

O způsobu rozmnožování rostlin v rodě *Hieracium* s. str. nebylo vypracováno mnoho badatelských prací. Studie se většinou zaměřily na zjištění způsobu reprodukce za pomoci kastrace květů (např. Chrtek 1997; Mráz 2001; Mráz a Szelağ 2004; Szelağ a Ilnicki 2011) a někdy za pomoci průtokové cytometrie u malého počtu druhů (např. Kocián 2013). U příbuzného rodu *Pilosella* Hill. je těchto prací mnohem více (např. Hand et al. 2015; Krahulcová a Krahulec 1999; Krahulec et al. 2008; Křišťálová et al. 2010; Rodrigues et al. 2008; Rotreklová 2004; Rotreklová et al. 2002, 2005; Šingliarová et al. 2011). Studií zabývajících se zjištěním rozmnožování rostlin pomocí cytoembryologie není mnoho např. u rodů *Hieracium* a *Pilosella* (Rosenberg 1907, 1927; Hand et al. 2015).

Studií zabývajících se procentem dobře vyvinutých semen na úbor v rodě *Hieracium* a *Pilosella* (např. Peckert a Chrtek 2006; Rodrigues et al. 2008) není mnoho. Práce Peckerta a Chrtka (2006) se zabývala druhem *Pilosella echioides* (Lumn.) F. W. Schultz et Sch. Bip. a práce Rodrigues et al. (2008) se zabývala druhy *Pilosella officinarum* F. W. Schultz et Sch. Bip. a *Pilosella piloselloides* (Vill.) Soják. U ostatních taxonů z jiných rodů je těchto studií také málo (např. Loughnan et al. 2014; Van Dijk 2007).

Hlavním cílem mé diplomové práce je zodpovědět následující otázky:

1) Tvoří diploidní taxony semena striktně pohlavně, nebo je zde přítomna fakultativní apomixie?

V rodě *Hieracium* nikdo nezkoumal ve větší míře způsob rozmnožování diploidních druhů. Na základě publikovaných embryologických prací a kastročnických experimentů předpokládám (vyz výše), že většina diploidních rostlin bude tvořit semena striktně sexuálně.

2) Tvoří polyploidní taxony semena striktně nepohlavně, nebo je zde přítomna fakultativní apomixie?

V rodě *Hieracium* nikdo nezkoumal ve větší míře způsob rozmnožování polyploidních druhů. Na základě publikovaných embryologických prací a kastročnických experimentů (viz výše) předpokládám, že většina polyploidních rostlin bude tvořit semena striktně apomikticky.

3) Liší se počet všech semen na úbor (tzv. potenciální seed set) a procento dobře vyvinutých semen na úbor (tzv. realizovaný seed set) mezi diploidními pohlavně se rozmnožujícími a polyploidními nepohlavně se rozmnožujícími rostlinami?

Předpokládám, že potenciální seed set bude větší u apomiktických polyploidů, protože u nich může hrát velkou roli efekt polyploidizace.

Předpokládám, že realizovaný seed set bude větší u apomiktických polyploidů než u sexuálních diploidů, protože apomiktické polyploidní rostliny jsou na rozdíl od sexuálních diploidních rostlin nezávislé od kompatibilních partnerů a přítomnosti aktivních opylovačů.

4) Liší se variabilita realizovaného seed setu mezi sexuálními diploidními a asexuálními polyploidními rostlinami?

Předpokládám, že v důsledku větší míry stochasticity u sexuálních diploidů (přítomnost a aktivita opylovačů, přítomnost kompatibilních partnerů) budou sexuální diploidi více variabilní. Budou mít větší rozptyl než apomiktické rostliny.

Uvědomuji si však, že v příznivém roce a ve velké populaci nemusí být diploidně pohlavně se rozmnožující rostliny limitovány nedostatkem opylovačů a také nedostatkem kompatibilních partnerů. Výsledný průměrný seed set ale i variabilita v rámci seed setu u sexuálů se tedy nemusí lišit od apomiktů. Uvědomuji si také, že seed set u diploidů a polyploidů může být ovlivněn i jinými faktory, nežli způsobem rozmnožování např. živinami, klimatem (mikroklimatem), škůdci nebo přítomností fakultativní apomixie a poruchami při vzniku semene.

2 Materiál a metodika

Metodická část diplomové práce zahrnuje čtyři části – sběr semen, stanovení procenta dobrých semen na úbor (v anglické literatuře se používá pro tento znak výraz seed set), stanovení ploidie a způsobu reprodukce rostlin pomocí průtokové cytometrie a statistické vyhodnocení dat. Na následujících stránkách jsou tato témata podrobně popsána.

2.1 Sběr semen

Populace 52 taxonů rodu *Hieracium* jsme sbírali v roce 2014 a 2015 po celé Evropě. Z nich jsme 9 populací v těchto letech navštívili opakovaně. Druh *Hieracium alpinum* jsme sbírali na základě předem vybraných lokalit proporcčně pokrývajících většinu areálu druhu v rámci projektu GAČR (14-02858S) (Obr. 7) a ostatní taxony (celkem 51) jsme sbírali extenzivně a více méně náhodně, jak při sběru *H. alpinum*, tak i při jiných terénních exkurzích. Množství lokalit u ostatních taxonů se proto různilo a kolísalo od 1 po 16 za taxon (Obr. 8). Samotný sběr semen byl odlišný pro *H. alpinum* i pro ostatní taxony *Hieracium*. Nejdříve budu popisovat sběr semen pro *H. alpinum* a poté pro ostatní druhy.

U druhu *Hieracium alpinum* jsme v každé populaci sbírali zralé (plně vyvinutá, otevřená a zpravidla úplná tzn. nevypadaná semena z úboru) úbory z 30 rostlin v populaci, pokud to bylo možné. Bylo-li to možné, sbírali jsme úbory ve dvou na sebe kolmých lineárních transektech (každý se stejným počtem rostlin) a s 2 m jako minimální vzdálenosti mezi rostlinami. V případě, že na lokalitě bylo více rostlin se zralými úbory, sbírali jsme často i tyto rostliny, ale v tom případě mimo transektu. Jednotlivé zralé úbory jsme sbírali do samostatných papírových sáčků, které jsme označili číslem populace a jedince a tyto jsme poté dávali do jednoho většího papírového sáčku, který označoval danou populaci. Sáčky se semeny jsme následně, kvůli případnému dozrání, ponechali při pokojové teplotě (20 - 25°C) a v suchu po dobu jednoho měsíce. Posléze jsme je uchovávali při teplotě cca 4 °C v ledničce. Tento přístup jsme zvolili jednak proto, aby embrya v semenech nespotřebovávala tak rychle endosperm, který je nutný při následné analýze semen průtokovou cytometrií (dále jen „FCM“) na zjištění způsobu rozmnožování (Matzk et al. 2000) a také kvůli navazujícímu

experimentu v rámci projektu GAČR, na který bylo potřebné pěstovat semenáčky z vyklíčených semen.

Sběr semen pro ostatní taxony rodu *Hieracium* jsme prováděli méně intenzivně než u *H. alpinum*. Většinou jsme sbírali úbory z alespoň 5 rostlin z populace, přičemž jsme se snažili zachovávat minimální vzdálenost 2 m mezi rostlinami. Samotný sběr jsme prováděli náhodně. Když byla na lokalitě přítomna jen jedna rostlina se zralými úbory (úborem), tak jsme sbírali i tu. Počet rostlin kolísal od 1 po 29 za populaci a taxon. Na rostlinu jsme sbírali 1 až 9 úborů a to v závislosti od počtu úborů se zralými úbory na rostlinu. Když bylo více úborů vhodných na sběr, snažili jsme sbírat 2 - 4 úbory na rostlinu. Daný sběr závisel jednak od druhu (například - *Hieracium alpinum* je zpravidla jednoúborný, opačný extrém je druh *H. umbellatum* s počtem úborů několik desítek), a jednak od fenologie - od počtu zralých úborů v době sběru. Další postup při sběru semen a uchovávání byl shodný jako u druhu *H. alpinum*.

Druhy, případně skupinové druhy (s. l.) rodu *Hieracium* s. str. včetně *H. alpinum* byly určovány (revidovány) P. Mrázem, J. Chrtkem, J.-M. Tisonem a E. Di Gristinou. V mnohých případech tak jeden skupinový druh (okruh) může obsahovat více mikrospecií (např. *H. murorum* s. l.). Dokladový materiál (zpravidla 2-3 rostliny za taxon a populaci) je uložen v herbáři Univerzity Karlovy v Praze (PRC).

2.2 Stanovení procenta dobrých semen na úbor (seed set)

Každý úbor se semeny jsme počítali samostatně. Ačkoliv jsme semena sbírali na první pohled z nepoškozených úborů, při podrobném pozorování semen jsme zjistili, že nemalé procento úborů bylo částečně poškozeno herbivorním hmyzem, zejména larvami vrtulovitých (*Tephritidae*), případně jiným hmyzem (např. mšicemi). V tom případě jsme tento hmyz odebrali do eppendorfky pro taxonomické určení a jejich přítomnost v úboru zapsali. Poté jsme semena rozdělili do 7 kategorií (viz následující charakteristika) na základě velikosti, barvy semen, přítomnosti embrya a známky herbivorie na semenech.

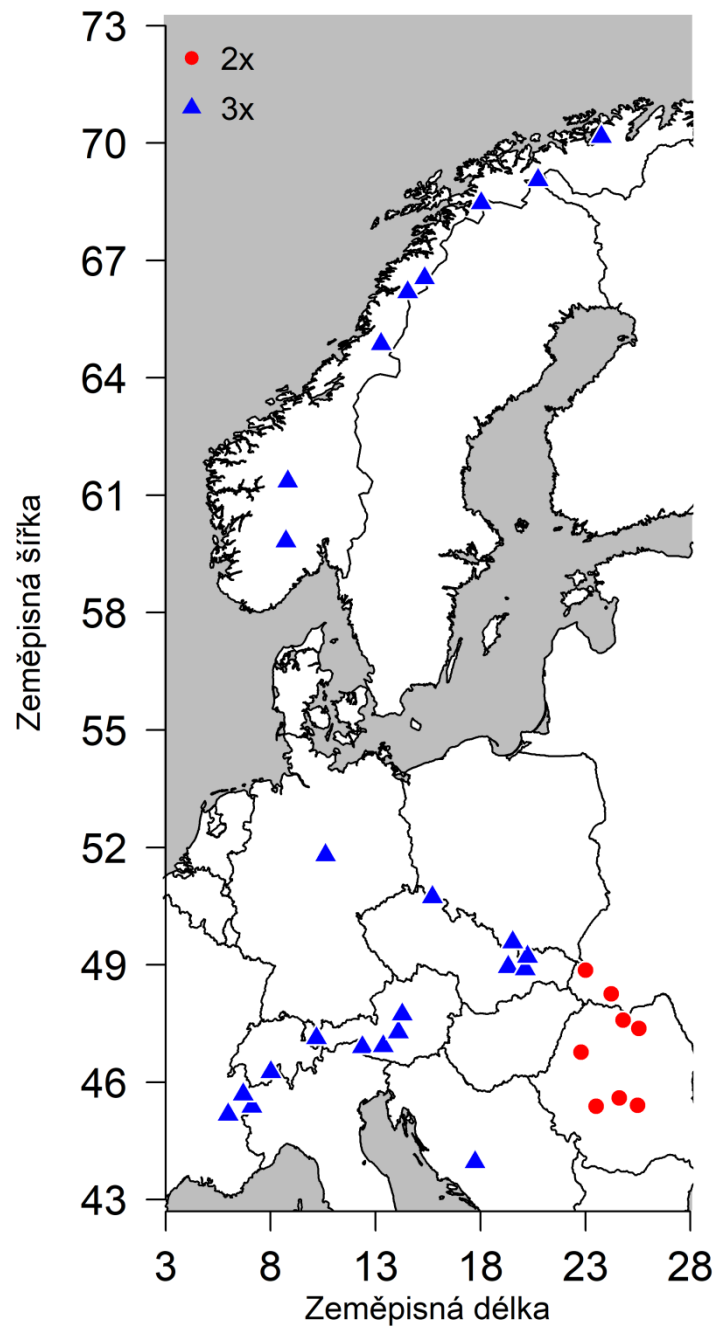
Charakteristika jednotlivých kategorií semen (viz též Obr. 9)

- A. **dobře vyvinutá semena normální velikosti** (pracovní zkratka 'germ seeds') – okolo 4 mm dlouhá s výjimkou chmýru; plná (obsahovaly embryo); barva semen černá, hnědá, cihlová nebo béžová.
- B. **dobře vyvinutá semena menší velikosti** (pracovní zkratka 'small seeds') – nanejvýš 2,5 mm dlouhá s výjimkou chmýru (o polovinu nebo více kratší než semena z kategorie A); plná (obsahovaly embryo); barva semen černá, hnědá, cihlová nebo béžová.
- C. **nevyzrálá semena** (pracovní zkratka 'immature seeds') – okolo 4 mm dlouhá s výjimkou chmýru; plná (obsahovaly embryo); barva semen hnědá, cihlová nebo béžová (nikdy černá)*.
- D. **malá nevyvinutá semena** (pracovní zkratka 'early aborted seeds') – 0,5–2(–4) mm dlouhá s výjimkou chmýru; prázdná (neobsahovaly embryo); barva semen různých odstínů od světle hnědé až do bílé.
- E. **velká nevyvinutá semena** (pracovní zkratka 'late aborted seeds') – okolo 4 mm dlouhá s výjimkou chmýru, prázdná (neobsahovaly embryo); barva semen černá, hnědá (nikdy světlá), cihlová nebo béžová.
- F. **napadená malá asi nevyvinutá semena** (pracovní zkratka 'contested herb. early aborted seeds') – 0,5–2(–4) mm dlouhá s výjimkou chmýru; prázdná (neobsahovaly embryo); barva semen různých odstínů od světle hnědé až do bílé; semena napadená herbivory (např. viditelné otvory v semeni, ukousnutá semena nebo povrch semen poškozen).
- G. **napadená asi vyvinutá semena normální velikosti** (pracovní zkratka 'contested herb. seeds') – okolo 4 mm dlouhá s výjimkou chmýru; plná nebo prázdná; barva semen černá, hnědá, cihlová nebo béžová; semena napadená herbivory (např. viditelné otvory v semeni, ukousnutá semena nebo povrch semen poškozen).

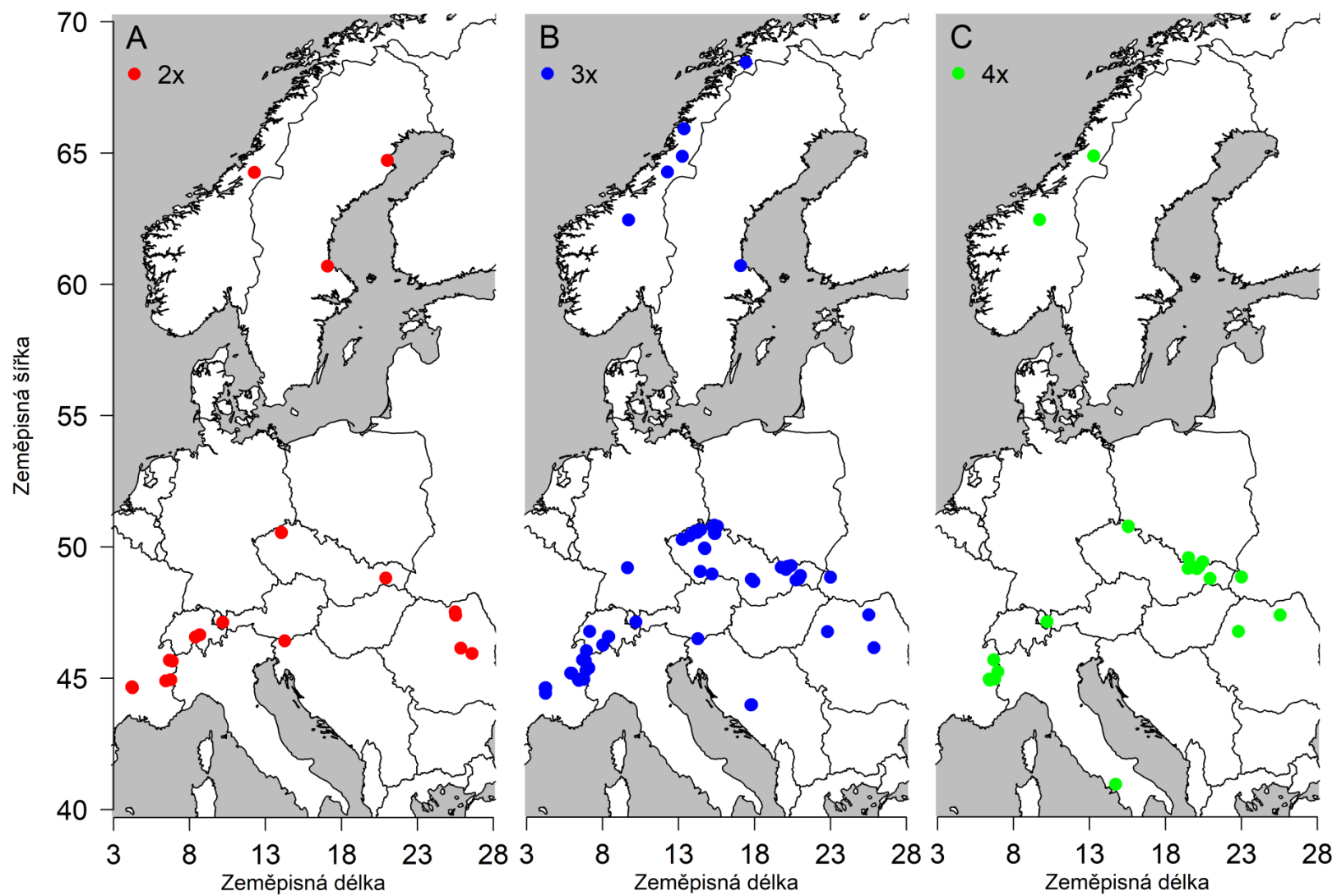
Vysvětlivky:

* – rozdělení semen na kategorie A a C bylo jen v případě, že v jednom úboru se nacházeli plná semena různých barev bez přechodů mezi nimi.

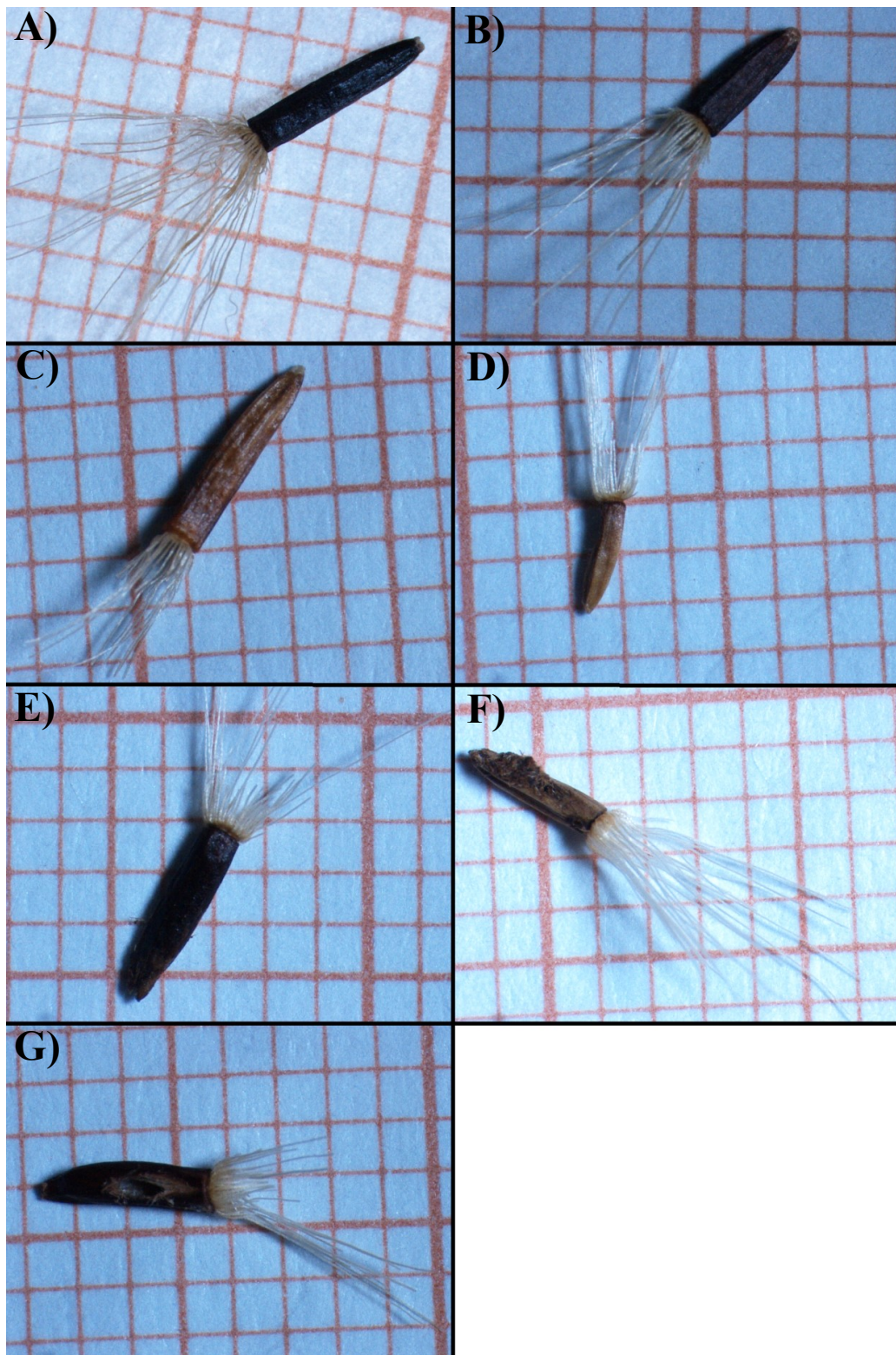
Potenciální seed set byl stanoven jako celkový počet semen v úboru bez ohledu na stav semen. Pro jeho stanovení jsme sloučili následující kategorie: A + B + C + D + E + F + G. Realizovaný seed set byl stanoven jako procento dobře vyvinutých všech semen na úbor. Pro jeho stanovení jsme sloučili předchozích 7 kategorií do dvou: (1) na semena obsahující embryo tzv. plná semena (A + B + C) a (2) semena prázdná, která embryo neobsahovala (D + E). Úbory, kde se nacházely kategorie napadených semen (tzn. F + G), u kterých jsme nezjišťovali obsah embrya, jsme nezahrnovali do realizovaného seed setu. Každé semeno jsme s výjimkou napadených semen stlačili pomocí jehly, abychom zjistili, jestli semeno obsahuje embryo či nikoli. Tento postup jsme ověřili pomocí FCM, která potvrdila rozdělení semen na dané kategorie. Semena, která byla při mechanickém stlačení jehlou tvrdá (tzn. plná s embryem) při ověření FCM obsahovala nedegradovaná jádra embrya a endospermu, která byla detekovaná ve formě píků. Naopak semena, která byla při mechanickém stlačení jehlou měkká (tzn. prázdná), při ověření FCM neobsahovala jádra (v elektroforegramu nebyl vidět žádný pík kromě standardu). Pro každou kategorii semen jsme analyzovali cca 50 semen od 10 různých rostlin, pokud to bylo možné. Pro rutinní stanovení ploidie a způsobu rozmnožování jsme z každého úboru odebrali, když to bylo možné, po 5 semenech z kategorie A. Pokud daná kategorie neobsahovala potřebné množství semen, tak jsme odebrali semena z dalších kategorií a to B nebo C.



Obr. 7 Diploidní (2x) a triploidní populace (3x) lokalit sběrů semen druhu *Hieracium alpinum*, ze kterých byly sbírané vzorky semen za účelem stanovení seed setu a způsobu reprodukce (upraveno dle Hartmanna et al. nepublikováno).



Obr. 8 Lokality sběrů semen taxonů rodu *Hieracium* s. str. (kromě *H. alpinum*), ze kterých byly sbírané vzorky semen za účelem stanovení seed setu a způsobu reprodukce. - A) diploidní populace (2x); B) triploidní populace (3x); C) tetraploidní populace (4x).



Obr. 9 Kategorie semen (obrázky taxonu *Hieracium alpinum* z populací sbíraných v roce 2014) – dobře vyvinutá semena normální velikosti, vzorek H20_20 (A), dobře vyvinutá semena menší velikosti, vzorek S3b_25 (B), nevyzrálá semena, vzorek H3_4 (C), malá nevyvinutá semena, vzorek H20_20_C1-2 (D), velká nevyvinutá semena, vzorek H20_20_C1-2 (E), napadená malá nevyvinutá semena vzorek H20_20_C1-2 (F) a napadená dobře vyvinutá semena normální velikosti, vzorek H99_6 (G). Velikost nejmenšího čtverečku na pozadí je 1×1 mm.

2.3 Stanovení ploidie a způsobu reprodukce za pomoci průtokové cytometrie

Průtoková cytometrie se zabývá měřením optických vlastností částic v pohybu za pomoci fluorescence. Principem průtokové cytometrie je detekce fluorescenčního signálu ze studovaného vzorku. U fluorescenčního barviva (fluochromu) je nutné, aby specificky barvil jen určité částice (např. buňky) a množství barviva bylo přímo úměrné množství DNA ve vzorku. Poté se obarvený vzorek může měřit. Při ozáření barviva světlem vhodné vlnové délky, dojde k excitaci elektronu barviva. Tento stav není stabilní a posléze se elektrony opět vrací zpět na svoji původní energetickou dráhu. Při tomto procesu elektron uvolňuje energii ve formě tepla a světla (fluorescence). Kvůli tomu, že část energie se uvolňuje ve formě tepla, má vyzařované světlo jinou vlnovou délku než původní při ozařování barviva. Pomocí filtrů lze obě záření oddělit. Rozdílem těchto vlnových délek lze pomocí průtokového cytometru měřit fluorescenci (Suda 2005).

Pro analýzu ploidie semen a listů (materiál z herbářových položek nebo z pěstovaných semenáčků (výsev většinou ze semen z kategorie A)) jsme použili dvoukrokový postup (Otto 1990, Doležel & Göhde 1995) přípravy vzorku. Nejdříve jsme si připravili extrakční pufr Otto I, barvicí pufr Otto II a zásobní roztok DAPI. Extrakční pufr Otto I jsme připravili rozpuštěním kyseliny citronové monohydrátu 0,1 M (4,2 g) s destilovanou vodou (cca 170 ml) a Tween 20 (1 ml), což je detergent umožňující rozpouštění buněčné membrány (le Maire et al. 2000). Takto připravený pufr jsme doplnili destilovanou vodou na celkový objem 200 ml a skladovali v lednici. Barvicí pufr Otto II jsme připravili rozpuštěním $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 0,4 M (28,65 g) s destilovanou vodou (cca 170 ml). Po rozpuštění (po 30 minutách) jsme doplnili pufr destilovanou vodou na celkový objem 200 ml a skladovali za pokojové teploty. Zásobní roztok DAPI (0,1 mg/ml) jsme připravili rozpuštěním DAPI (10 mg) s destilovanou vodou (50 ml). Po rozpuštění jsme doplnili zásobní roztok destilovanou vodou na celkový objem 100 ml. Po přípravě pufrů a zásobního roztoku jsme připravili barvicí roztok. Ten jsme připravili smícháním pufru Otto II (25 ml), 2-merkapt ethanolu (50 μl) a zásobního roztoku DAPI (1 ml). Jako standard jsme použili listy druhu *Bellis perennis* ($2C = 3,59 \text{ pg}$) (měření oproti hrachu *Pisum sativum* cv. Ctirad, P. Mráz, nepublikováno) sbíraného v areálu BZ UK v Praze. Do plastové Petriho misky jsme přidali 500 μl vychlazeného pufru Otto I., 5 semen a 0,3 cm^2 pletiva listu *Bellis perennis*. Poté jsme vše společně nasekali žiletkou tak, aby každé semeno bylo rozsekané aspoň na jednu polovinu. Suspenzi jsme přefiltrovali přes filtr 42 μm (textilie Uhelon 130T) a přefiltrovanou suspenzi jsme zkontrolovali, zda neobsahuje nečistoty a

ponechali jsme 3 minuty stát. Poté jsme do suspenze přidali 900 µl barvicího roztoku a daný vzorek jsme vložili do přístroje Partec Cyflow, jenž byl vybaven rtuťovou HBO lampou. Samotné měření jsme prováděli rychlostí 10-30 částic za sekundu na celkový počet 3000 částic. Koeficient variance (dále jen „CV“) píků pro standard byl v rozmezí 1,38 – 6,04 % s průměrnou hodnotou 3,08 %. CV píků u měřených vzorků byl u embryí v rozmezí 0,88 – 6,04 % s průměrnou hodnotou 3,12 %, u endospermu v rozmezí 0,39 – 6,06 % s průměrnou hodnotou 2,54 %, u listů (materiál z herbářových položek) 2,79 – 3,63 % s průměrnou hodnotou 3,16 %, a u semenáčků 1,73 – 3,74 % s průměrnou hodnotou 2,32 %. Úroveň ploidie vzorků byla odvozena jako relativní pozice vzorku G1 píku k standardu.

Stupeň ploidie a způsob rozmnožování jsme zjišťovali na 5 semenech z každého úboru. Při prvních měřeních 242 úborů pocházejících z 121 rostlin jsme u druhu *Hieracium alpinum* rozdělili 5 semen pocházejících z jednoho úboru na 2 vzorky (po 2 a 3 semenech). Při tomto způsobu jsme mohli velmi lehce zjistit poměr případné směsi semen o různé ploidii (iniciální analýzy se 2x semeny *H. alpinum* a 3x nebo 4x semeny *H. nigrescens* s. l.). U prvně analyzovaných vzorků jsme žádnou variabilitu v ploidii nezjistili, proto jsme následně přistoupili k měření zbývajících vzorků, kde každá obsahovala 5 semen ze stejného úboru. U malého procenta vzorků se stalo, že ve výsledném histogramu namísto očekávaných 3 píků (standard, embryo a endosperm) jsme zjistili píků více nebo píky embrya a endospermu byly výškově shodné. U těchto vzorků jsme následně měřili další semena individuálně abychom zjistili možnou variabilitu v ploidii a v rozmnožování semen v rámci jednoho úboru (Matzk et al. 2000) nebo přítomnost G2 fáze embrya nebo endospermu.

V diploidní populaci C2 u druhu *H. alpinum* jsme u dvou rostlin z 28 zjistili, že dvě rostliny produkovaly semena s triploidním embryem a hexaploidním endospermem. Při dodatečné revizi herbářových položek těchto rostlin jsme zjistili, že dané rostliny byly chybně určené jako *H. alpinum*. Revize a cytometrická analýza herbářových položek prokázala, že se jedná o triploidní rostliny *H. nigrescens* s. l.

U taxonů *H. amplexicaule* L., *H. macilentum* s. l., *H. nigrescens* s. l. a *H. rapunculoides* Arv.-Touv. jsme zjistili, že některé rostliny u těchto taxonů produkují v jednom úboru semena, která mají dva typy ploidie. Po tomto zjištění jsme část semen z úborů s variabilitou z kategorie A vyseli. Ploidii semenáčků jsme zjistili také průtokovou cytometrií.

2.4 Statistické vyhodnocení dat

Porovnávali jsme potenciální a realizovaný seed set mezi dvěma reprodukčními systémy (sexuální a asexuální) u taxonů z přírodních populací. Dále jsme porovnávali oba seed sety mezi různými reprodukčními systémy u různých taxonů, které rostly na společné lokalitě. Tato analýza má výhodu v tom, že na společné lokalitě mají všechny taxony, které zde rostly, stejné podmínky k životu (např. klimatické) a tyto podmínky by tedy neměly mít vliv na výsledný seed set. Dále jsme porovnávali oba seed sety mezi různými reprodukčními systémy u stejného druhu. U druhu *Hieracium alpinum* jsme porovnávali oba seed sety mezi přírodními populacemi a také u pěstovaných rostlin ze skleníku. Vliv ploidie (způsob reprodukce) na potenciální a realizovaný seed set jsme testovali pomocí lineárních smíšených modelů (LMMs) a *lme* funkce v {nlme} balíčku (Pinheiro et al. 2017) v prostředí R (R Development Core Team 2016). Modely zahrnovaly potenciální (transformované odmocniny) a realizovaný (transformované odmocniny) seed set za úbor jako závislé proměnné a ploidie nebo způsob rozmnožování jako vysvětlující proměnné. Populace jsme považovali za náhodně proměnné. Vzhledem k tomu, že data, a to jednak na mezipopulační úrovni a jednak na úrovni vysvětlující proměnné, byly rozděleny značně nehomogenně, rozdíly v jejich rozptylu byly korigovány funkcí *varIdent* v {nlme} pro různé úrovně rozptylu mezi ploidiemi a mezi populacemi. Jelikož u druhu *Hieracium alpinum* vykopání rostlin, u nichž ještě nebyly úbory úplně zralé, a také napadení úborů škůdci měly výrazné negativní vlivy na realizovaný seed set, tyto rostliny a úbory jsme odstranili z finálních analýz. U ostatních taxonů mělo někdy napadení úborů škůdci výrazné negativní vliv na potenciální a/nebo realizovaný seed set, tak jsme tyto rostliny a úbory odstranili z finálních analýz.

Dále jsme porovnávali proměnné u obou seed setů mezi rostlinami z mateřských rostlin druhu *H. alpinum*, které byly odebrány z přírodních populací a byly použity na pěstování potomstva pro skleníkový experiment. Cílem experimentu bylo testovat vliv rostlinného původu (přírodní populace versus skleník) a jejich interakce s ploidií a způsobu rozmnožování. Skleníkový experiment simuluje populaci s malým počtem jedinců a s omezeným přístupem opylovačů. Vzhledem k velmi nevyváženému poměru, které zahrnovalo na jedné straně pouze jednu rostlinu z přírodní populace a na straně druhé až šest kvetoucích rostlin (opakování) z mateřské rostliny ze skleníkového experimentu, jsme zprůměrovali potenciální a realizovaný seed set na jednu rostlinu pro rostliny ze skleníku. Použili jsme LMM s pomocí funkce *lmer* s funkcí identity odkazu pro normálně distribuovaná data a test

poměru pravděpodobnosti (LRT = porovnání s modelem obsahujícím testovanou proměnou a modelem bez této proměné), test vlivu ploidní úrovně, původ rostlin (přírodní populace versus skleníky) a jejich interakce. Také jsme použili LMM a *lme* funkci pro testování vlivu způsobu rozmnožování, původu rostlin a jejich interakce na realizovaný seed set. V posledně jmenovaném modelu jsme vzhledem k různé úrovni rozptylu mezi ploidiemi a populacemi použili *varIdent* funkci, která bere do úvahy nehomogenní rozložení residuálů. Populace byly v modelu zahrnuty jako náhodné proměnné.

Nakonec jsme vypočítali variační koeficient u realizovaného seed setu jako údaj o variabilitě u sexuálních a asexuálních rostlin a také zvlášť pro data z přírodních populací a ze skleníku. Dále jsme vypočítali rozptyl také pomocí Fischerova testu, kdy jsme opět srovnávali mezi sebou sexuální a asexuální rostliny.

Grafickou část jsme zpracovali pomocí boxplotů (krabicových grafů).

3 Výsledky

3.1 Způsob rozmnožování

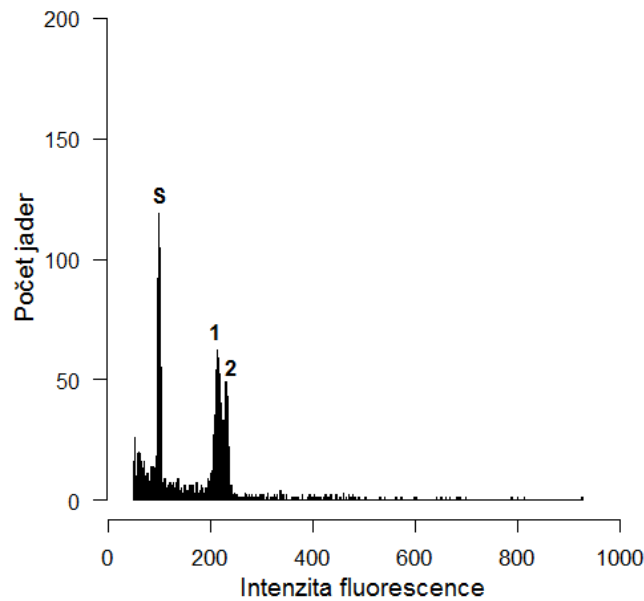
3.1.1 Způsob rozmnožování u druhu *Hieracium alpinum* L.

Ploidní úroveň potomstva semen a způsob reprodukce jsem analyzoval průtokovou cytometrií u 3 987 semen, které pocházely z 853 rostlin z 35 lokalit (Obr. 7). Průtokovou cytometrií jsem dále analyzoval 212 sazenic pocházejících ze 177 rostlin z 30 populací.

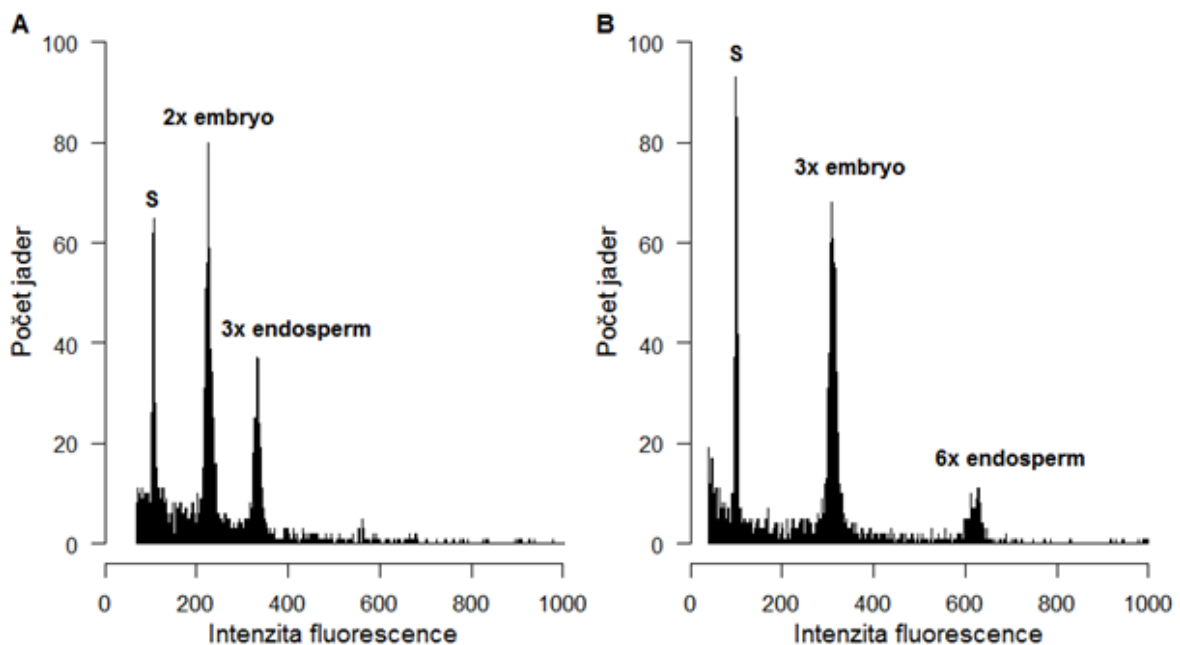
Ve vzorcích semen odebraných z populací z východních a jižních Karpat jsem našel pouze diploidní embrya s triploidním endospermem (Obr. 11A). Dané výsledky dokazují striktně pohlavní rozmnožování u diploidních rostlin druhu *Hieracium alpinum*. Také u 64 sazenic pocházejících z diploidních rostlin, jsem našel převážně diploidní potomstvo. Jenom u jedné sazenice byla zjištěna triploidní úroveň a dále u jedné sazenice (vzorek H57_11) pravděpodobně aneuploidní úroveň (semenáček nebyl karyologicky počítán). Ze vzorku, kde jsem našel aneuploidní úroveň, jsem vypočítal, že velikost genomu diploida je 7,84 pg DNA a aneuploida je 8,39 pg DNA. Aneuploidní semenáček by mohl odpovídat $2n = 19-20$ namísto $2n = 18$ (Obr. 10). Ostatní analyzované diploidní rostliny (celkem jsem analyzoval 3 986 semen) měly velikost genomu v rozmezí od 7,40 do 7,84 pg DNA a průměrně měly velikost genomu 7,61 pg DNA. Jeden triploidní semenáček, který vznikl na diploidní rostlině, pocházel z populace H57. Semenáček určil můj školitel za pomoci morfologie tvaru listů jako mezidruhového hybrida mezi diploidním *H. alpinum* a tetraploidním *H. nigrescens* s. l. vyskytujícím se na lokalitě *H. alpinum*. Je to první důkaz recentní heteroploidní hybridizace v rodě *Hieracium* s. str. v přírodě. Další dva mezidruhové křížence jsem našel v potomstvu sazenic *H. alpinum*, které pocházely z populace H57. Obě rostliny (vzorky H57_26_37 a H57_16_6) byly diploidní a určeny morfologicky opět mým školitelem jako *H. ×krasani*. Rostliny vznikly hybridizací s diploidním druhem *H. transsilvanicum*, který se také nachází na zmíněné lokalitě.

Ve vzorcích semen odebraných z ostatních částí Evropy jsem našel pouze triploidní embrya s hexaploidním endospermem (Obr. 11B). Výsledky ukazují striktně apomiktické

rozmnožování u triploidních rostlin tohoto druhu. U 148 vzorků sazenic pocházejících z triploidních rostlin jsem našel jen triploidní potomstvo.



Obr. 10 Histogram intenzity fluorescence jader embryí izolovaných z analyzovaných listů semenáčků druhu *Hieracium alpinum* a jader inertního standardu (S) izolovaných z listů *Bellis perennis*, společně analyzovány 3 semenáčky (vzorek H57_11), 1 = diploidní úroveň a 2 = pravděpodobně aneuploidní úroveň.



Obr. 11 Histogramy intenzity fluorescence jader embryí a endospermů izolovaných z analyzovaných semen druhu *Hieracium alpinum* a jader inertního standardu (S) izolovaných z listů *Bellis perennis*. - A) společně analyzovaných 5 semen s diploidním embryem a s triploidním endospermem, které vznikli sexuálním rozmnožováním (vzorek C002_15_C1); B) společně analyzovaných 5 semen s triploidním embryem a s hexaploidním endospermem, které vznikli striktně apomiktickým rozmnožováním (vzorek H102_22_C1).

3.1.2 Způsob rozmnožování u ostatních taxonů rodu *Hieracium* s. str.

Celkem jsem analyzoval průtokovou cytometrií 6 250 semen, které byly nasbírané z 921 rostlin z 137 populací pocházejících z 50 taxonů (viz příloha Tab. 2). Z těchto semen bylo 2 072 semen sbíráno z 268 rostlin z 28 populací, které pocházely z 11 diploidních taxonů a 4 178 semen sbíráno z 653 rostlin z 111 populací, které pocházely z 41 polyploidních (3x a 4x) taxonů. V rámci jedné rostliny měla semena téměř výhradně jednu ploidní úroveň embrya a také vznikla jedním typem rozmnožování. Semena s diploidním embryem obsahovala triploidní endosperm a vznikla sexuální cestou. Semena s triploidní embryem obsahovala hexaploidní endosperm a vznikla apomiktickou cestou. Semena s tetraploidním embryem obsahovala oktoploidní endosperm a vznikla apomikticky.

Všechny diploidní rostliny produkovaly diploidní embrya (semena), která vznikla výlučně sexuální cestou. Polyploidní rostliny produkovaly semena téměř výhradně apomikticky (4 168 semen, 99,8 %). Fakultativní apomixie byla zjištěna pouze u čtyř taxonů a to u *Hieracium amplexicaule*, *H. macilentum* s. l., *H. nigrescens* s. l. a *H. rapunculoides*. U daných taxonů jsem našel 16 semen (0,25 %), která vznikla sexuálně. Tyto odchylky jsou níže popsány podrobněji.

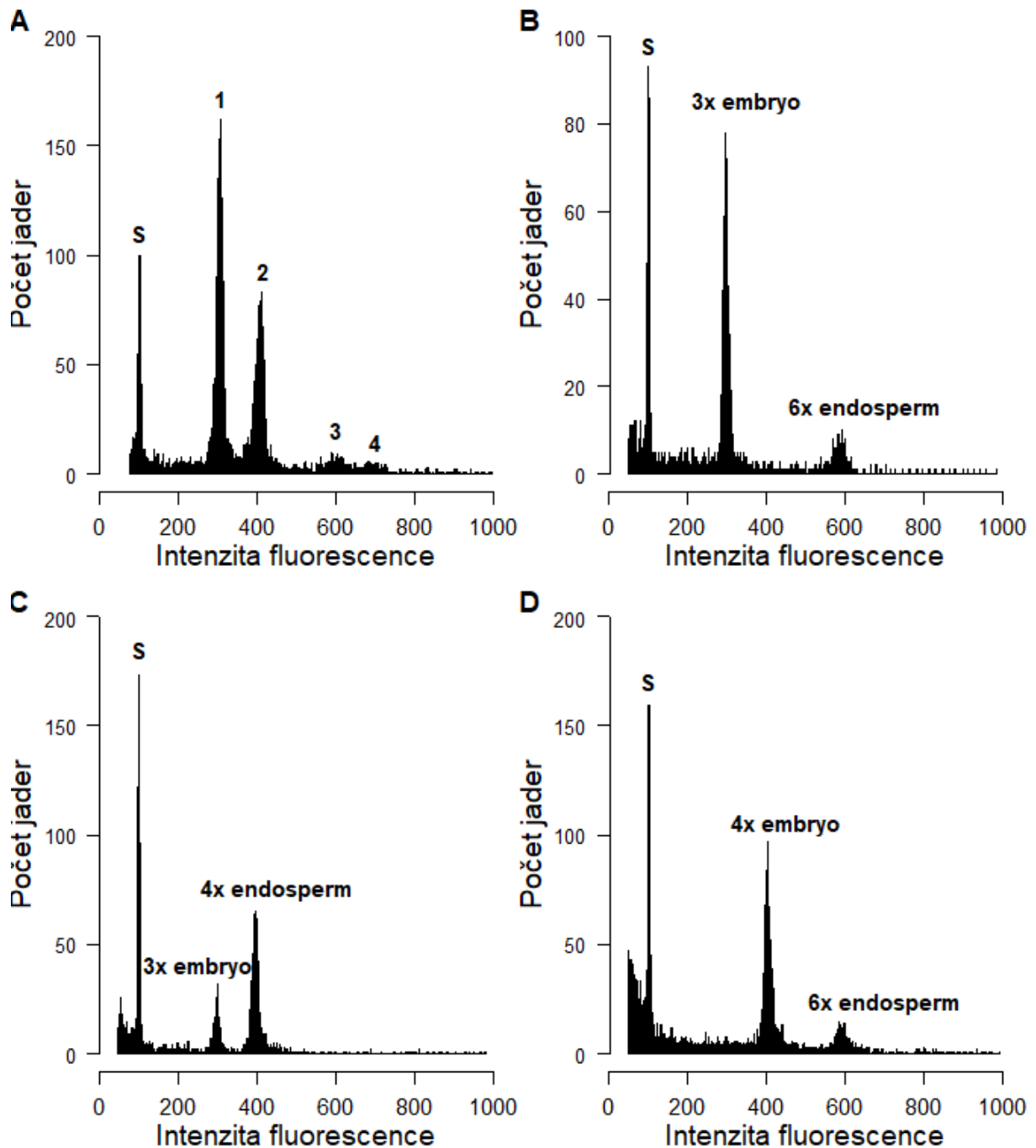
3.1.3 *Hieracium amplexicaule* L.

Analyzoval jsem 96 semen z 12 rostlin ze 3 populací. Ve vzorcích semen odebraných z populací jihozápadních Alp jsem našel většinou triploidní embryo s hexaploidním endospermem, která vznikla apomiktickou cestou.

Při analýze průtokovou cytometrií po 5 semenech u jedné rostliny (populace HAMPL_02 z jihozápadních Alp), namísto očekávaných 3 píků (standard, embryo a endosperm) jsem našel 5 píků (Obr. 12A). Předpokládám, že tři semena z této analýzy obsahovala triploidní embryo s hexaploidním endospermem, která vznikla striktně apomikticky jako většina semen této rostliny, ale také dvě semena s tetraploidním embryem (pravděpodobný vznik embrya: 3x (vaječná buňka) + 1x (pyl)) a s heptaploidním endospermem (pravděpodobný vznik endospermu: 6x (centrální jádro) + 1x (pyl)), která vznikla pohlavní cestou (Obr. 12A). Při kontrolní analýze po jednom semeni jsem našel opět semena s triploidním embryem a s hexaploidním endospermem, která vznikla striktně

apomikticky (Obr. 12B). Bohužel jsem nenalezl semena s tetraploidním embryem a s heptaploidním endospermem, ale jen jedno semeno s tetraploidním embryem (pravděpodobný vznik embrya: $2x$ (vaječná buňka) + $2x$ (pyl)) a s hexaploidním endospermem (pravděpodobný vznik endospermu: $4x$ (centrální jádro) + $2x$ (pyl)). Semeno tedy vzniklo spojením částečně redukované vaječné buňky (redukované z $3x$ na $2x$) a diploidního pylu (Obr. 12C). Dále jsem našel u téže rostliny jedno semeno s triploidním embryem (pravděpodobný vznik embrya: x (vaječná buňka) + $2x$ (pyl)) a s tetraploidním endospermem (pravděpodobný vznik endospermu: $2x$ (centrální jádro) + $2x$ (pyl)) (Obr. 12D). U daného vzorku byl pík endospermu vyšší než pík embrya. U 34 analyzovaných vzorků = 1,2 % (z celkového počtu 2 813 analyzovaných vzorků) jsem získal stejně vysoký nebo vyšší pík endospermu jako embrya. Tento efekt může být způsobený nevyvinutostí embrya. Analyzoval jsem pouze jednu rostlinu se dvěma úbory, protože v dané populaci nebylo sbíráno více rostlin. Celkem jsem u této rostliny analyzoval 16 semen a z nich 12 semen vzniklo sexuální cestou.

U 4 semen (4,2 % z celkového počtu 96 analyzovaných semen za druh) jsem zjistil, že vznikla sexuální cestou a zbylých 92 semen (95,7 %) vzniklo apomikticky.



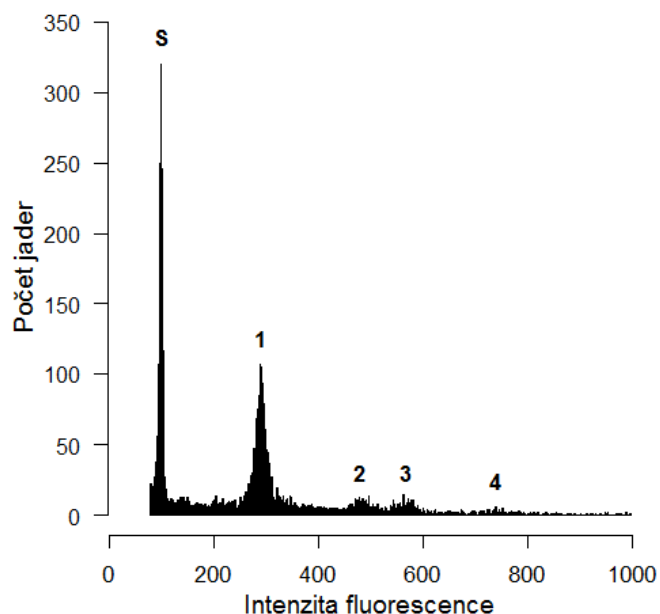
Obr. 12 Histogramy intenzity fluorescence jader embryí a endospermů izolovaných z analyzovaných semen druhu *Hieracium amplexicaule* a jader inertního standardu (S) izolovaných z listů *Bellis perennis*. - A) společně analyzováno 5 semen (vzorek HAMPL_02_1_2), 1 = triploidní embryo, 2 = tetraploidní embryo, 3 = hexaploidní endospermem a 4 = heptaploidní endospermem; B) analyzováno 1 semeno s triploidním embryem a s hexaploidním endospermem, které vzniklo apomikticky (vzorek HAMPL_02_1_2); C) analyzováno 1 semeno s triploidním embryem a s tetraploidním endospermem, které vzniklo sexuálně (vzorek HAMPL_02_1_1); D) analyzováno 1 semeno s tetraploidním embryem a s hexaploidním endospermem, které vzniklo sexuálně (vzorek HAMPL_02_1_2)

3.1.4 *Hieracium macilentum* s. l.

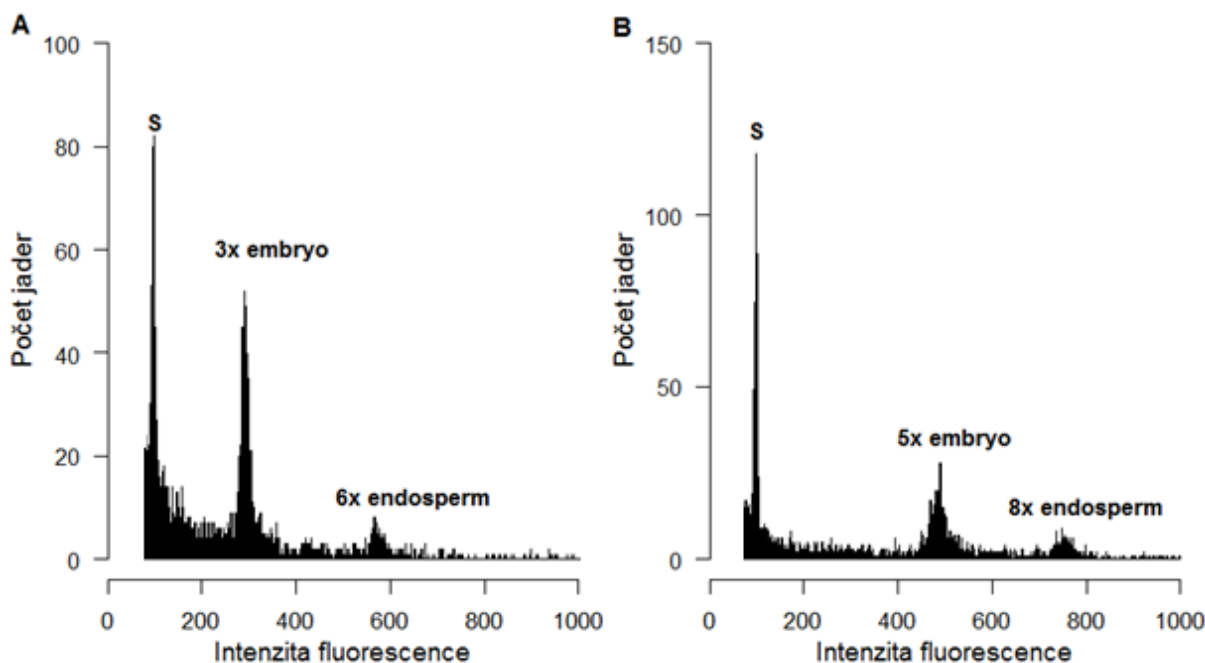
Celkem jsem analyzoval 47 semen z 9 rostlin z populace z Belianských Tater (HMACHI_s.l._01). Ve vzorcích semen jsem našel většinou triploidní embryo s hexaploidním endospermem, která vznikla apomiktickou cestou.

Při analýze průtokovou cytometrií po 5 semenech jsem u jedné rostliny v dané populaci našel 5 píků (Obr. 13). Předpokládám, že čtyři semena obsahovala triploidní embryo s hexaploidním endospermem, která vznikla apomikticky a také jedno semeno s pentaploidním embryem (pravděpodobný vznik embrya: 3x (vaječná buňka) + 2x (pyl)) a s oktoploidním endospermem (pravděpodobný vznik endospermu: 6x (centrální jádro) + 2x (pyl)), které vzniklo pohlavní cestou (Obr. 13). Při kontrolní analýze po jednom semeni jsem našel opět semena s triploidním embryem a s hexaploidním endospermem, která vznikla apomikticky (Obr. 14A) a jedno semeno opět s pentaploidním embryem a s oktoploidním endospermem (Obr. 14B). Celkem jsem u této rostliny analyzoval 7 semen a z nich 5 semen vzniklo sexuální cestou.

U 2 semen (4,3 % z celkového počtu 47 analyzovaných semen za taxon) jsem zjistil, že vznikla sexuální cestou a zbylých 45 semen (95,7 %) vzniklo apomikticky.



Obr. 13 Histogram intenzity fluorescence jader embryí a endospermů izolovaných z analyzovaných semen druhu *Hieracium macilentum* s. l. a jader inertního standardu (S) izolovaných z listů *Bellis perennis*, společně analyzováno 5 semen (vzorek HMACHI_s.l._01_7_1), 1 = triploidní embryo, 2 = pentaploidní embryo, 3 = hexaploidní endospermem a 4 = oktoploidní endospermem.



Obr. 14 Histogramy intenzity fluorescence jader embryí a endospermů izolovaných z analyzovaných semen druhu *Hieracium macilentum* s. l. a jader inertního standardu (S) izolovaných z listů *Bellis perennis*. - A) analyzováno 1 semeno s triploidním embryem a s hexaploidním endospermem, které vzniklo apomikticky (vzorek HMACI_s.l._01_7_1); B) analyzováno 1 semeno s pentaploidním embryem a s oktoploidním endospermem, které vzniklo sexuálně (vzorek HMACI_s.l._01_7_1).

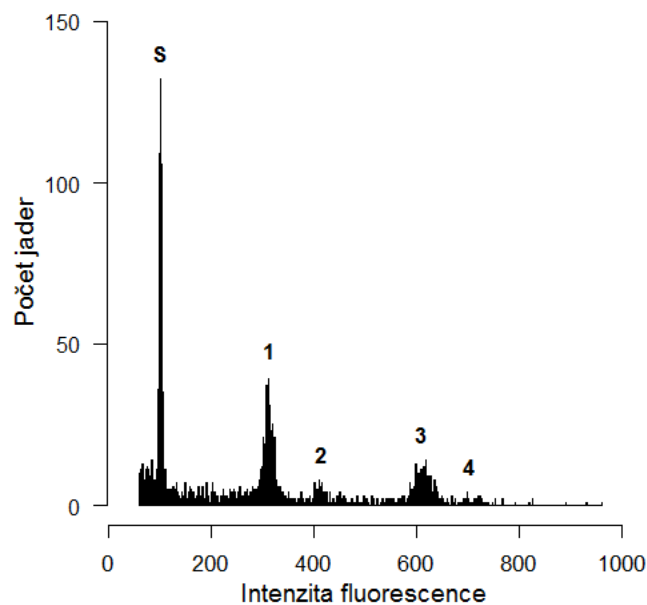
3.1.5 *Hieracium nigrescens* s. l.

Analyzoval jsem 205 semen z 48 rostlin, a to z 8 populací. Daný okruh druhů zahrnoval rostliny, které produkovaly semena s triploidním embryem a s hexaploidním endospermem, která vznikla apomiktickou cestou a také rostliny, které produkovaly semena s tetraploidním embryem a s oktoploidním endospermem, která vznikla opět apomikticky. Ve vzorcích semen odebraných ze sbíraných populací jsem našel většinou ploidní úroveň embrya a endospermu, která jsou popisovaná výše.

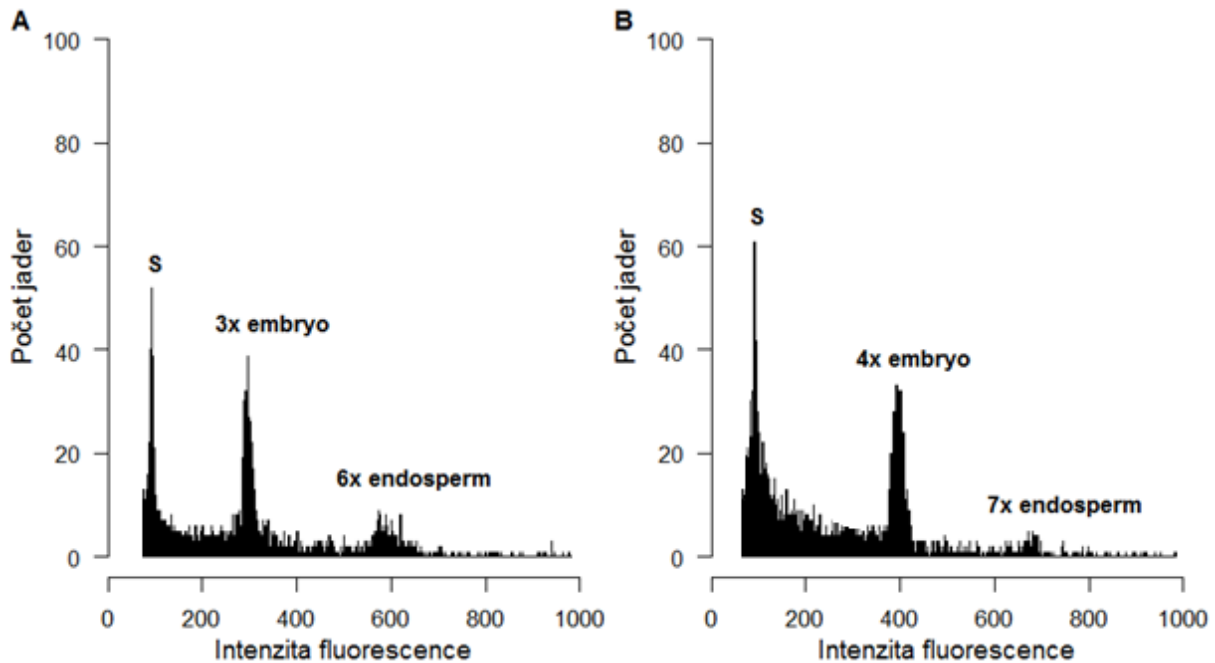
Pouze při analýze průtokovou cytometrií po 5 semenech u dvou rostlin (HNIGR_s.l._09_10 a HNIGR_s.l._09_11) v jedné populaci (HNIGR_s.l._09) namísto očekávaných 3 píků (standard, embryo a endosperm) jsem našel 5 píků (Obr. 15). Předpokládám, že čtyři semena obsahovala triploidní embryo s hexaploidním endospermem, která vznikla apomikticky a také jedno semeno s tetraploidním embryem (pravděpodobný vznik embrya: $3x$ (vaječná buňka) + x (pyl)) a s heptaploidním endospermem (pravděpodobný

vznik endospermu: $6x$ (centrální jádro) + x (pyl)), které vzniklo pohlavní cestou (Obr. 15). Při kontrolní analýze po jednom semeni jsem našel opět semena s triploidním embryem a s hexaploidním endospermem, která vznikla apomikticky (Obr. 16A) a tři semena opět s pentaploidním embryem a s oktaploidním endospermem (Obr. 16B). Celkem jsem u těchto dvou rostlin analyzoval 14 semen a z nich 10 semen vzniklo sexuální cestou.

U 4 semen (2,0 % z celkového počtu 205 analyzovaných semen za taxon) jsem zjistil, že vznikla sexuální cestou a zbylých 201 semen (98,0 %) vzniklo apomikticky.



Obr. 15 Histogram intenzity fluorescence jader embryí a endospermů izolovaných z analyzovaných semen druhu *Hieracium nigrescens* s. l. a jader inertního standardu (S) izolovaných z listů *Bellis perennis*, společně analyzováno 5 semen (vzorek HNIGR_s.l._09_11_1), 1 = triploidní embryo, 2 = tetraploidní embryo, 3 = hexaploidní endospermem a 4 = heptaploidní endospermem.



Obr. 16 Histogramy intenzity fluorescence jader embryí a endospermů izolovaných z analyzovaných semen druhu *Hieracium nigrescens* s. l. a jader inertního standardu (S) izolovaných z listů *Bellis perennis*. - A) analyzováno 1 semeno s triploidním embryem a s hexaploidním endospermem, které vzniklo apomikticky (vzorek HNIGR_s.l._09_11_1); B) analyzováno 1 semeno s tetraploidním embryem a s heptaploidním endospermem, které vzniklo sexuálně (vzorek HMACI_s.l._01_7_1).

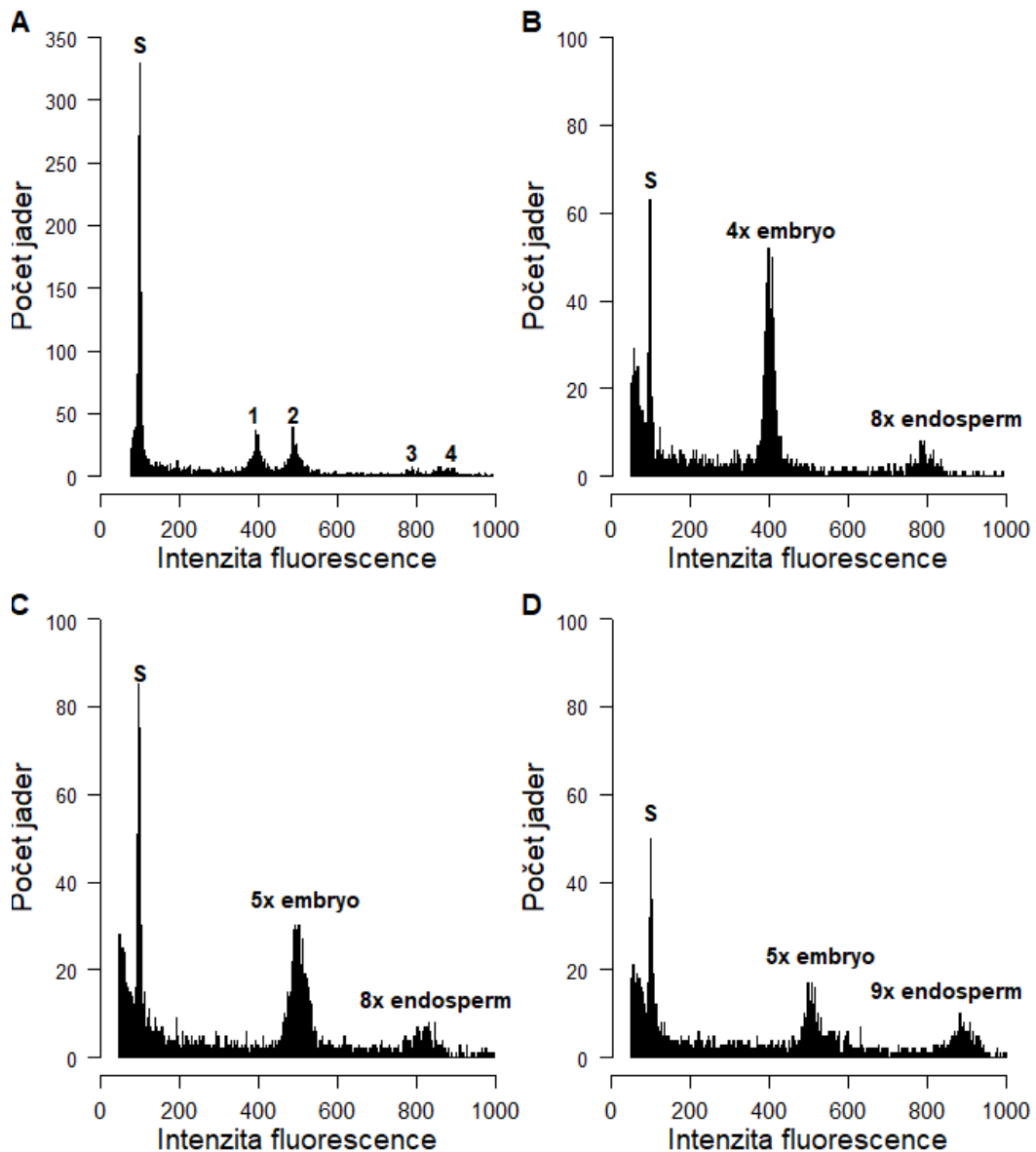
3.1.6 *Hieracium rapunculoides* Arv.-Touv.

Celkem jsem analyzoval 35 semen z 8 rostlin, a to u jedné populace (HRAPU_01), která byla sbírána v jihozápadních Alpách. Ve vzorcích semen odebraných z dané populace jsem našel většinou tetraploidní embryo s oktoploidním endospermem, která vznikla apomiktickou cestou.

Při analýze průtokovou cytometrií po 5 semenech u dvou rostlin (HRAPU_01_4_1 a HRAPU_01_6_1) jsem našel 5 píků (Obr. 17A). Předpokládám, že dvě semena obsahovala tetraploidní embryo s oktoploidním endospermem, která vznikla apomikticky, ale také tři semena s pentaploidním embryem (pravděpodobný vznik embrya: $4x$ (vaječná buňka) + x (pyl)) a s nonaploidním endospermem (pravděpodobný vznik endospermu: $8x$ (centrální jádro) + x (pyl)), která vznikla pohlavní cestou (Obr. 17A). Při kontrolní analýze po jednom semeni jsem našel opět semena s tetraploidním embryem a s oktoploidním endospermem, která vznikla apomikticky (Obr. 17B), dvě semena s pentaploidním embryem a s nonaploidním endospermem, která vznikla pohlavní cestou (Obr. 17D), ale také jedno semeno

s pentaploidním embryem (pravděpodobný vznik embrya: 3x (vaječná buňka) + 2x (pyl)) a s oktoploidním endospermem (pravděpodobný vznik endospermu: 6x (centrální jádro) + 2x (pyl)), které vzniklo opět pohlavní cestou (Obr. 17C). Celkem jsem u těchto dvou rostlin analyzoval 15 semen a z nich 9 semen vzniklo sexuální cestou.

U 6 semen (17,1 % z celkového počtu 35 analyzovaných semen za druh) jsem zjistil, že vznikla sexuální cestou a zbylých 29 semen (82,9 %) vzniklo apomikticky.



Obr. 17 Histogramy intenzity fluorescence jader embryí a endospermů izolovaných z analyzovaných semen druhu *Hieracium rapunculoides* a jader inertního standardu (S) izolovaných z listů *Bellis perennis*. - A) společně analyzováno 5 semen (vzorek HRAPU_01_4_1), 1 = tetraploidní embryo, 2 = pentaploidní embryo, 3 = oktoploidní endospermem a 4 = nonaploidní endospermem; B) analyzováno 1 semeno s tetraploidním embryem a s oktoploidním endospermem, které vzniklo apomikticky (vzorek HRAPU_01_4_1); C) analyzováno 1 semeno s pentaploidním embryem a s oktoploidním endospermem, které vzniklo sexuálním rozmnožováním (vzorek HRAPU_01_4_1); D) analyzováno 1 semeno s pentaploidním embryem a s nonaploidním endospermem, které vzniklo sexuálním rozmnožováním (vzorek HRAPU_01_4_1).

3.2 Potenciální a realizovaný seed set

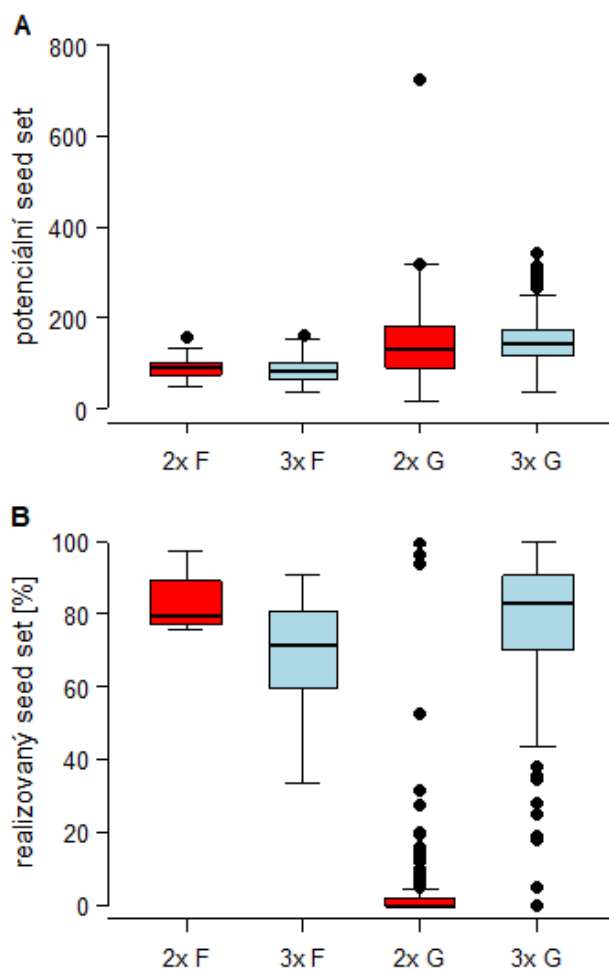
3.2.1 Potenciální a realizovaný seed set u druhu *Hieracium alpinum* L.

Celkem jsem spočítal 98 247 semen z 1 331 rostlin, které pocházely z 35 přírodních populací a také 84 708 semen, které pocházely ze 410 pěstovaných rostlin.

Potenciální seed set byl téměř stejný mezi sexuálními diploidními a apomiktickými triploidními rostlinami z přírodních populací (LMM: $t = -1,100$, $p = 0,278$; průměrný počet květů na úbor \pm SD: $2x - 70 \pm 31$ a $3x - 69 \pm 31$) a také mezi pěstovanými rostlinami ve skleníku (LMM: $t = 1,250$, $p = 0,227$; průměrný počet květů na úbor \pm SD: $2x - 141 \pm 74$ a $3x - 149 \pm 54$) (Obr. 18A). Původ rostlin měl statisticky významný vliv na velikost úboru (potenciální seed set), protože byl dvakrát vyšší u rostlin ze skleníku než u rostlin z přírodních populací (LMM: $\chi^2 = 74,99$, $p < 0,001$). Na druhé straně ploidie a její interakce s původem rostlin nebyly statisticky významné (LMM: $\chi^2 = 1\,319$, $p = 0,330$; $\chi^2 = 0,949$, $p = 0,499$).

Realizovaný seed set byl nepatrně vyšší u sexuálních diploidních než u apomiktických triploidních rostlin z přírodních populací (průměrné procento dobře vyvinutých semen na úbor \pm SD: $2x - 66,6 \pm 27,7$ % a $3x - 60,2 \pm 22,7$ %), ale tento rozdíl nebyl statisticky významný (LMM: $t = -0,546$, $p = 0,588$) (Obr. 18B). U pěstovaných rostlin ve skleníku s velmi omezenými podmínkami pro opylení byl výsledek realizovaného seed setu opačný. Reprodukční zabezpečení výrazně pokleslo u sexuálních diploidních rostlin na $3,1 \pm 11,2$ %, zatímco u asexuálních triploidních rostlin dosáhlo $79,4 \pm 16,3$ % (LMM: $t = 22,327$ $p < 0,001$) (Obr. 18B). Způsob reprodukce, původ rostlin (rostliny z přírodních populací versus rostliny ze skleníku) a jejich interakce významně vysvětluje rozdíly v realizovaném seed setu (LMM: $t = -3,416$, $p = 0,003$; $t = -22,178$, $p < 0,001$; $t = 19,196$, $p < 0,001$).

Rozptyl v realizovaném seed setu vyjádřený jako variační koeficient byl u sexuálních diploidů (CV = 41,6 %) vyšší než u asexuálních triploidů (CV = 37,7 %) v přírodních populacích. U pěstovaných rostlin byl tento rozptyl téměř 18-krát vyšší u sexuálních (CV = 366,4 %) než u asexuálních (CV = 20,5 %) rostlin. Dále jsem testoval rozptyl v realizovaném seed setu pomocí Fischerova testu. Rozptyl byl u sexuálních diploidů o 1,49x vyšší než u asexuálních triploidů v přírodních populacích ($F = 1,49$, $p < 0,001$).



Obr. 18 Potenciální (A) a realizovaný (B) seed set u druhu *Hieracium alpinum*, 2x F = diploidní rostliny z přírodních podmínek, 3x F = triploidní rostliny z přírodních podmínek, 2x G = diploidní pěstované rostliny ze skleníku a 3x G = triploidní pěstované rostliny ze skleníku. Potenciální seed set je vyjádřený jako počet květů na úbor a realizovaný seed set jako procento dobře vyvinutých semen na úbor.

3.2.2 Potenciální a realizovaný seed set u ostatních taxonů rodu *Hieracium* s. str.

Dohromady jsem spočítal 64 598 semen z 1 559 rostlin, které pocházely z 160 přírodních populací od 32 taxonů.

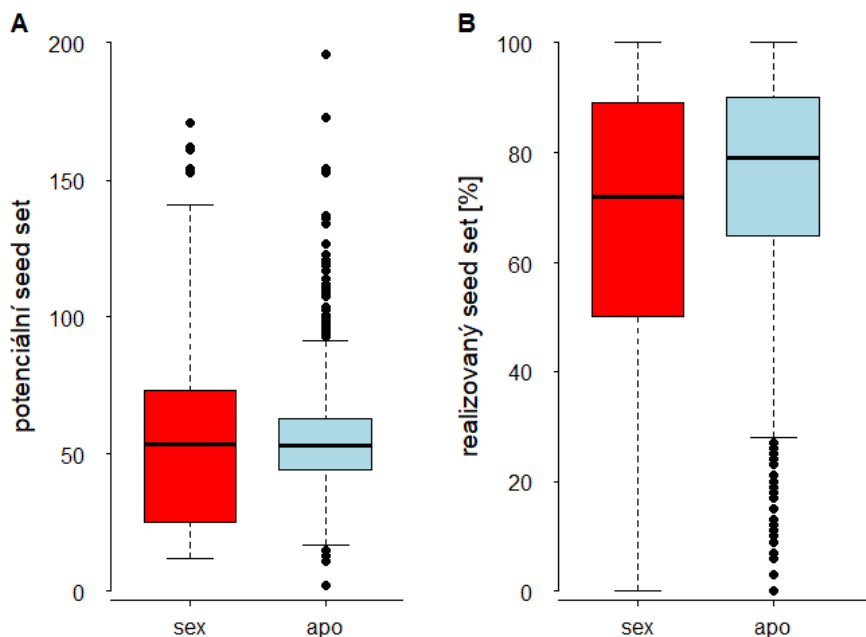
Potenciální seed set byl shodný mezi sexuálními diploidními a apomiktickými polyploidními (triploidními a tetraploidními) rostlinami (LMM: $t = -1,204$, $p = 0,236$; průměrný počet květů na úbor \pm SD: sex – 55 ± 33 a apo – 56 ± 22) (Obr. 19A).

Také jsem srovnával potenciální seed set mezi jednotlivými taxony v rámci stejné ploidní úrovně mateřské rostliny. Jednotlivé taxony se výrazně lišily v rámci stejné ploidní úrovně mateřské rostliny, tzn. že potenciální seed set je druhově specifický (Obr. 20A). Největší

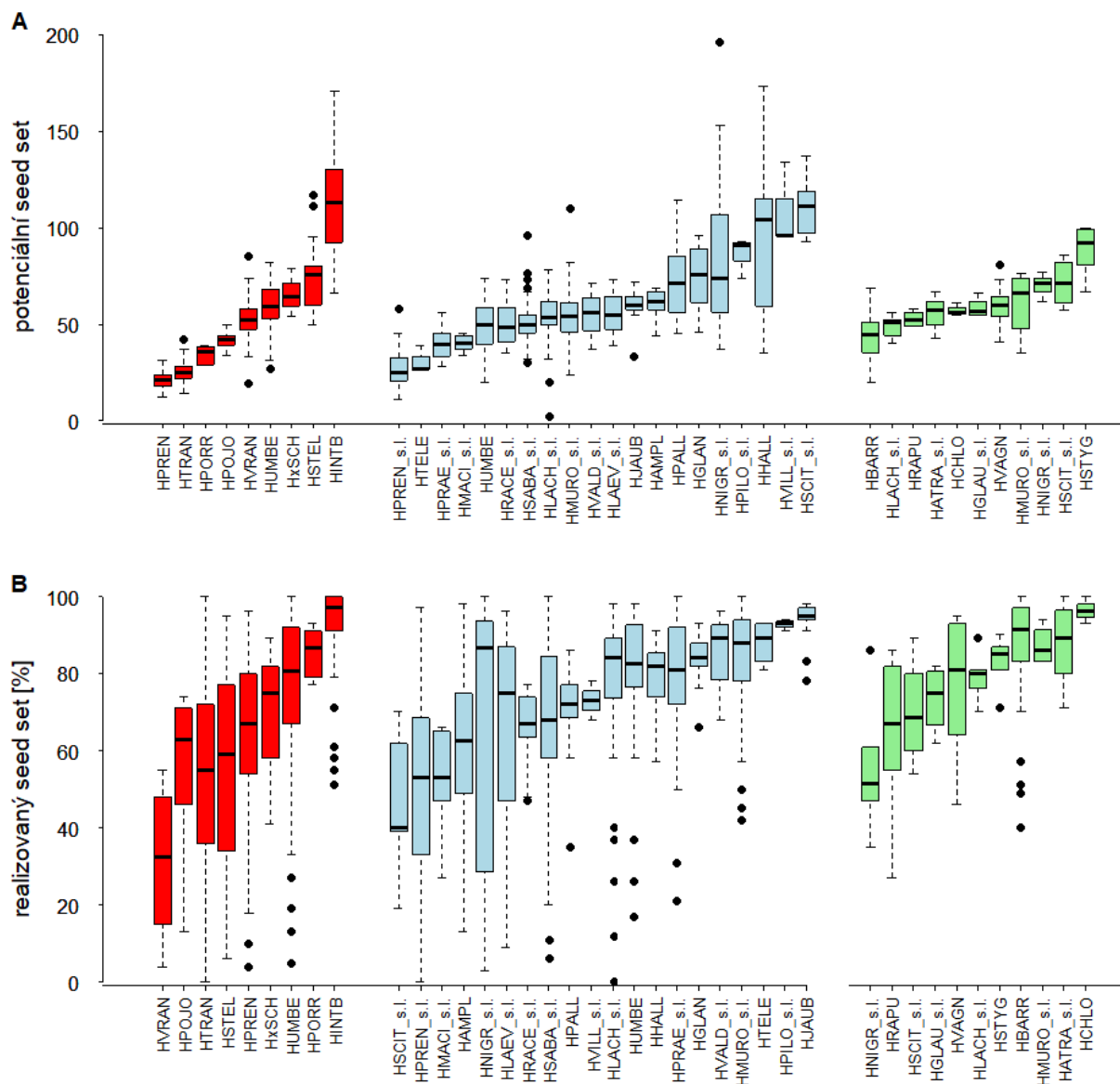
potenciální seed set byl v rámci diploidů u *Hieracium intybaceum* (zkratka taxonu = HINTB) (průměrný počet květů na úbor \pm SD: 112 ± 25), triploidů u *H. villosum* (HVILL_s.l.) (SD: 110 ± 18) a tetraploidů u *H. stygium* (HSTYG) (SD: 89 ± 13). Nejmenší potenciální seed set byl v rámci diploidů u *H. prenanthoides* (HPREN) (SD: 21 ± 4), triploidů u *H. prenanthoides* s. l. (HPREN_s.l.) (SD: 26 ± 10) a tetraploidů u *H. barrelieri* (HBARR) (SD: 43 ± 12).

Realizovaný seed set byl vyšší u apomiktických polyploidních (triploidních a tetraploidních) rostlin než u sexuálních diploidních rostlin (průměrné procento dobře vyvinutých semen na úbor \pm SD: sex – $67,1 \pm 25,6$ % a apo – $73,9 \pm 21,3$ %) a tento rozdíl byl statisticky významný (LMM: $t = -2,088$, $p = 0,044$) (Obr. 19B). Na obrázku 20B je patrné, jak se mění realizovaný seed set u taxonů v rámci stejné ploidní úrovně.

Rozptyl v realizovaném seed setu vyjádřený jako variační koeficient byl u sexuálních diploidů (CV = 38,1 %) vyšší než u apomiktických polyploidů (triploidů a tetraploidů) (CV = 28,9 %). Rozptyl byl také testovaný pomocí Fischerova testu. U sexuálních diploidů byl tento rozptyl o 0,696x vyšší než u apomiktických polyploidů ($F = 0,696$, $p = 1$).



Obr. 19 Potenciální (A) a realizovaný (B) seed set u ostatních taxonů rodu *Hieracium* sp. (kromě *H. alpinum*), sex = sexuálně diploidní rostliny a apo = apomiktické polyploidní (triploidní a tetraploidní) rostliny. Potenciální seed set je vyjádřený jako počet květů na úbor a realizovaný seed set jako procento dobře vyvinutých semen na úbor.



Obr. 20 Potenciální (A) a realizovaný (B) seed set u ostatních taxonů rodu *Hieracium* sp. (kromě *H. alpinum*), červené boxploty = diploidní rostliny, modré boxploty = triploidní rostliny a zelené boxploty = tetraploidní rostliny. Potenciální seed set je vyjádřený jako počet květů na úbor a realizovaný seed set jako procento dobře vyvinutých semen na úbor. Na ose x jsou uvedeny zkratky jednotlivých taxonů (viz příloha Tab. 2).

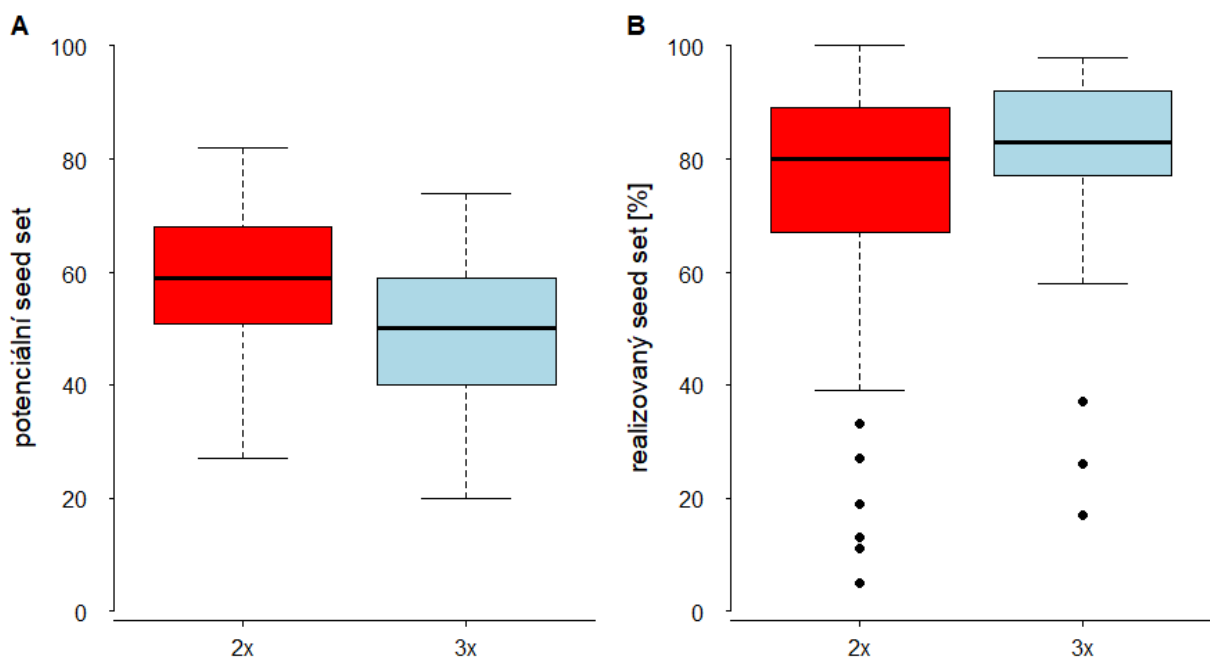
3.2.2.1 Potenciální a realizovaný seed set u druhu *Hieracium umbellatum* L.

Srovnával jsem potenciální a realizovaný seed set mezi dvěma reprodukčními systémy druhu *Hieracium umbellatum* L. Dohromady jsem spočítal 7 593 semen ze 75 rostlin, které pocházely z 10 populací. Z toho 5 populací pocházelo ze střední Evropy (Česká a Slovenská republika) a 5 populací pocházelo ze severní Evropy (Norsko a Švédsko).

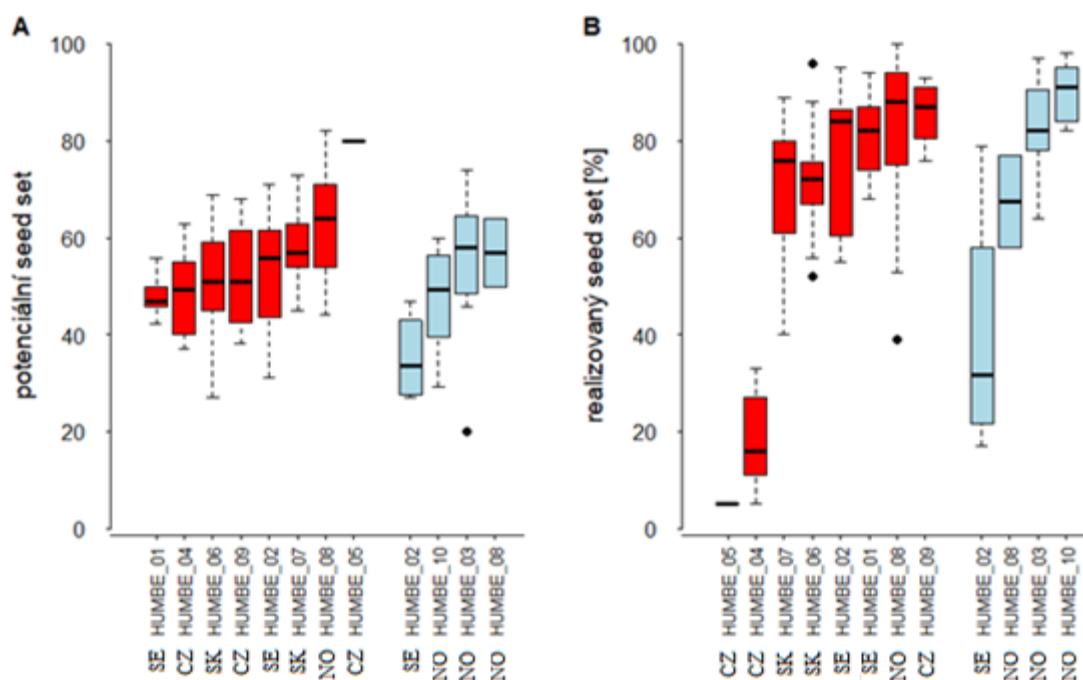
Potenciální seed set byl vyšší u sexuálních diploidů než u asexuálních triploidů a tento rozdíl byl okrajově statisticky významný (LMM: $t = -1,927$, $p = 0,056$; průměrný počet květů na úbor \pm SD: $2x - 59 \pm 12$ a $3x - 49 \pm 14$) (Obr. 21A). Z výsledků nebylo patrné, že by sbírané populace v severní Evropě, měly jiný potenciální seed set, než sbírané populace ve střední Evropě (Obr. 22A).

Realizovaný seed set byl nepatrně vyšší u asexuálních triploidů než u sexuálních diploidů (LMM: $t = -1,591$, $p = 0,114$; průměrné procento dobře vyvinutých semen na úbor \pm SD: $2x - 74,6 \pm 21,3$ % a $3x - 78,8 \pm 20,6$ %) (Obr. 21B). Opět z výsledků nebylo patrné, že by sbírané populace v severní Evropě, měly jiný realizovaný seed set, než sbírané populace ve střední Evropě (Obr. 22B).

Rozptyl v realizovaném seed setu vyjádřený jako variační koeficient byl u sexuálních diploidů (CV = 28,5 %) nepatrně vyšší než u apomiktických triploidů (CV = 26,1 %). Rozptyl byl také testovaný pomocí Fischerova testu. U sexuálních diploidů byl tento rozptyl o 1.069x vyšší než u apomiktických triploidů ($F = 1,069$, $p = 0,436$).



Obr. 21 Potenciální (A) a realizovaný (B) seed set u druhu *Hieracium umbellatum*, 2x = diploidní rostliny a 3x = triploidní rostliny. Potenciální seed set je vyjádřený jako počet květů na úbor a realizovaný seed set jako procento dobře vyvinutých semen na úbor.



Obr. 22 Potenciální (A) a realizovaný (B) seed set u jednotlivých populací druhu *Hieracium umbellatum*, červené boxploty = diploidní rostliny a modré boxploty = triploidní rostliny. Potenciální seed set je vyjádřený jako počet květů na úbor a realizovaný seed set jako procento dobře vyvinutých semen na úbor. Na ose x jsou uvedeny zkratky jednotlivých populací druhu *Hieracium umbellatum* (viz příloha Tab. 1) a před populacemi jsou uvedeny zkratky států podle ISO 3166-1 alpha-2: CZ = Česká republika, NO = Norsko, SE = Švédsko a SK = Slovenská republika.

3.2.2.2 Srovnání realizovaného seed setu mezi sexuálními a asexuálními taxony *Hieracium* s. str. na společně se vyskytujících lokalitách

Srovnával jsem realizovaný seed set mezi sexuálními a asexuálními taxony rodu *Hieracium* s. str., které rostly na společné lokalitě. Dohromady jsem analyzoval taxony na čtyř lokalitách, které jsou níže popsány podrobněji.

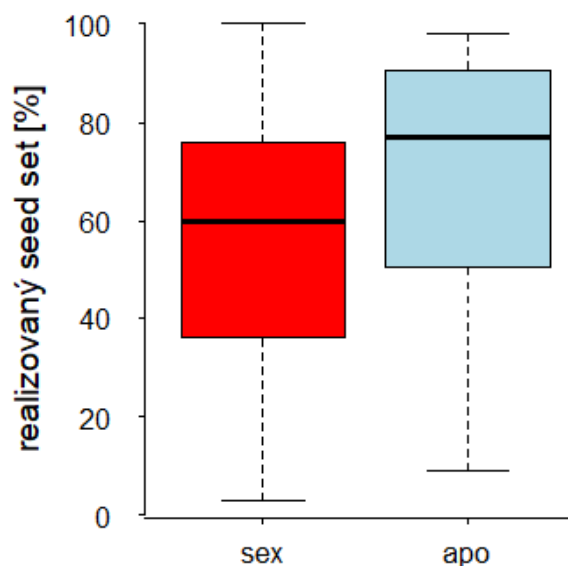
Lokalita - Pietrosul Bogolin (Rumunsko)

Lokalita se nachází v severním Rumunsku v pohoří Munții Bistriței na vrchu Pietrosul Bogolin (přibližné souřadnice lokality 47.4020N 25.5230E). Z této lokality jsem testoval rozdíly v seed setu mezi sexuálním a apomiktickým způsobem reprodukce u následujících taxonů: sexuální taxony (*Hieracium alpinum* (populace H057) s 47 diploidními rostlinami a *H. transilvanicum* (populace HTRAN_01) s 23 diploidními rostlinami) a apomiktické taxony

(*H. laevigatum* s. l. (populace HLAEV_s.l._01) s 12 triploidními rostlinami a *H. vagneri* (populace HVAGN_01) s 15 tetraploidními rostlinami).

Realizovaný seed set byl vyšší u apomiktických než sexuálních rostlin (průměrné procento dobře vyvinutých semen na úbor \pm SD: sex – $57,5 \pm 26,3$ % a apo – $67,1 \pm 26,4$ %), ale tento rozdíl nebyl statisticky významný (LMM: $t = -1,109$, $p = 0,383$ (Obr. 23)).

Rozptyl v realizovaném seed setu vyjádřený jako variační koeficient byl u sexuálních rostlin (CV = 45,7 %) vyšší než u apomiktických rostlin (CV = 39,3 %). Rozdíl pomocí Fischerova testu byl u sexuálních rostlin o 1,008x vyšší než u apomiktických rostlin ($F = 1,008$, $p = 0,471$).



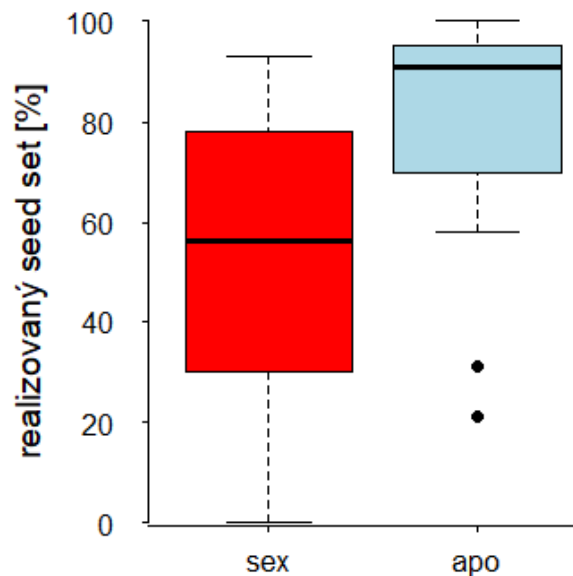
Obr. 23 Realizovaný seed set mezi sexuálním (sex) a apomiktickým (apo) způsobem reprodukce u rostlin z rodu *Hieracium* sp. z lokality Pietrosul Bogolin (Rumunsko). Realizovaný seed set je vyjádřený jako procento dobře vyvinutých semen na úbor.

Lokalita - Piatra Șoimului (Rumunsku)

Lokalita se nachází ve středním Rumunsku u města Băile Tușnad na vrchu Piatra Șoimului (souřadnice lokality 46.1470N 25.8510E). Z této lokality jsem testoval rozdíly v seed setu mezi sexuálním a apomiktickým způsobem reprodukce u následujících taxonů: sexuální taxony (*Hieracium transilvanicum* (populace HTRAN_02) s 21 diploidními rostlinami) a apomiktické taxony (*H. praecurrens* s. l. (populace HPRAE_s.l._02) s 16 triploidními rostlinami a *H. telekianum* (populace HTELE_01) s 1 triploidní rostlinou).

Realizovaný seed set byl mnohem vyšší u apomiktických než u sexuálních rostlin (průměrné procento dobře vyvinutých semen na úbor \pm SD: sex – $54,4 \pm 27,3$ % a apo – $81,1 \pm 21,8$ %) a tento rozdíl byl statisticky významný (LMM: $t = -4,551$, $p = 0,038$) (Obr. 24).

Rozptyl v realizovaném seed setu vyjádřený jako variační koeficient byl u sexuálních rostlin (CV = 50,1 %) výrazně vyšší než u apomiktických rostlin (CV = 26,9 %). Rozdíl pomocí Fischerova testu byl u sexuálních rostlin o 1,566x vyšší než u apomiktických rostlin ($F = 1,566$, $p = 0,147$).



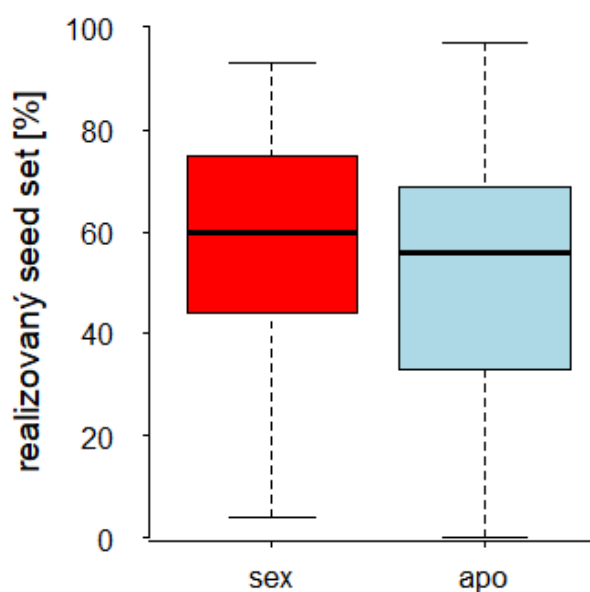
Obr. 24 Realizovaný seed set mezi sexuálním (sex) a apomiktickým (apo) způsobem reprodukce u rostlin z rodu *Hieracium* sp. z lokality Piatra Șoimului. Realizovaný seed set je vyjádřený jako procento dobře vyvinutých semen na úbor.

Lokalita - Pelvoux (Francie)

Lokalita se nachází v jihovýchodní Francii v Massif des Écrins u obce Pelvoux (přibližné souřadnice lokality 44.9050N 6.4414E). Z této lokality jsem testoval rozdíly v seed setu mezi sexuálním a apomiktickým způsobem reprodukce u následujících taxonů: sexuální taxony (*Hieracium prenanthoides* (populace HPREN_02) s 18 diploidními rostlinami) a apomiktické taxony (*H. amplexicaule* (populace HAMPL_02) s 1 triploidní rostlinou, *H. prenanthoides* s. l. (populace HPREN_s.l._04 se 7 triploidními rostlinami, populace HPREN_s.l._06 se 4 triploidními rostlinami, populace HPREN_s.l._08 s 1 triploidní rostlinou a *H. rapunculoides* (populace HRAPU_01) se 6 tetraploidními rostlinami).

Realizovaný seed set byl nepatrně vyšší u sexuálních než apomiktických rostlin (průměrné procento dobře vyvinutých semen na úbor \pm SD: sex – $57,7 \pm 22,1$ % a apo – $53,4 \pm 24,5$ %). Dané rozdíly nebyly statisticky významné (LMM: $t = -0,164$ $p = 0,885$) (Obr. 25).

Rozptyl v realizovaném seed setu vyjádřený jako variační koeficient byl u sexuálních rostlin (CV = 38,3 %) nižší než u apomiktických rostlin (CV = 45,9 %). Rozdíl pomocí Fischerova testu byl u apomiktických rostlin o 1,228x vyšší než u sexuálních rostlin ($F = 1,228$, $p = 0,272$).



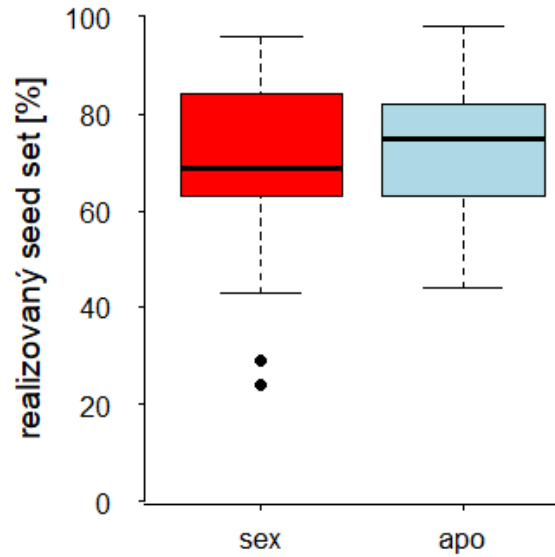
Obr. 25 Realizovaný seed set mezi sexuálním (sex) a apomiktickým (apo) způsobem reprodukce u rostlin z rodu *Hieracium* sp. z lokality Pelvoux (Francie). Realizovaný seed set je vyjádřený jako procento dobře vyvinutých semen na úbor.

Lokalita - Claviere (Itálie)

Lokalita se nachází v severozápadní Itálii v kraji Piemonte u města Claviere (přibližné souřadnice lokality 44.9464N 6.7692E). Z této lokality jsem testoval rozdíly v seed setu mezi sexuálním a apomiktickým způsobem reprodukce u následujících taxonů: sexuální taxony (*Hieracium prenanthoides* Vill. (populace HPREN_01) s 11 diploidními rostlinami) a apomiktické taxony (*H. amplexicaule* L. (populace HAMPL_01) s 2 triploidními rostlinami a *H. glaucum* s. l. (populace HGLAU_s.l._01 s 5 tetraploidními rostlinami).

Realizovaný seed set byl vyšší u apomiktických než u sexuálních rostlin (průměrné procento dobře vyvinutých semen na úbor \pm SD: sex – $70,7 \pm 17,8$ % a apo – $74,3 \pm 16,2$ %). Dané rozdíly nebyly statisticky významné (LMM: $t = -0,616$, $p = 0,649$) (Obr. 26).

Rozptyl v realizovaném seed setu vyjádřený jako variační koeficient byl u sexuálních rostlin (CV= 25,1 %) vyšší než u apomiktických rostlin (CV = 21,8 %). Rozdíl pomocí Fischerova testu byl u sexuálních rostlin o 0,832x vyšší než u apomiktických rostlin ($F = 0,832, p = 0.593$).



Obr. 26 Realizovaný seed set mezi sexuálním (sex) a apomiktickým (apo) způsobem reprodukce u rostlin z rodu *Hieracium* sp. z lokality Claviere (Itálie). Realizovaný seed set je vyjádřený jako procento dobře vyvinutých semen na úbor

4 Diskuze

Diplomová práce představuje první rozsáhlou studii, která se zabývá studiem způsobu rozmnožování v rodě *Hieracium* s. str. a jeho dopadem na reprodukční zabezpečení.

Průtokovou cytometrií jsem zjistil, že diploidní taxony produkují semena, která vznikla striktně sexuální cestou. Zatímco u polyploidních taxonů jsem zjistil, že produkují semena převážně apomikticky. Pouze u čtyř taxonů (*Hieracium amplexicaule*, *H. macilentum* s. l., *H. nigrescens* s. l. a *H. rapunculoides*) jsem našel, že některá semena vznikla sexuální cestou. Realizovaný seed set byl většinou vyšší u apomiktických než sexuálních taxonů. Naopak rozptyl v realizovaném seed setu byl většinou vyšší u sexuálních než asexuálních rostlin.

4.1 Způsob rozmnožování v rodě *Hieracium* s. str.

Z výsledků vyplývá, že v rodě *Hieracium* s. str. produkují diploidní rostliny (z celkového počtu 12 taxonů) semena striktně sexuálně, a u polyploidních rostlin (z celkového počtu 42 taxonů) převážná část semen vzniká apomikticky, ale může zde také docházet k částečně zbytkové sexualitě. Dané výsledky potvrzují mou hypotézu, že diploidní rostliny tvoří semena striktně sexuálně. U polyploidních taxonů jsem předpokládal tvoření semen většinou striktně apomikticky. Analýzy potvrdily můj předpoklad, že u apomiktických rostlin vzniklo 99,75 % semen (celkem 6 459 analyzovaných semen) apomikticky, ale u pouhých 0,25 % semen (celkem 16 analyzovaných semen) jsem našel důkaz o pohlavním rozmnožování. Tato zbytková sexualita byla prokázána u čtyř taxonů *H. amplexicaule*, *H. macilentum* s. l., *H. nigrescens* s. l. a *H. rapunculoides* z celkového počtu 50 analyzovaných taxonů.

Při studiu způsobu rozmnožování byla použita metoda průtokové cytometrie semen (FCSS = flow cytometric seed screening). Výhoda této metody spočívá v možnosti rychlé analýzy semen z velkého množství potomstva. Oproti tomu jsou jiné metody, jako např. cytoembryologické, časově velice náročné. Ve své diplomové práci jsem analyzoval pouze dobrá semena, která jsou z evolučního hlediska významná. Analyzována byla semena, která

po vyklíčení mohou žít, a ne abortovaná semena, která nemají žádný evoluční význam. Semena, která abortovala, mohla mít problémy s vývojem samičího nebo samčího gametofytu. Tuto domněnku nelze metodou FCSS ověřit. V tomto případě je výhodné použít cytoembryologické metody. Dále jsem u metody FCSS analyzoval semena po pěti v jednom vzorku. Domnívám se, že počet analyzovaných semen byl dostatečný. Nejdříve jsem spolu analyzoval semena, kde jedno (také dvě, tři a čtyři semena) pocházelo z diploidní rostliny a jedno semeno z tetraploidní rostliny. U těchto analýz jsem si ověřil, zda je možné rozpoznat embrya a endospermy od jednotlivých semen. Zjistil jsem, že je mohu odlišit. Poté jsem analyzoval semena po třech a také po dvou od jedné rostliny. U nich nebyla zjištěna žádná variabilita, a tak jsem přistoupil k analýze po pěti semenech. Kdybych analyzoval méně semen v jednom vzorku, byly by analýzy velice časově náročné. Nevýhodou této metody je, že když je nalezena variabilita ve vzorku po pěti semenech, tak je nutné opakovat analýzu pouze po jednom semeni ze stejného úboru, protože se nedá stoprocentně rozhodnout, které píky co představují.

Před samotným rozbořem problematiky způsobu reprodukce u rodu *Hieracium* s. str., nastíním několik významnějších prací, které se zabývaly studiem způsobu rozmnožování u tohoto rodu. U pravých jestřábníků bylo provedeno několik analýz na způsob rozmnožování, a to za pomoci cytoembryologie (např. Rosenberg 1907, 1927), ale ve většině případů se jednalo o studie, při kterých se používala metoda kastrace květů (např. Chrtek 1997; Mráz 2001; Mráz a Szelağ 2004; Szelağ a Ilnicki 2011). Dané práce byly zaměřené na zjištění apomixie u této skupiny jestřábníků, ale zbytková sexualita zde nebyla prokázána. Také Skawińska (1962) zjistila, že u některých triploidních apomiktických jedinců druhu *Hieracium alpinum* může docházet k částečné aborcii zárodečného vaku. Teprve v pracích Kociána (2013) a Hand et al. (2015) bylo zjištěno, že u některých apomiktických taxonů rodu *Hieracium* s. str. může docházet ke zbytkové sexualitě. V následujícím textu jsou dané práce podrobněji rozebrány.

Práce Kociána (2013) se zabývala reprodukčními systémy u polyploidního komplexu *Hieracium prenanthoides*. Z výsledků vyplývá, že všechna analyzovaná semena (celkový počet analyzovaných semen bylo 432) odebraná z osmnácti přírodních triploidních populací vznikla apomiktickou cestou. Semena obsahovala triploidní embryo a hexaploidní endosperm. Kocián zde nenašel semena vzniklá sexuálně. Semena (celkový počet analyzovaných semen bylo 274) odebraná z pěti přírodních tetraploidních populací vznikla většinou apomikticky a obsahovala tetraploidní embryo a oktoploidní endosperm. U jednoho semene (0,4 %) bylo

prokázáno, že vzniklo pohlavní cestou. Semeno obsahovalo tetraploidní embryo a hexaploidní endosperm. Endosperm vznikl buď splynutím dvou redukovaných buněk ($2x + 2x = 4x$) s následným opylením diploidní pylovou buňkou ($4x + 2x = 6x$), nebo zde došlo k aberantnímu vzniku endospermu (tetraploidní úroveň), který byl následně oplodněn diploidní pylovou buňkou ($4x + 2x = 6x$). Také se našlo ještě jedno semeno, které obsahovalo oktoploidní embryo a hexadekaploidní endosperm, a to vzniklo apomiktickou cestou. Kocián se domnívá, že u semene proběhla autopolyloidizace i kvůli tomu, že samotný endosperm vznikl apomiktickou cestou. Předpokládá, že k tomuto procesu došlo poruchou buněčného cyklu v iniciálním stádiu samičí archesporální buňky. Metodickou nevýhodou této práce je, že Kocián vždy měřil semena po třech a někdy po pěti. U těchto výsledných histogramů je někdy problematické určit správný počet semen, která vznikla sexuálně nebo apomikticky a také správná interpretace výsledků. Možné je, že by se některé výsledky daly interpretovat jako G2 fáze embrya nebo endospermu. Tyto píky jsou velice nízké až nepatrné. Vhodné by bylo, kdyby po analýze po třech/pěti semenech měřil další semena z daného úboru, ale vždy jen po jednom.

Ve své diplomové práci jsem také u triploidního taxonu *Hieracium prenanthoides* s. l. zjistil, že všechna analyzovaná semena (celkový počet analyzovaných semen bylo 295) z devíti populací vznikla apomikticky a měla tedy triploidní embryo a hexaploidní endosperm. Dále jsem zjistil u tetraploidního druhu *H. rapunculoides*, který také patří do komplexu *H. prenanthoides* s. l., že některá semena vznikla nejenom apomiktickou (celkový počet analyzovaných semen bylo 35), ale i sexuální cestou (celkový počet analyzovaných semen bylo 6). Většina semen obsahovala tetraploidní embryo a oktoploidní endosperm a vznikla apomikticky (Obr. 17B). U pěti semen (14,3 %) jsem našel semena s pentaploidním embryem a s nonaploidním endospermem, která vznikla pohlavní cestou (Obr. 17D). Dále jsem také našel jedno semeno (2,9 %) s pentaploidním embryem a s oktoploidním endospermem, které vzniklo pohlavní cestou (Obr. 17C). Ve výsledku jsem nenašel semena, která by vznikla pohlavní cestou a měla stejné ploidní úrovně jako nalezená semena v práci Kociána (2013). Místo toho jsem našel semena, která vznikla také sexuálně, ale měla různé ploidní úrovně embrya i endospermu. Ve své práci jsem zjistil, že šest semen (17,1 %) vzniklo sexuálně a u práce Kociána pouze jedno semeno (0,4 %) vzniklo sexuálně. Tento rozdíl v procentuálním zastoupením zbytkové sexuality u daného taxonu bude pravděpodobně tím, že jsem analyzoval populaci z jiné části areálu, která přináleží k jiné mikrospecii. A měl jsem štěstí, že jsem našel danou populaci, v níž se nacházela častěji zbytková sexualita. Bylo

by vhodné analyzovat více rostlin z různých populací a zjistit, zda je u nich také zastoupena vysoká zbytková sexualita.

Práce Hand et al. (2015) se rovněž zabývala způsobem rozmnožování mimo jiné i u rodu *Hieracium* s. str. V této práci neanalyzovali semena, ale samotný vývoj embryí u dvaceti rostlin ze šestnácti druhů rodu *Hieracium* s. str. Zjistili, že u sedmi rostlin šesti apomiktických druhů (v závorce za daným druhem je uvedeno procentuální zastoupení meiózy v analyzovaných vajíčkách), a to u *H. amplexicaule* (2 %), *H. bifidum* (pouze tetraploidní rostliny - první rostlina 2,5 % a druhá rostlina 7 %), *H. humile* (1,5 %), *H. murorum* (1 %), *H. olympicum* (2 %) a *H. viosum* (1 %) podstupují některá vajíčka meiózu, ale u pěti rostlin pěti apomiktických druhů (*H. bifidum* (pouze triploidní rostliny), *H. laevigatum*, *H. sabaudum*, *H. saxifragum* a *H. villosum*) nikoliv. Se svojí diplomovou prací mohu srovnávat zbytkovou sexualitu pouze u pěti apomiktických druhů, které mají tyto dvě práce společné, a to u *H. amplexicaule*, *H. laevigatum*, *H. murorum*, *H. sabaudum* a *H. villosum*.

U tetraploidního druhu *Hieracium amplexicaule* Hand et. al. (2015) zjistili, že jenom 2 % (z celkového počtu 50 analyzovaných vajíček z jedné rostliny) vajíček podstupují meiózu. Ve své práci jsem zjistil, že triploidní druh *H. amplexicaule* produkuje semena (celkový počet analyzovaných semen bylo 96) většinou apomikticky s triploidním embryem a hexaploidním endospermem (Obr. 12B). Čtyři semena vznikla také pohlavní cestou, ale vždy se jednalo o nízké zastoupení (4,2 %) zbytkové sexuality u tohoto taxonu. Nalezl jsem u dvou semen tetraploidní embryo s heptaploidním endospermem. Dále jsem našel jedno semeno s tetraploidním embryem a s hexaploidním endospermem, které vzniklo sexuálně (Obr. 12D) a také jsem objevil jedno semeno s triploidním embryem a s tetraploidním endospermem, které vzniklo opět sexuální cestou (Obr. 12C). Obě práce se shodují v míře zastoupení zbytkové sexuality u apomiktického druhu *H. amplexicaule*, i když se v každé práci jedná o jinou ploidní úroveň mateřských rostlin.

Triploidní druh *Hieracium laevigatum* produkoval pouze vajíčka (dohromady analyzováno 97 vajíček z jedné rostliny), která nepodléhala meióze (Hand et al. 2015). I ve své diplomové práci jsem nenalezl, že by tento taxon (v diplomové práci určen jako *H. laevigatum* s. l.) produkoval semena (celkový počet analyzovaných semen byl 110) pohlavní cestou. Vždy se jednalo o semena s triploidním embryem a s hexaploidním endospermem.

U triploidního druhu *Hieracium murorum* Hand et al. (2015) zjistili, že pouze 1 % (z celkového počtu 89 analyzovaných vajíček z jedné rostliny) vajíček podstupuje meiózu. Ve

své práci jsem u 656 analyzovaných semen, které pocházely z 16 populací (z 15 triploidních populací a 1 tetraploidní populací), nezaznamenal žádné semeno, které by vzniklo sexuální cestou. V diplomové práci je určen tento taxon jako *H. murorum* s. l. Možná bych při podrobnějším průzkumu z různých populací po celé Evropě také zjistil nepatrnou zbytkovou sexualitu u tohoto druhu.

Triploidní druh *Hieracium sabaudum* produkoval pouze vajíčka (z celkového počtu 89 analyzovaných vajíček z jedné rostliny), která nepodléhala meióze (Hand et al. 2015). Také ve své diplomové práci jsem nezjistil, že by tento taxon (v diplomové práci určen jako *H. sabaudum* s. l.) produkoval semena (celkový počet analyzovaných semen byl 634) sexuální cestou.

Tetraploidní druh *Hieracium villosum* produkoval pouze vajíčka (celkově analyzováno 78 vajíček z jedné rostliny), která nepodléhala meióze (Hand et al. 2015). Ve své diplomové práci jsem také nezjistil, že by u druhu (zde brán jako komplex *H. villosum* s. l. a nalezeny pouze triploidní jedinci) probíhala zbytková sexualita. Celkem jsem analyzoval 20 semen z jedné populace.

Ve své diplomové práci jsem dále zjistil, že u taxonů *Hieracium macilentum* s. l. a *H. nigrescens* s. l. se také nachází zbytková sexualita, ale bohužel mi není známa žádná jiná práce, se kterou bych je mohl srovnávat. U taxonu *H. macilentum* s. l. jsem našel dvě semena (4,3 %) z celkového počtu 47 semen vzniklá sexuální cestou. U taxonu *H. nigrescens* s. l. jsem našel čtyři semena (2,0 %) z celkového počtu 205 semen vzniklá sexuální cestou. Opět u obou taxonů byla zbytková sexualita zastoupena v malém množství jako u předchozích taxonů. U taxonu *H. macilentum* s. l. je procento semen, které vzniklo sexuální cestou, o trochu vyšší než u ostatních analyzovaných taxonů. Předpokládám, že je to zapříčiněno tím, že byla analyzována pouze jedna populace a u ostatních taxonů bylo analyzováno více populací. U ostatních 37 apomiktických taxonů, které byly analyzovány v mé diplomové práci, jsem nezjistil semena, která by vznikla sexuálně. Vždy se jednalo o taxony, které měly obligátní apomixii.

Do budoucna by bylo zajímavé podrobněji analyzovat populace taxonů, kde jsem našel zbytkovou sexualitu. Zjistit u nich, jaká je frekvence zbytkové sexuality v jednom úboru, u jedné rostliny a také v dané populaci.

4.1.1 Aneuploidie v rodě *Hieracium* s. str.

Aneuploidie je u rodu *Hieracium* s. str. velice vzácná (Schuhwerk 1996; Stace et al. 1995) a byla nalezena u druhů *H. alpinum* z pohoří Chibiny v severním Rusku, kde byl nalezen hypotriploid ($2n = 26$) (Sokolovskaya a Strelkova 1960), *H. macrocarpum* z Velké Británie, který byl odvozený z tetraploidního cytotypu (Slade a Rich 2007), *H. villosum* z Alp s hypertriploidním počtem ($2n = \text{cca } 28$) (Polatschek 1966, viz poznámky v Dobeš a Víték 2000).

Ve své diplomové práci jsem našel u jedné sazenice druhu *H. alpinum* (vzorek H57_11) pravděpodobně aneuploidní úroveň, nakolik velikost genomu této sazeničky byla větší o 6,6 % oproti průměrné diploidní velikosti. Samotný semenáček nebyl ale karyologicky počítán. Jestli se jedná skutečně o aneuploidní semenáček, tak by mohl odpovídat $2n = 19-20$ namísto $2n = 18$ (Obr. 10).

Proč je málo zastoupena aneuploidie v rodě *Hieracium* s. str.? U rostlin (kromě hybridů) je aneuploidie většinou vzácná a rod *Hieracium* s. str. není výjimka. Aneuploidie znamená změnu od normálního počtu chromozómů v buňkách organismů, tzn. chybění nebo nadbytek chromozómů v buňkách. Samotná aneuploidie je většinou spjata s chybným průběhem meiózy a právě jestřábníky (polyploidní taxony) mají jako svůj způsob reprodukce mitotickou diplosporii. Jak název napovídá, tak zde nedochází k žádné meióze, tzn. nedochází k párování chromozómů. Oproti tomu u meiotické diplosporie, kde dochází v profázické fázi k meióze (částečné nebo úplné párování chromozómů), je aneuploidie častější a to např. u rodu *Taraxacum* (Malecka 1969; Richards 1972a, 1972b). Problém s vysvětlením aneuploidie nastává u skupiny pravých jestřábníků s diploidními taxony, kteří se rozmnožují sexuálně, tzn. že zde probíhá meióza. Podle předchozího vysvětlení, by zde měla být aneuploidie častější než u polyploidních taxonů s apomiktickým způsobem rozmnožování. Podle studií (Polatschek 1966; Slade a Rich 2007; Sokolovskaya a Strelkova 1960), kde byla nalezena aneuploidie u jestřábníků, ale vyplývá, že aneuploidie je častější právě u apomiktických než u sexuálních taxonů. Tento úkaz je možná zapříčiněn tím, že u rodu *Hieracium* s. str. je aneuploidie vzácná a nalézt aneuploidního jedince je velice problematické a více méně náhodné, tzn. že u polyploidních taxonů byla větší náhoda, že se našli aneuploidní jedinci než u diploidních taxonů.

4.2 Potenciální a realizovaný seed set v rodě *Hieracium* s. str.

Ve své diplomové práci jsem stanovení procenta dobře vyvinutých semen na úbor (tzv. seed set) rozdělil na dvě části, a to na potenciální a realizovaný seed set. Toto rozdělení jsem stanovil proto, abych zjistil u daných rostlin potenciální neboli pravděpodobný seed set, tzn. počet všech semen, které se v jednom úboru mohou teoreticky vyvinout ve zralá semena a z nich by mohli vzniknout noví jedinci. Za druhé jsem chtěl zjistit realizovaný neboli skutečný seed set, tzn. procento všech dobře vyvinutých semen v jednom úboru, ze kterých mohou vzniknout noví jedinci. Oba seed sety jsem srovnával mezi sexuálními diploidy a apomiktickými polyploidy. Dohromady jsem u obou seed setů spočítal 247 553 semen z 3 300 rostlin, které pocházely z 195 populací od 33 taxonů.

Z výsledků vyplývá, že potenciální seed set je mezi různými taxony druhově specifický (Obr. 20A). Když potřebuji zjistit, zda má vliv ploidie na velikost úboru (potenciální seed set), tak to mohu srovnávat pouze u taxonu, kde se nachází více ploidii. Srovnával jsem tedy potenciální seed set pouze u dvou druhů *Hieracium alpinum* (přírodní a pěstované populace) a *H. umbellatum* (přírodní populace), kde se nacházejí dvě ploidní úrovně. U přírodních populací druhu *H. alpinum* vycházel seed set téměř stejně mezi sexuálními diploidními a apomiktickými triploidními rostlinami. U pěstovaných rostlin ze skleníku vycházel seed set také téměř stejně mezi sexuálními diploidními a apomiktickými triploidními rostlinami. Zajímavé je, že u pěstovaných rostlin byl tento seed set dvakrát vyšší než u rostlin z přírodních populací. Je to pravděpodobně zapříčiněno vhodnějšími podmínkami pro rostliny ve skleníku (např. dostatek živin, vody, méně herbivorů) než u rostlin v přírodě. U druhu *H. umbellatum* byl seed set nepatrně vyšší u sexuálních diploidů než apomiktických polyploidů. Zajímavé bylo, že sbírané diploidní populace v severní Evropě nemají jiný seed set než diploidní populace sbírané ve střední Evropě, tzn. že geografický výskyt daných populací asi nemá vliv na seed set. Musíme brát do úvahy, že jsem analyzoval pouze 8 populací. Z toho 5 populací pocházelo z České a Slovenské republiky a 3 populace pocházely z Norska a Švédska. Kdyby se v budoucnu analyzovalo více populací z různých částí Evropy, tak by byla možná zjištěna nějaká korelace mezi potenciálním seed setem a geografickým výskytem.

Předpokládaná hypotéza realizovaného seed setu vycházela téměř u všech analýz stejně, tzn. seed set byl většinou vyšší u asexuálních polyploidních než sexuálních diploidních

rostlin. Výjimkou byl druh *H. alpinum* u rostlin z přírodních populací, kde byl seed set nepatrně vyšší u sexuálních diploidů než apomiktických triploidů. Předpokládám, že na lokalitách, kde byly sbírané diploidní rostliny, byl dostatek opylovačů a také se jednalo o velké populace s dostatkem kompatibilních partnerů. Naopak u pěstovaných rostlin stejného druhu *H. alpinum* byl seed set výrazně vyšší u apomiktických triploidů než u sexuálních diploidů. Tento výrazný rozdíl byl nejspíše zapříčiněn nedostatkem opylovačů a kompatibilních partnerů ve skleníku, v němž se dotyčné rostliny nacházely. Apomiktické rostliny nepotřebují kompatibilní partnery a ani opylovače, a tak jejich seed set byl mnohem vyšší než u sexuálních rostlin. Když jsem srovnával realizovaný seed set mezi dvěma reprodukčními systémy u různých taxonů, kde taxony rostly na stejné lokalitě, tak mi vycházelo, že realizovaný seed set byl většinou vyšší u apomiktických polyploidů než u sexuálních diploidů. Dané výsledky potvrzují opět předpokládanou hypotézu. Pouze na lokalitě Pelvoux (Francie) byl tento seed set nepatrně vyšší u sexuálních než apomiktických rostlin. Předpokládám, že zde opět měly sexuálně diploidní rostliny (druh *H. prenanthoides*) na lokalitě dostatek opylovačů a kompatibilních partnerů. U druhu *H. umbellatum* opět nebylo patrné, že by sbírané populace v severní Evropě, měly jiný realizovaný seed set, než sbírané populace ve střední Evropě (diskuze k této části viz výše u potenciálního seed setu). Zajímavé je také to, že některé apomiktické rostliny, které jsou obligátně apomiktické nemají 100 % realizovaný seed set. Může to být zapříčiněno různými faktory např. nedostatkem živin, klimatem (mikroklimatem), škůdci nebo poruchami při vzniku semen. Když má rostlina na začátku tvorby semen např. dostatek živin a příznivé mikroklima, tak může produkovat semena. Posléze nemusí rostlina např. dostávat potřebné živiny nebo se zhorší pro rostlinu mikroklima, tak rostlině nezbyvá energie pro tvorbu semen a některá semena se nemusejí dovyvinout. Tím výsledný realizovaný seed set nemusí být u rostliny 100 %.

Rozptyl v realizovaném seed setu byl shodný s mojí hypotézou, že většinou byl vyšší nebo nepatrně vyšší u sexuálních diploidů než apomiktických polyploidů. Předpokládám, že diploidně pohlavně se rozmnožující rostliny byly většinou limitovány přítomností opylovačů a kompatibilních partnerů na lokalitách, kde byly rostliny sbírané. Také u pěstovaných rostlin ve skleníku druhu *H. alpinum* vycházel rozptyl, že je vyšší u sexuálních diploidů než apomiktických triploidů. U rostlin stejného druhu, kde rostliny byly sbírané z přírodních populací, byl rozptyl o trochu vyšší u sexuálních diploidů (CV = 41,6 %) než u apomiktických triploidů (CV = 37,7 %) a také realizovaný seed set zde byl nepatrně vyšší u sexuálních diploidů než apomiktických triploidů. Předpokládám, že sexuální diploidní rostliny

nebyly na lokalitách limitovány opylovači a ani kompatibilními partnery, jak jsem tomu také předpokládal u výsledků z realizovaného seed setu. Rozptyl jsem dále srovnával mezi dvěma reprodukčními systémy u různých taxonů, kde taxony rostly na stejné lokalitě. Z výsledků vyplývá, že rozptyl byl většinou vyšší u sexuálních než apomiktických rostlin. Opět výsledky potvrzují moji předpokládanou hypotézu. Pouze u lokality Pelvoux (Francie) byl rozptyl nižší u sexuálních diploidních než u apomiktických polyploidních rostlin, ale realizovaný seed set zde byl vyšší u sexuálních diploidů než u apomiktických polyploidů. Předpokládám, že na lokalitě sexuální diploidní rostliny nebyly limitovány opylovači a kompatibilními partnery. Dané výsledky se shodují s výsledky u realizovaného seed setu z této lokality.

Samotných studií, které se zabývají seed setem v rodě *Hieracium* s. str. není mnoho (Chrtek 1997). Proto jsem své výsledky v seed setu srovnával také s různými pracemi, které byly na dané téma vypracované, a to u rodu *Erigeron* (Noyes a Givens 2013), *Pilosella* (Peckert a Chrtek 2006; Rodrigues et al. 2008) a *Taraxacum* (Van Dijk 2007). Dané práce jsem si zvolil, protože dotyčné taxony jsou blízce příbuzné rodu *Hieracium* s. str. a je zde pravděpodobné, že seed sety by mohly vycházet podobně jako u rodu *Hieracium* s. str. Dále jsem si zvolil na srovnávání práci Cosendai a Hörandl (2010), kde studují druh *Ranunculus kuepferi*, protože zde srovnávají realizovaný seed set mezi různými cytotypy a typy rozmnožování.

Práce Chrtka (1997) se zaměřila na taxonomickou revizi skupiny *Hieracium alpinum* v Karpatech a Sudetech. V práci byl zjišťován způsob reprodukce pomocí kastrace květů, realizovaný seed set a produkce pylů. Se svojí diplomovou prací mohu srovnávat pouze realizovaný seed set u dvou taxonů *H. alpinum* var. *alpinum* a *H. halleri*, které mají obě práce společné. U taxonu *H. alpinum* var. *alpinum* zjistil Chrtek (1997), že rostliny ($2n = 27$) se rozmnožují apomikticky a realizovaný seed set mají v rozmezí mezi 86,7 – 100 %. Ve své diplomové práci jsem zjistil, že apomiktické rostliny mají realizovaný seed set průměrně $60,2 \pm 22,7$ %. Tento nižší realizovaný seed set může být zapříčiněn následujícím faktorem. Ve své diplomové práci jsem analyzoval mnohem více úborů, které pocházely z více lokalit, než bylo analyzováno v práci Chrtka (1997). Je ale zajímavé, že jsem nenalezl rostliny z přírodních lokalit, které by měly 100 % realizovaný seed set. Mohlo by to být zapříčiněno různými faktory např. nedostatkem živin, klimatem (mikroklimatem), škůdci nebo poruchami při vzniku semene. U pěstovaných rostlin ve skleníku jsem našel rostliny, které měly 100 % realizovaný seed set. Předpokládám, že zde rostliny měly např. dostatek živin. U druhu *H. halleri* zjistil Chrtek (1997), že rostliny se rozmnožují apomikticky a realizovaný seed set

mají v rozmezí mezi 84,0 – 95,8 %. Ve své diplomové práci jsem zjistil, že apomiktické rostliny mají realizovaný seed set v rozmezí mezi 56,9 – 95,8 % a průměrně $77,8 \pm 9,5$ %. Opět předpokládám, že nižší realizovaný seed set může být zapříčiněn analyzováním více úborů, a to z více lokalit. Je ale zajímavé, že nejvyšší realizovaný seed set je u obou prací shodný. Předpokládám, že se jedná o pouhou náhodu.

Práce Noyes a Givens (2013) se zabývala studiem megasporogeneze u apomiktických polyploidních druhů *Erigeron annuus* a *E. strigosus*. V této práci zjistili, že seed set byl mezi rostlinami velice proměnlivý (14,0 – 95,5 %) a jejich průměr byl 70,8 %. Na druhou stranu frekvence diplosporie byla rovnoměrně vysoká (průměr byl ~ 95 %), a to napříč genotypy a také přes rozdíly v seed setu. Noyes a Givens (2013) předpokládají, že rozdíly v seed setu musí být způsobeny vývojovým selháním následkem diplosporického rozdělení megasporocytů. Ve své diplomové práci se zabývám rodem *Hieracium* s. str. a tento rod má jako svůj způsob rozmnožování také diplosporii. Je možné, že variabilita v rámci seed setu může být také částečně zapříčiněna tímto efektem.

Práce Peckert a Chrtek (2006) se zaměřila na experimentální křížení mezi sexuálními diploidy, triploidy a tetraploidy u druhu *Pilosella echioides* (Lumn.) F. W. Schultz et Sch. Bip. (v dané práci byl pojmenován druh jako *Hieracium echioides*). Všechny cytotypy pocházely z jedné lokality. V této práci byla studována cytotypová rozmanitost, intercytotypová konkurence pylu, potenciální a realizovaný seed set mezi intra a intercytotypy u potomstva z tohoto experimentálního křížení. Peckert a Chrtek (2006) zjistili, že oba seed sety byly nejvyšší u kříženců mezi $2x \times 2x$ (potenciální seed set byl $47,23 \pm 4,50$ a realizovaný seed set byl $0,84 \pm 0,05$). Naopak nejnižší oba seed sety byly pozorovány u kříženců mezi $3x \times 3x$ (potenciální seed set byl $2,65 \pm 0,76$ a realizovaný seed set byl $0,07 \pm 0,02$). U kříženců mezi $4x \times 4x$ byl potenciální seed set $26,93 \pm 4,92$ a realizovaný seed set $0,54 \pm 0,08$. Realizovaný seed set se statisticky významně nelišil u kříženců mezi intracytotypy ($2x \times 2x$ a $4x \times 4x$) a intercytotypy ($2x \times 4x$ a $4x \times 2x$), což Peckert a Chrtek (2006) vysvětlují jako absencí postzygotických reprodukčních izolačních bariér, jako je triploidní blok u *P. echioides*. Se svojí diplomovou prací nemohu srovnávat potenciální a realizovaný seed set z této práce, protože ve svojí diplomové práci nemám taxon, který by zahrnoval různé cytotypy se sexuálním typem rozmnožování. I přesto je práce Peckerta a Chrtka (2006) zajímavá v tom, že vzniklí kříženci mezi $2x \times 2x$ mají mnohem vyšší potenciální a realizovaný seed set než ostatní vzniklí kříženci. Bylo by zajímavé analyzovat seed sety u apomiktických rostlin u stejného taxonu a srovnat je se seed sety z této práce a zjistit tak, jestli se od sebe nějak liší.

Práce Rodrigues et al. (2008) se zabývala vlivem funkce FIE (fertilization independent endosperm/endosperm nezávislý od oplodnění) při tvorbě semen u sexuálních a apomiktických rostlin v rodě *Pilosella* a to u druhů *Pilosella officinarum* F. W. Schultz et Sch. Bip. (tetraploidní sexuální rostliny) a *P. piloselloides* (Vill.) Soják (triploidní apomiktické rostliny). Se svojí diplomovou prací mohu srovnávat pouze samotné stanovení seed setu u obou reprodukčních systémů. U rostlin, kde nedocházelo k opylení, tak u apomiktických rostlin byl seed set výrazně vyšší než u sexuálních rostlin. Naopak u rostlin, u nichž probíhalo opylení, tak u apomiktických rostlin byl seed set nižší nebo pouze o trochu vyšší než u sexuálních rostlin. Opylení rostlin má tedy významný vliv na výsledný seed set u sexuálních rostlin. Když jsem u některých analýz ve své diplomové práci našel, že je realizovaný seed set stejný nebo vyšší u sexuální než apomiktických rostlin, tak předpokládám, že sexuální rostliny měly dostatek opylovačů na dané lokalitě.

Práce Van Dijk (2007) se zaměřila na potenciální a realizovaný seed set u taxonu *Taraxacum officinale* s. l. Daný taxon zahrnoval sexuální a apomiktické jedince, kteří rostli na společných lokalitách. Van Dijk analyzoval realizovaný seed set u jedinců na třech lokalitách, a to v různých letech. Zjistil, že realizovaný seed set je nižší u sexuálních než apomiktických rostlin. Realizovaný seed set byl u apomiktických rostlin na všech třech lokalitách i v různých letech přibližně stejně vysoký. Naopak realizovaný seed set u sexuálních rostlin výrazně kolísal mezi lokalitami a v různých letech. Někdy činil rozdíl realizovaného seed setu mezi sexuálními a apomiktickými rostlinami i přes 50 %. Van Dijk se domnívá, že realizovaný seed set je u sexuálních rostlin nižší kvůli nedostatku opylovačů na lokalitě. Dále analyzoval potenciální seed set. V této práci neanalyzoval semena, ale vajíčka. Z výsledků vyplývá, že sexuální rostliny ($135,7 \pm 9,3$) mají nepatrně vyšší potenciální seed set na úbor než apomiktické rostliny ($131,5 \pm 8,6$). Má diplomová práce a práce Van Dijka (2007) se shodují v potenciálním a realizovaném seed setu. Také jsem zjistil, že potenciální seed set je téměř totožný u sexuálních a apomiktických rostlin nebo je nepatrně vyšší u sexuálních než apomiktických rostlin. Realizovaný seed set byl většinou vyšší u sexuálních diploidů než apomiktických polyploidů.

Práce Cosendai a Hörandl (2010) se zaměřila na cytotypovou stabilitu, způsob rozmnožování a geografickou partenogenezi u druhu *Ranunculus kuepferi*. Zjistili, že sexuální diploidi mají mnohem vyšší realizovaný seed set (v rozmezí mezi 30,70 – 97,14 % s průměrem 67,79 %) než tetraploidi, kteří se rozmnožují převážně apomikticky (v rozmezí mezi 0 – 60,87 % s průměrem 17,96 %). Další cytotypy (3x, 5x a 6x), které mají různý typ

rozmnožování, mají realizovaný seed set nižší než tetraploidní rostliny. Dané výsledky jsou zajímavé, protože ve své diplomové práci jsem zjistil, že realizovaný seed set je většinou vyšší u apomiktických než sexuálních rostlin. Tento rozdíl v realizovaném seed setu by mohl být částečně zapříčiněn tím, že u apomikticky tetraploidních rostlin druhu *Ranunculus kuepferi* dochází k pseudogamii, a to buď opylením jedním nebo dvěma pylovými jádry a u pravých jestřábníků tomu nedochází.

Do budoucna by bylo zajímavé podrobněji analyzovat seed set u sexuálně diploidních rostlin druhu *Hieracium umbellatum* z různých populací v Evropě. Zjistit, jestli diploidní rostliny z populací ve střední Evropě mají jiný seed set než diploidní rostliny z populací v severní Evropě. Dále analyzovat seed set mezi sexuálními a asexuálními taxony, které rostou na společných lokalitách, protože jsem ve své diplomové práci analyzoval seed set pouze na čtyřech lokalitách.

5 Závěr

V diplomové práci jsem analyzoval semena na potenciální a realizovaný seed set a také způsob rozmnožování u 52 taxonů rodu *Hieracium* s. str. z různých částí Evropy.

Všechna analyzovaná semena, která byla odebraná z diploidních populací, vznikla sexuální cestou. U většiny analyzovaných semen, která pocházela z triploidních a tetraploidních populací, jsem našel vznik apomiktickou cestou. Pouze u čtyř taxonů (*Hieracium amplexicaule*, *H. macilentum* s. l., *H. nigrescens* s. l. a *H. rapunculoides*) jsem našel 16 semen, která vznikla sexuálně a ostatní semena apomikticky. Z celkového počtu 6 459 analyzovaných semen z apomiktických rostlin vzniklo zbytkovou sexualitou pouze 0,25 % semen. Ve většině případů se jednalo o BIII hybridy (vznik embrya po opylení z neredukovaného zárodečného vaku), ale pouze ve 3 případech (18,75 %) vzniklo embryo po opylení z redukovaného zárodečného vaku.

Realizovaný seed set byl většinou vyšší u apomiktických než sexuálních taxonů. Pouze u druhu *H. alpinum* byl realizovaný seed set nepatrně vyšší u diploidních (sexuálních) než triploidních (apomiktických) rostlin, u nichž semena pocházela z přírodních populací. Na druhou stranu byl realizovaný seed set mnohem nižší u diploidních než triploidních rostlin, kde byla semena sbírána z pěstovaných rostlin ze skleníku. Je to způsobeno nedostatkem opylovačů a kompatibilních partnerů ve skleníku. Rozptyl v realizovaném seed setu byl většinou vyšší u sexuálních než asexuálních rostlin. Je to způsobeno mírou stochasticity přítomností a aktivitou opylovačů a také přítomností kompatibilních partnerů na lokalitě, kde se sexuálně diploidní rostliny vyskytují.

Z diplomové práce vyplývá, že apomiktické rostliny v průměru produkují větší procento dobře vyvinutých semen a jsou méně náchylné na variabilitu v realizovaném seed setu než sexuální rostliny. To znamená, že apomiktické rostliny mohou mít větší výhodu v kolonizaci nových míst a lépe se udrží na těchto nových místech než sexuální rostliny.

6 Literatura

- Aparicio A. (1994): Karyological studies in *Hieracium baeticum* (*Asteraceae*) from the “Parque Natural de la Sierra de Grazalema” (Southern Spain). – *Flora Mediterranea*, 4, p. 25–34.
- Asker S. (1980): Gametophytic apomixis: elements and genetic regulation. – *Hereditas* 93, p. 277–293.
- Asker S. E. a Jerling L. (1992): *Apomixis in plants*. – CRC Press, Boca Raton.
- Bicknell R. A., Koltunow A. M. (2004): Understanding apomixis: recent advances and remaining conundrums. – *Plant Cell*, 16, p. 228–245.
- Bílá J. (2012): *Zdroje variability v Sorbus aria* agg. – PřF, Katedra botaniky, Bc. Univerzita Karlova, Praha.
- Bergman B. (1941): Studies on the embryo sac mother cell and its development in *Hieracium* subg. *Archieracium*. – *Svensk Botanisk Tidskrift* 35, p. 1–42.
- Bergman B. (1944): A contribution to the knowledge of the embryo sac mother cell and its development in two apomicts. – *Svensk Botanisk Tidskrift*, 38, 249–259.
- Böcher T. W. (1951): Cytological and embryological studies in the amphi-apomictic *Arabis holboellii* complex. – *Biologiske Skrifter / Kongelige Danske Videnskabernes Selskab*, 6(7), p. 1–59.
- Briggs D. a Walters S. M. (1988): *Plant Variation and Evolution*. – 2nd ed. Cambridge University Press, Cambridge.
- Burgess M. B., Cushman K. R., Doucette E. T., Talent N., Frye Ch. T. a Campbell Ch. S. (2014): Effects of apomixis and polyploidy on diversification and geographic distribution in *Amelanchier* (*Rosaceae*). – *American Journal of Botany*, 101, p. 1375–1387.
- Butlin R., Schön I. a Griffiths H. (1998): Introduction to reproductive modes. – In K. Martens, ed. *Sex and parthenogenesis: evolutionary ecology of reproductive modes in Non-Marine Ostracds*, p. 1–24. Backhuys, Leiden.

- Campbell C. S., Greene C. W. a Bergquist S. E. (1987): Apomixis and sexuality in three species of *Amelanchier*, Shadbush (*Rosaceae*, *Maloideae*). – *American Journal of Botany*, 74, p. 321–328.
- Carano E. (1926): Ulteriori osservazioni su *Euphorbia dulcis* L., in rapporto col suo comportamento apomittico. *Annali di Botanica*, 17, p. 50-79.
- Carman J. G. (2001): The gene effect: genome collision and apomixis. In: Savidan Y., Carman J. G. a Dresselhaus T.: The flowering of apomixis: from mechanisms to genetic engineering. – CIMMYT, IRD, European Commission DG (VI), Mexico, p. 95–110.
- Cosendai A. C. a Hörandl E. (2010): Cytotype stability, facultative apomixis and geographical parthenogenesis in *Ranunculus kuepferi* (*Ranunculaceae*). – *Annals of Botany*, 105, p. 457–470.
- Cosendai A. C., Wagner J., Ladinig U., Rosche C. a E. Hörandl (2013): Geographical parthenogenesis and population genetic structure in the alpine species *Ranunculus kuepferi* (*Ranunculaceae*). – *Heredity*, 110, p. 560–569.
- Dawkins R. (1998): Sobecký gen. – Mladá fronta, Praha.
- Dacks J. a Roger A. (1999): The first sexual lineage and the relevance of facultative sex. – *Journal of Molecular Evolution*, 48(6), p. 779–783.
- Danihelka J., Chrtek J. a Kaplan Z. (2012): Checklist of vascular plants of the Czech Republic. – *Preslia*, Praha, 84, p. 647–811.
- Dobeš C. a Vitek E. (2000): Documented chromosome number checklist of Austrian vascular plants. – *Verlag Naturhistorisches Museum*, Wien.
- Doležel J. a Gohde W. (1995): Sex determination in dioecious plants *Melandrium album* and *M. rubrum* using high-resolution flow cytometry. – *Cytometry*, 19, p. 103–106.
- Erdelská O. (1981): Embryologie krytosemenných rostlin. – *Veda Bratislava*.
- Gentcheff G. a Gustafsson Å. (1940): The balance system of meiosis in *Hieracium*. – *Hereditas*, 26, p. 209–249.

- Grimanelli D., Hernández M., Perotti E. a Savidan Y. (1997): Dosage effects in the endosperm of diplosporous apomictic *Tripsacum* (*Poaceae*). – Sexual Plant Reproduction, 10, p. 279–282.
- Grimanelli D., Leblanc O., Perotti E. and Grossniklaus U. (2001): Developmental genetics of gametophytic apomixis. – Trends in Genetics, 17, p. 597–604.
- Gustafsson Å. (1935): Studies on the mechanism of parthenogenesis. – Hereditas, 21, 1–112.
- Hand M. L., Vít P., Krahulcová A., Johnson S. D., Oelkers K., Siddons H., Chrtek J., Fehrer J. a Koltunow A. M. G. (2015): Evolution of apomixis loci in *Pilosella* and *Hieracium* (*Asteraceae*) inferred from the conservation of apomixis-linked markers in natural and experimental populations. – Heredity, 114, p. 17–26.
- Hojsgaard D., Klatt S., Baier R., Carman J. G. a Hörandl E. (2014): Taxonomy and biogeography of apomixis in angiosperms and associated biodiversity characteristics. – Critical Reviews in Plant Sciences, 33(5), p. 414–427.
- Hörandl, E. (2009) Geographical parthenogenesis: opportunities for asexuality. – In I. Schön, K. Martens a P. van Dijk, Eds. Lost Sex: The Evolutionary Biology of Parthenogenesis, 1, p. 161–186.
- Hörandl E. a Paun O. (2007): Patterns and sources of genetic diversity in apomictic plants: implications for evolutionary potentials and ecology. - In: Hörandl E., Grossniklaus U., Van Dijk P., Sharbel T., editors. Apomixis: evolution, mechanisms and perspectives. Ruggell: Gantner. p. 169–194.
- Hörandl E. a Hojsgaard D. (2012): The evolution of apomixis in angiosperms: A reappraisal, Plant Biosystems – An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology: Official Journal of the Societa Botanica Italiana, 146(3), p. 681–693.
- Hunziker H. R. (1954): Beitrag tur Aposporie und ihrer Genetik bei *Potentilla*. – Arch Julius Klaus-Stift Vererbungsforsch, 29, p. 136–222.
- Chrtek J. (1997): Taxonomy of the *Hieracium alpinum* group in the Sudeten Mts., the West and the Ukrainian East Carpathians. – Folia geobotanica et phytotaxonomica, 32, p. 69–97.

- Chrtek J. (2004): *Hieracium* L. – In: Slavík B., Štěpánková J. [eds]: Květena České republiky 7. – Academia, Praha.
- Chrtek J., Mráz P., Zahradníček J., Mateo G. a Szelağ Z. (2007): Chromosome numbers and DNA ploidy levels of selected species of *Hieracium* s. str. (*Asteraceae*). *Folia Geobotanica*, 42, p. 411–430.
- Juel O. (1898): Parthenogenesis bei *Antennaria alpina* (L.) Br. – *Botanisches Centralblatt*, 74, p. 369–372.
- Juel O. (1900): Vergleichende Untersuchungen über typische und parthenogenetische Fortpflanzung bei der Gattung *Antennaria*. – *Kongliga Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar*, 33, p. 1–59.
- Judson O. P. a Normark B. B. (1996): Ancient asexual scandals. – *Trends in Ecology & Evolution*, 11(2), p. A41–A46.
- Kelley A. M., Johnson P. G., Waldron B. L. a Peel M. D. (2009): A survey of apomixis and ploidy levels among *Poa* L. (*Poaceae*) using flow cytometry. – *Crop Science*, 49, p. 1395–1402.
- Klimeš L., Klimešová J., Hendriks R. a van Groenendael J. (1997): Clonal plant architecture: a comparative analysis of form and function. – In: H. de Kroon et J. van Groenendael [eds.]: *The ecology and evolution of clonal plants*. – Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands, p 1–29.
- Kocián J. (2013): Reprodukční systémy polyploidního komplexu *Hieracium prenanthoides*. – Diplomová práce. Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta. Vedoucí práce Mgr. Martin Dančák, Ph.D.
- Koltunow A. M. (1993): Apomixis: embryo sacs and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. – *The Plant Cell*, 5, p. 1425–1437.
- Koltunow A. M. (1994): Apomixis – other pathways for reproductive development in angiosperms. – In *Genetic control of self-incompatibility and reproductive development in flowering plants*. (Williams, E. G., Clarke, A. E. a Knox, R. B. eds.), p. 486–512, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands.

- Kowles R. V., Yerk G. L., Schweizer L., Srienec F. a Phillips R. L. (1994): Flow cytometry for endosperm nuclear DNA. – In *The Maize Handbook* (Freeling M. a Walbot V., eds). New York: Springer, p. 400–406.
- Krahulcová A. a Krahulec F. (1999): Chromosome numbers and reproductive systems in selected representatives of *Hieracium* subgen. *Pilosella* in the Krkonoše Mts (the Sudeten Mts). – *Preslia*, Praha, 71, p. 217–234.
- Krahulcová A., Vladimirov V., Krahulec F. a Bräutigam S. (2016): The agamic complex of *Pilosella* (*Asteraceae*) in Bulgaria and SW Romania: variation in ploidy levels and breeding systems. Part 2. – *Phytologia Balcanica*, Sofia, 22(1), p. 39–62.
- Krahulec F. a Krahulcová A. (2011): Ploidy levels and reproductive behaviour in invasive *Hieracium pilosella* in Patagonia. – *NeoBiota* 11, p. 25–31.
- Krahulec F., Krahulcová A., Fehrer J., Bräutigam S. a Schuhwerk F. (2008): The structure of the agamic complex of *Hieracium* subgen. *Pilosella* in the Šumava Mts and its comparison with other regions in Central Europe. – *Preslia*, Praha, 80, p. 1–26.
- Kříšťálová V., Chrtěk J., Krahulcová A., Bräutigam S. & Krahulec F. (2010): Populations of species of *Pilosella* in ruderal habitats in the city of Prague: frequency, chromosome numbers and mode of reproduction. – *Preslia*, Praha, 82, p. 437–464.
- Křížová I. (2012): Prezentace osobnosti a díla G. J. Mendela v Brně od jeho „znovuobjevení“ do začátku nacistické okupace (1900-1939). – *Bakalářská práce*. Masarykova univerzita, Filozofická fakulta, Brno.
- le Maire M., Champeil P. a Moller J. V. (2000): Interaction of membrane proteins and lipids with solubilizing detergents. – *Biochim Biophys Acta*, 1508(1-2), p. 86–111
- Leblanc O. a Mazzucato A. (2001): Screening procedures to identify and quantify Apomixis. – In: Savidan Y. Carmen JG., Dresselhaus T. (eds.): *The flowering of apomixis: from mechanisms to genetic engineering*, CIMMYT, p. 121–136.
- Lehtonen J., Jennions M. D. a Kokko H. (2012): The many costs of sex. – *Trend in Ecology and Evolution*, 27(3), p. 172–178.
- Liljefors A. (1955): Cytological studies in *Sorbus*. – *Acta Horti Bergiani*, 17, p. 47–113.

- Loughnan D., Thomson J. D., Ogilvie J. E. a Gilbert B. (2014): *Taraxacum officinale* pollen depresses seed set of montane wildflowers through pollen allelopathy. – *Journal of Pollination Ecology*, 13(15), p. 146–150.
- Ma G., Huang X., Xu Q. a Bunn E. (2009): Multiporate pollen and apomixis in *Panicoideae*. – *Pakistan Journal of Botany*, 41, p. 2073–2082.
- Malecka J. (1969): Further cyto-taxonomic studies in the genus *Taraxacum* section *Erythrosperma* Dt. – *Acta Biologica Cracoviensia*, 12, p.57–70.
- Matzk F., Meister A. a Schubert I. (2000): An efficient screen for reproductive pathways using mature seeds of monocots and dicots. – *The Plant Journal*, 21(1), p. 97–108.
- Mendel G. (1866): Versuche über Pflanzen-Hybriden. Verhandlungen des naturforschenden Vereins in Brunn, 4, p. 3–47.
- Mendel G. (1950): Gregor Mendel's Letters to Carl Nägeli. – *Genetics* 35(5, pt 2), p. 1–29 (Originally published as: Abhandlungen der Mathematisch-Physischen Klasse der Königlich Sächsischen Gesellschaft der Wissenschaften 29: 189–265, 1905. Reprinted in "Carl Correns, Gesammelte Abhandlungen zur Vererbungswissenschaft aus periodischen Schriften" 1899–1924. (Fritz V. Wettstein ed.) Berlin, Julius Springer, 1924. p. 1237–1281).
- Merxmüller H. (1975): Diploide *Hieracien*. – *Anales del Instituto Botánico A. J. Cavanilles*, 32, p. 189–196.
- Mráz P. (2001): Chromosome numbers in selected species of *Hieracium* sect. *Alpina* (*Asteraceae*) from Central and eastern Europe. – *Folia Geobotanica*, 36, p. 321–332.
- Mráz P. (2003): The *Hieracium pietroszense* group in the Carpathians. - *Folia Geobotanica*, 38, p. 299–318.
- Mráz P. a Szeląg Z. (2004): Chromosome numbers and reproductive systems in selected species of *Hieracium* and *Pilosella* (*Asteraceae*) from Romania. – *Annales Botanici Fennici*, 47, p. 405–414.
- Mráz P., Chrtek J. a Šingliarová B. (2009): Geographical parthenogenesis, genome size variation and pollen production in the arctic–alpine species *Hieracium alpinum*. – *Botanica Helvetica*, 119, p. 41–51.

- Naumova T. N., Hayward M. D. a Wagenvoort M. (1999): Apomixis and sexuality in diploid and tetraploid accessions of *Brachiaria decumbens*. – Sexual Plant Reproduction, 12, p. 43–52.
- Neiman M., Meirmans S., Meirmans P., Schlichting C. a Mousseau T. (2009): What can asexual lineage age tell us about the maintenance of sex? – Year in Evolutionary Biology, 2009, p. 185–200.
- Nogler G. A. (1984): Gametophytic apomixis. In: Johri BM (ed) Embryology of angiosperms. – Springer, Berlin, p. 475–518.
- Normark B., Judson O. a Moran N. (2003): Genomic signatures of ancient asexual lineages. – Biological Journal of the Linnean Society, 79(1), p. 69–84.
- Noyes R. D. a Givens A. D. (2013): Quantitative assessment of megasporogenesis for the facultative apomicts *Erigeron annuus* and *Erigeron strigosus* (*Asteraceae*) – International Journal of Plant Sciences 174(9), p. 1239–1250.
- Noyes R. D. a Wagner J. D. (2014): Dihaploidy yields diploid apomicts and parthenogens in *Erigeron* (*Asteraceae*). – American Journal of Botany 101(5), p. 865–874.
- Orel V. (2003): Gregor Mendel a počátky genetiky. – Academia, Praha.
- Otto F. (1990): DAPI staining of fixed cells for high-resolution flow cytometry of nuclear DNA. – In: Crissman H. A. a Darzynkiewicz Z. (eds), Methods in cell biology, 33, Academic Press, New York, p. 105–110.
- Paun O., Greilhuber J., Tensch E. M. a Hörandl E. (2006): Patterns, sources and ecological implications of clonal diversity in apomictic *Ranunculus carpathicola* (*Ranunculus auricomus* complex, *Ranunculaceae*). – Molecular ecology, 15, p. 897–910.
- Peckert T. a Chrtek J. (2006): Mating interactions between coexisting diploid, triploid and tetraploid cytotypes of *Hieracium echinoides* (*Asteraceae*). – Folia Geobotanica, 41, p. 323–334.
- Pinheiro J., Bates D., DebRoy S., Sarkar D. a R Core Team (2017). nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1–130.

- Polatschek A. (1966): Cytotaxonomische Beiträge zur Flora der Ostalpenländer, II. – Oesterreichische botanische Zeitschrift, 113, p. 101–147.
- Pulkina S. V. a Tupitsyna N. N. (2000): Poliploidnye komplekxy v rode *Hieracium* (*Asteraceae*). – Turczaninowia, 3: 79–81.
- R Development Core Team (2016): R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Raunkiaer C. (1903): Kimdannelse uden Befrugtning hos Molkebötte (*Taraxacum*). – Botanisk Tidsskrift [Kjøbenhavn], 25, p. 109–140.
- Ridley M. (1999): Červená královna. Sexualita a vývoj lidské přirozenosti. – Mladá fronta, Praha.
- Richards A. J. (1972a): Taxonomic and nomenclatural notes in *Taraxacum*. – Botanical Journal of the Linnean Society, 65, p. 37–45.
- Richards A. J. (1972b): In A. Love, I.O.P.B. chromosome number reports. – Tuxon, 21, p. 165–166.
- Richards A. J. (2003): Apomixis in flowering plants: an overview. – Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B Biological Sciences, 358, p. 1085–1093.
- Rodrigues J. C., Tucker M. R., Johnson S. D., Hrmova M., a Koltunow A. M. (2008): Sexual and apomictic seed formation in *Hieracium* requires the plant Polycomb-group gene Fertilization independent endosperm. – The Plant Cell, 20, p. 2372–2386.
- Rosenberg O. (1907): Cytological studies on the apogamy in *Hieracium*. – Botanisk Tidsskrift 28, p. 143–170.
- Rosenberg O. (1927): Die semiheterotypische Teilung und ihre Bedeutung für die Entstehung verdoppelter chromosomenzahlen. – Hereditas, 8, p. 305–338.
- Rotreklová O. (2004): *Hieracium bauhini* group in Central Europe: chromosome numbers and breeding systems. – Preslia, Praha, 76, p. 313–330.

- Rotreklová O., Krahulcová A., Vaňková D., Peckert T. & Mráz P. (2002): Chromosome numbers and breeding systems in some species of *Hieracium* subgen. *Pilosella* from Central Europe. – *Preslia*, Praha, 74, p. 27–44.
- Rotreklová O., Krahulcová A., Mráz P., Mrázová V., Mártonfiiová L., Peckert T. & Šingliarová B. (2005): Chromosome numbers and breeding systems of some European species of *Hieracium* subgen. *Pilosella*. – *Preslia*, Praha, 77, p. 177–195.
- Rutishauser A. (1967): Fortpflanzungsmodus und Meiose apomiktischer Blütenpflanzen. – *Protoplasmatologia VI/F/3*, Springer, Wien.
- Salomão A. N. a Allem A. C. (2001): Polyembryony in angiospermous trees of the Brazilian cerrado and caatinga vegetation. *Acta Botanica Brasilica*, 15, p. 369–378.
- Sell P. D. a West C. (1976): *Hieracium* L. – In: Tutin T. G., Heywood D. A., Burges N. A., Moore D. M., Valentine D. H., Walters S. M., Webb D. A. [eds]: *Flora Europaea*, Vol. 4. – Athenaeum Press, Newcastle upon Tyne.
- Schou J. Ch. (2001): Danmarks høgeurter (*Hieracium*, *Pilosella*). – Aarhus University Press, Aarhus.
- Schuhwerk F. (1996). Published chromosome counts in *Hieracium*. – URL [http://www.botanischestaatssammlung.de/index/people_index.html]
- Schurko A. M. a Logsdon J. M. (2008): Using a meiosis detection toolkit to investigate ancient asexual "scandals" and the evolution of sex. – *Bioessays*, 30(6), p. 579–589.
- Schurko A. M., Neiman M. a Logsdon J. M. (2009): Signs of sex: what we know and how we know it. – *Trends in Ecology & Evolution*, 24(4), p. 208–217.
- Schwander T. a Crespi B. J. (2009): Multiple direct transitions from sexual reproduction to apomictic parthenogenesis in *Timema* stick insects. – *Evolution*, 63(1), p. 84–103.
- Schwarzbach E., Smýkal P., Dostál O., Jarkovská M. and Valová S. (2014): Gregor J. Mendel – Genetics Founding Father. – *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, Czech Academy of Agricultural Sciences, 50(2), p. 43–51.
- Simon J. C., Risper C. a Sunnucks P. (2002): Ecology and evolution of sex in aphids. – *Trends in Ecology & Evolution*, 17(1), p. 34–39.

- Simpson A. a Roger A. (2004): The real 'kingdoms' of eukaryotes. – *Current Biology*, 14(17), p. R693–R696.
- Skawińska R. (1963): Apomixis in *Hieracium alpinum* L. – *Acta Biol Cracov* 5 (1962), pp. 7–14.
- Slade K. a Rich T. C. G. (2007): Pollen studies in British *Hieracium* sect. *Alpina* (*Asteraceae*). – *Watsonia*, 26, p. 443–450.
- Smith G. L. (1963): Studies in *Potentilla* L. II. Cytological aspects of apomixis in *P. crantzii* (Cr.) Beck ex Fritsch. – *New Phytologist*, 62, p. 283–300.
- Smith J. (1841): Notice of a plant which produces seeds without any apparent action of pollen. – *Transactions of the Linnean Society of London* (meeting of June 18 1839), 18.
- Snyder L. A., Hernandez A. R. a Warmke H. E (1955): The mechanism of apomixis in *Pennisetum ciliare*. – *Botanical Gazete*, 116, 209-221.
- Sokolovskaya A. P. a Strelkova O. S. (1960): Geograficheskoe rasprostranenie poliploidnykh vidov v Evraziyskoy Arktike. – *Botanicheskii Zhurnal*, Moscow a Leningrad, 45, p. 369–381.
- Stace C. A., Gornall R. J. and Shi Y. (1995): Chromosome numbers in *Hieracium* L. Section *Alpina* (Fries) F. N. Williams. – *Watsonia*, 20, p. 367–377.
- Stebbins G. (1957): Self fertilization and population variability in the higher plants. – *American Naturalist*, 91(861), p. 337–354.
- Strasburger E. (1878): Über Polyembryonie. – *Jenaische Zeitschrift für Naturwissenschaften*, 12, p. 647–670.
- Suda J. (2005): Co se skrývá za rostlinnou průtokovou cytometrií. – *Živa*, Praha, 1, p. 46–48.
- Szeląg Z. a Ilnicki T. (2011): Diploid chromosome numbers in *Hieracium* and *Pilosella* (*Asteraceae*) from Macedonia and Montenegro. – *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 53(2), p. 124–126.

- Šingliarová B., Hodálová I., Mráz P. (2011): Biosystematic study of the diploid-polyploid *Pilosella alpicola* group with variation in breeding system: Patterns and processes. – *Taxon*, 60, p. 450–470.
- Tennant D. J. a Rich T. C. G. (2008): British alpine hawkweeds. A monograph of British *Hieracium* section *Alpina*. – Botanical Society of the British Isles, London.
- Tschermak-Woess E. (1949): Diploides *Taraxacum vulgare* in Wien und Niederösterreich. — *Oesterreichische botanische Zeitschrift*, 96, p. 56–63.
- Toman J. (2011): Ekologické souvislosti pohlavního rozmnožování. – PřF, Katedra filosofie a dějin přírodních věd, Bc. Univerzita Karlova, Praha.
- Toman J. (2013): Role ekologických faktorů při udržování sexuality. – PřF, Katedra filosofie a dějin přírodních věd, Mgr. Univerzita Karlova, Praha.
- Trebichavský I. (2015): Živočichové, kteří odvrhli sexuální reprodukci. - *Živa*, Praha, 2, p. XXI.
- Tyler T. and Jönsson J. (2009): Ploidy level analysis of apomictic *Hieracium* (*Asteraceae*) reveal unexpected patterns and variation. – *Nordic Journal of Botany*, 27, p. 490–502.
- Van Dijk PJ. (2003): Ecological and evolutionary opportunities of apomixis: insights from *Taraxacum* and *Chondrilla*. – *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B Biological Sciences*, 358, p. 1113–1121.
- Van Dijk PJ. (2007): Potential and realized costs of sex in dandelions, *Taraxacum officinale*, s. l. In: Hörandl E., Grossniklaus U., van Dijk PJ., Sharbel TF. (eds): *Apomixis: Evolution, mechanisms and perspectives*. – ARG Gantner Verlag KG, Lichtenstein, p. 215–234.
- Vandel A. (1928): La parthénogenèse géographique: Contribution à l'étude biologique et cytologique de la parthenogenèse naturelle. – *Bulletin de Biologie France Belgique*, 62, p. 164–281.
- Vladimirov V. a Szelağ Z. (2006): A new diploid species of *Hieracium* sect. *Pannosa* (*Asteraceae*) from Bulgaria. – *Botanical Journal of the Linnean Society*, 150, p. 261–265.

Warmke H. E. (1954): Cytotaxonomic investigations of some varieties of *Panicum maximum* and *P. purpurascens* in Puerto Rico. *Agron J*, 43, p. 143-191.

Whitton J., Sears C. J., Baack E. J., Otto S. P. (2008): The dynamic nature of apomixis in the angiosperms. – *International Journal of Plant Sciences*, 169(1), p. 169–182.

7 Přílohy

Tab. 1 Lokality sběrů semen taxonů rodu *Hieracium* s. str., ze kterých byly sbírané vzorky semen za účelem stanovení seed setu a způsobu reprodukce. – Vysvětlivky: a) zkratky států dle kódu ISO 3166-1 alpha-2; b) EDG = Emilio Di Gristina, MH = Matthias Hartmann, JCH = Jindřich Chrtek, PM = Patrik Mráz, VM = Viera Mrázová, MŠ = Michal Štefánek, PZ = Pavel Zdvořák; c) P = přírodní populace, S = rostliny pěstované ve skleníku v Průhonicích, Z = rostliny pěstované na zahradě v Mnichovicích.

Název taxonu	Kód populace	Stát ^a	Přibližný popis lokality	Nadmořská výška [m n. m.]	Zeměpisná šířka	Zeměpisná délka	Datum sběru	Sběratel ^b	Sběr semen ^c
<i>H. alpinum</i> L.	H003	CH	oblast Wallis, průsmyk Simplonpass	2270	46.2552	8.0098	2014 a 13/08/2015	PM	P
	H004	CH	oblast Wallis, průsmyk Furkapass	2290	46.5703	8.4082	2014 a 30/08/2015	JCH, MH, MŠ, PM	P
	H020	AT	region Tirol, vrch Großer Leppleskofel	2400	46.8865	12.3703	2014	JCH, MH, MŠ	P
	H022	AT	provincie Kärnten, vrch Kammwand	2370	46.9167	13.3568	2014	JCH, MH, MŠ	P
	H026	AT	provincie Steiermark, vrch Nageleck	1880	47.2698	14.0747	2014	JCH, MH, MŠ	P
	H029	FR	pohoří Chaîne de Belledonne, vrch Pic Couttet	2700	45.1708	5.9747	26/08/2015	PM	P
	H032	SK	pohoří Vnější Západní Karpaty, vrch Babia hora	1720	49.5725	19.5286	26/07/2015	PM	P
	H033	SK	pohoří Nízke Tatry, vrch Chopok	1880	48.9400	19.5877	2014	JCH	P
	H042	SK	pohoří Nízke Tatry, vrch Kráľova hoľa	1830	48.8850	20.1243	2014	JCH	P
	H047	SK	pohoří Vysoké Tatry, vrch Veľká Svišťovka	1930	49.2018	20.2342	2014/2015	JCH	P
	H057	RO	pohoří Munți Bistriței, vrch Pietrosul Bogolin	1600	47.3847	25.5363	2014 a 29/07/2015	JCH, MH, MŠ, PM	P
	H063	UA	pohoří Svitovets, vrch Blyznytsya	1810	48.2217	24.2333	2014	JCH	P

Název taxonu	Kód populace	Stát ^a	Popis lokality	Nadmořská výška [m n. m.]	Zeměpisná šířka	Zeměpisná délka	Datum sběru	Sběratel ^b	Sběr semen ^c
<i>H. alpinum</i> L.	H067	UA	pohoří Schidni Beschady, vrch Pikui	990	48.8253	22.9908	2014	PM	P
	H073	RO	pohoří Parâng, u vrchu Cârja	1980	45.3742	23.5070	2014/2015	JCH, MH, MŠ, PM	P
	H074	RO	pohoří Bučegi, vrch Cocora	2150	45.4040	25.4717	2014/2015	JCH, MH, MŠ, PM	P
	H077	RO	Pohoří Făgăraș, vrch Iezerul Caprei	1730	45.5863	24.6263	2014/2015	JCH, MH, MŠ, PM	P
	H082	CZ	pohoří Krkonoše, vrch Studniční hora	1380	50.7233	15.7040	2014	JCH	P
	H087	BA	pohoří Vranica, vrch Nadkrstac	1980	43.9528	17.7255	2014	MH, MŠ, PM	P
	H094	NO	kraj Telemark, vrch Store Gaustakne	1280	59.8177	8.7200	2014	PM, VM	P
	H095	NO	kraj Oppland, vrch Båtskardet stølane	1160	61.2868	8.8197	2014	PM, VM	P
	H096	NO	kraj Oppland, u vrchu Synshorn	1240	61.3500	8.8087	2014	PM, VM	P
	H099	NO	kraj Nordland, u jezera Umskardtjønna	770	66.1888	14.5410	2014	PM, VM	P
	H100	NO	kraj Nordland, Arctic Polar Circle	640	66.5513	15.3217	2014	PM, VM	P
	H101	NO	kraj Nordland, u jezera Jernvatnet	400	68.5097	17.8720	2014	PM, VM	P
	H102	FI	provincie Laponsko, vrch Malla	560	69.0537	20.7518	2014	PM, VM	P
	H103	NO	kraj Finmark, u jezera Bigášjávrrit	410	70.1550	23.7335	2014	PM, VM	P
	H110	FR	oddělení Savoie, vrch Roc des Pareis	2570	45.3688	7.1022	2014/2015	JCH, MH, MŠ, PM	P, Z
	H111	FR	oddělení Savoie, průsmyk Cormet de Roselend	2010	45.6860	6.6913	2014	JCH, MH, MS	P
H114	AT	provincie Vorarlberg, průsmyk Arlbergpass	2280	47.1217	10.1850	2015	PM	P	

Název taxonu	Kód populace	Stát ^a	Popis lokality	Nadmořská výška [m n. m.]	Zeměpisná šířka	Zeměpisná délka	Datum sběru	Sběratel ^b	Sběr semen ^c
<i>H. alpinum</i> L.	C001	RO	pohoří Munții Rodnei, vrch Vârful Musceta	1770	47.5806	24.8019	2014	MH, MŠ, PM	P
	C002	RO	pohoří Munții Apuseni, vrch Vlădeasa	1830	46.7596	22.7942	2014/2015	JCH, MH, MŠ, PM	P
	HBRO	RO	pohoří Munți Bistriței, vrch Pietrosul Brostenilor	1790	47.3761	25.5411	29/07/2015	JCH, PM	P
	S02A	NO	kraj Nord-Trøndelag, mezi obcemi Røyrvik a Namsskogan	710	64.8722	13.2633	2014	PM, VM	P
	S02B	NO	kraj Nord-Trøndelag, mezi obcemi Røyrvik a Namsskogan	740	64.8714	13.2656	2014	PM, VM	P
	S003	NO	kraj Nord-Trøndelag, mezi obcemi Røyrvik a Namsskogan	740	64.8704	13.2763	2014	PM, VM	P
<i>H. amplexicaule</i> L.	HAMPL_01	IT	kraj Piemonte, u obce Claviere	1530	44.9470	6.7740	27/08/2015	PM	P
	HAMPL_02	FR	pohoří Massif des Écrins, u obce Pelvoux	1650	44.9040	6.4400	27/08/2015	PM	P
	HAMPL_03	FR	pohoří Massif des Écrins, u obce Pelvoux	2690	44.9420	6.4070	27/08/2015	PM	P
<i>H. atratum</i> s. l.	HATRA_s.l._01	NO	kraj Nord-Trøndelag, pohoří Steinfjellet	720	64.8700	13.2800	24/08/2014	PM, VM	P
<i>H. barrelieri</i> Gottschl., Raimondo, Greuter & Di Grist.	HBARR_01	IT	provincie Avellino, u města Mercogliano	1240	40.9429	14.7266	07/07/2015	EDG	P
<i>H. bupleuroides</i> s. l.	HBUPL_s.l._01	SK	pohoří Chočské vrchy, rokle Prosiecka dolina	710	49.1603	19.4952	30/09/2015	JCH	P
	HBUPL_s.l._02	SK	pohoří Pieniny, prielom Dunajca	450	49.4134	20.4509	28/07/2015	PZ	P
<i>H. caesium</i> s. l.	HCAES_s.l._01	CH	oblast Wallis, průsmyk Furkapass	2090	46.5730	8.3900	30/08/2015	PM	P

Název taxonu	Kód populace	Stát ^a	Popis lokality	Nadmořská výška [m n. m.]	Zeměpisná šířka	Zeměpisná délka	Datum sběru	Sběratel ^b	Sběr semen ^c
<i>H. carpaticum</i> s. l.	HCARP_s.l._01	SK	pohoří Vysoké Tatry, u jezera Popradské pleso	1550	49.1479	20.0698	28/08/2015	JCH	P
<i>H. chloropsis</i> Gren. & Godr.	HCHLO_01	FR	oddělení Savoie, u jezera Mont-Cenis	2050	45.2289	6.9619	27/08/2015	PM	P
<i>H. corconticum</i> K. Knaf ex Celak.	HCORC_01	CZ	pohoří Krkonoše, vrch Zlaté návrší	1350	50.7491	15.5508	26/08/2015	JCH	P
<i>H. crinitum</i> Sibth. & Sm.	HCRIN_01	IT	–	–	–	–	18/10/2014	EDG	P
<i>H. glanduliferum</i> Hoppe	HGLAN_01	CH	oblast Wallis, průsmyk Simplonpass	2050	46.2480	8.0340	13/08/2015	PM	P
	HGLAN_02	CH	oblast Wallis, průsmyk Furkapass	2290	46.5703	8.4082	30/08/2015	PM	P
	HGLAN_03	FR	oddělení Savoie, vrch Roc des Pareis	2570	45.3688	7.1022	28/08/2015	PM	P
<i>H. glaucum</i> s. l.	HGLAU_s.l._01	IT	kraj Piemonte, u obce Claviere	1570	44.9464	6.7692	27/08/2015	PM	P
<i>H. grovesianum</i> subsp. <i>rigoanum</i> (Zahn) Zahn	HRIGO_01	IT	Mt. Alpi	–	–	–	09/07/2014	EDG	P
<i>H. halleri</i> Vill.	HHALL_01	CH	oblast Wallis, průsmyk Simplonpass	2280	46.2552	8.0098	13/08/2015	PM	P
	HHALL_02	AT	provincie Vorarlberg, průsmyk Arlbergpass	1970	47.1279	10.1953	15/08/2015	PM	P
	HHALL_03	FR	pohoří Chaîne de Belledonne, vrch Pic Couttet	2700	45.1708	5.9747	26/08/2015	PM	P
	HHALL_04	FR	oddělení Savoie, průsmyk Cormet de Roselend	2140	45.6850	6.6950	28/08/2015	PM	P
	HHALL_05	FR	oddělení Savoie, vrch Roc des Pareis	2570	45.3688	7.1022	28/08/2015	PM	P
	HHALL_06	CH	oblast Wallis, průsmyk Furkapass	2290	46.5703	8.4082	30/08/2015	PM	P
	HHALL_07	SK	pohoří Západné Tatry, u jezer Roháčske plesá	1490	49.2062	19.7521	21/08/2016	JCH	P

Název taxonu	Kód populace	Stát ^a	Popis lokality	Nadmořská výška [m n. m.]	Zeměpisná šířka	Zeměpisná délka	Datum sběru	Sběratel ^b	Sběr semen ^c
<i>H. intybaceum</i> All.	HINTB_01	AT	provincie Vorarlberg, průsmyk Arlbergpass	1970	47.1279	10.1953	15/08/2015	PM	P
	HINTB_02	CH	oblast Graubünden, průsmyk Oberalppass	1910	46.6520	8.6790	2015	PM	P
	HINTB_03	CH	oblast Wallis, průsmyk Furkapass	2200	46.5731	8.3931	30/08/2015	PM	P
	HINTB_04	FR	pohoří Massif des Écrins, u obce Pelvoux	2690	44.9420	6.4070	27/08/2015	PM	P
	HINTB_05	FR	oddělení Savoie, průsmyk Cormet de Roselend	2010	45.6860	6.6913	29/08/2014	PM	P
	HINTB_06	FR	oddělení Savoie, průsmyk Col du Petit Saint-Bernard	2060	45.6580	6.8640	28/08/2015	PM	P
<i>H. jaubertianum</i> Timb.-Lagr. & Loret	HJAUB_01	FR	oddělení Ardèche, u obce Jaujac	520	44.6270	4.2610	05/05/2015	PM	P
	HJAUB_02	FR	oddělení Ardèche, u obce Chandolas	140	44.4120	4.2460	06/08/2015	PM	P
<i>H. jurassicum</i> s. l.	HJURA_s.l._01	SK	Pohoří Vysoké Tatry, u jezera Strbské pleso	1390	49.1269	20.0659	28/08/2015	JCH	P
<i>H. lachenalii</i> s. l.	HLACH_s.l._01	CZ	okres Česká Lípa, u obce Stvolínky	315	50.6406	14.4529	19/07/2015	PZ	P
	HLACH_s.l._02	CZ	okres Jablonec nad Nisou, obec Jřetřn pod Bukovou	525	50.7564	15.2636	16/07/2015	PZ	P
	HLACH_s.l._03	SK	okres Keřmarok, u obce Reřov	1030	49.2780	20.4135	01/08/2015	PZ	P
	HLACH_s.l._04	SK	okres Gelnica, u obce Prakovce	970	48.7760	20.9370	23/07/2015	PM	P
	HLACH_s.l._05	CZ	okres Jindřichův Hradec, zaniklá obec Rajchěřov	615	48.9561	15.2005	21/08/2015	PZ	P
	HLACH_s.l._06	AT	provincie Vorarlberg, průsmyk Arlbergpass	1920	47.1266	10.2060	15/08/2015	PM	P
	HLACH_s.l._07	SK	okres Gelnica, u obce Prakovce	520	48.8206	20.9267	25/07/2014	PM	P
<i>H. laevigatum</i> s. l.	HLAEV_s.l._01	RO	pohoří Munți Bistriței, vrch Pietrosul Bogolin	1010	47.3877	25.5363	11/08/2014	PM	P

Název taxonu	Kód populace	Stát ^a	Popis lokality	Nadmořská výška [m n. m.]	Zeměpisná šířka	Zeměpisná délka	Datum sběru	Sběratel ^b	Sběr semen ^c
<i>H. laevigatum</i> s. l.	HLAEV_s.l._02	SK	okres Gelnica, obec Smolník	630	48.7262	20.7400	07/08/216	PM	P
<i>H. lucidum</i> subsp. <i>cophanense</i> (Lojac.) Greuter	HCOPH_01	IT	vrch Passo del Lupo	–	–	–	21/11/2014	EDG	P
<i>H. lucidum</i> Guss. subsp. <i>lucidum</i>	HLUCI_01	IT	město Palermo, vrch Gallo	–	–	–	13/11/2014	EDG	P
<i>H. macilentum</i> s. l.	HMACI_s.l._01	SK	pohoří Belianské Tatry	1140	49.2439	20.1620	30/07/2015	PZ	P
<i>H. murorum</i> s. l.	HMURO_s.l._01	CZ	okres Jičín, obec Kyje u Jičína	430	50.4923	15.3788	04/07/2015	PZ	P
	HMURO_s.l._02	CZ	okres Semily, u obce Bradlecká Lhota	380	50.4922	15.4034	04/07/2015	PZ	P
	HMURO_s.l._03	CZ	okres Jičín, u obce Pekloves	510	50.5065	15.3540	02/07/2015	PZ	P
	HMURO_s.l._04	CZ	okres Jablonec nad Nisou, u osady Jizerka	930	50.8123	15.3604	15/07/2015	PZ	P
	HMURO_s.l._05	CZ	okres Jablonec nad Nisou, obec Albrechtice v Jizerských horách	530	50.7602	15.2697	17/07/2015	PZ	P
	HMURO_s.l._06	SK	pohoří Belianské Tatry	1540	49.2363	20.2053	31/07/2015	PZ	P
	HMURO_s.l._07	FR	pohoří Chaîne de Belledonne, u obce Revel	1400	45.1850	5.9130	26/08/2015	PM	P
	HMURO_s.l._08	SK	okres Gelnica, u obce Prakovce	800	48.7760	20.9220	24/07/2014	PM	P
	HMURO_s.l._09	SK	okres a město Nové Mesto nad Váhom	240	48.7549	17.8040	07/06/2015	PM	P
	HMURO_s.l._10	SK	okres a u města Nové Mesto nad Váhom	400	48.7478	17.7858	06/08/2015	PM	P
	HMURO_s.l._11	CZ	okres Praha-východ, město Mnichovice	380	49.9450	14.7130	20/06/2015	PM	P
	HMURO_s.l._12	FR	oddělení Savoie, u jezera Mont-Cenis	1740	45.2792	6.9072	27/08/2015	PM	P

Název taxonu	Kód populace	Stát ^a	Popis lokality	Nadmořská výška [m n. m.]	Zeměpisná šířka	Zeměpisná délka	Datum sběru	Sběratel ^b	Sběr semen ^c
<i>H. murorum</i> s. l.	HMURO_s.l._13	FR	oddělení Savoie, vrch Roc des Pareis	2570	45.3688	7.1022	28/08/2015	PM	P
	HMURO_s.l._14	CH	oblast a město Fribourg	610	46.7730	7.1550	04/07/2016	PM	P
	HMURO_s.l._15	AT	pohoří Karawanken, průsmyk Loiblpass	780	46.4883	14.2686	03/09/2016	PM	P
	HMURO_s.l._16	DE	země Baden-Württemberg, město Waldenburg	470	49.1924	9.6427	09/07/2016	PM	P
<i>H. nigrescens</i> Willd.	HNIGR_01	CZ	okres Praha-západ, obec Průhonice, studený skleník	–	–	–	05/06/2015	JCH	Z
<i>H. nigrescens</i> s. l.	HNIGR_s.l._01	RO	pohoří Munții Apuseni, vrch Vlădeasa	1830	46.7596	22.7942	28/07/2015	PM	P
	HNIGR_s.l._02	CH	oblast Wallis, průsmyk Simplonpass	2050	46.2480	8.0340	13/08/2015	PM	P
	HNIGR_s.l._04	RO	pohoří Munții Apuseni, vrch Vlădeasa	1830	46.7596	22.7942	13/08/2014	PM	P
	HNIGR_s.l._05	RO	pohoří Munți Bistriței, vrch Pietrosul Brostenilor	1750	47.3761	25.5411	29/07/2015	PM	P
	HNIGR_s.l._06	FR	oddělení Savoie, průsmyk Cormet de Roselend	2140	45.6850	6.6950	28/08/2015	PM	P
<i>H. nigrescens</i> s. l.	HNIGR_s.l._07	NO	kraj Sør-Trøndelag, u obce Oppdal	1250	62.4340	9.7080	23/08/2014	PM, VM	P
	HNIGR_s.l._08	NO	kraj Nord-Trøndelag, pohoří Steinfjellet	590	64.8600	13.2533	24/08/2014	PM, VM	P
	HNIGR_s.l._09	RO	pohoří Munții Apuseni, vrch Vlădeasa	1830	46.7596	22.7942	28/07/2015	PM	P
<i>H. pallidiflorum</i> Hausm., nom. illeg.	HPALL_01	FR	oddělení Savoie, průsmyk Col du Petit Saint-Bernard	2050	45.6580	6.8640	28/08/2015	PM	P
	HPALL_02	FR	oddělení Savoie, průsmyk Col d'Iseran	2430	45.4336	7.0033	28/08/2015	PM	P
<i>H. petiolare</i> Jord.	HPETI_01	FR	oddělení Ardèche, u města La Souche	490	44.6190	4.2250	08/05/2015	PM	P
<i>H. petrovae</i> Vladimir. & Szelağ	HPETR_01	CZ	okres Praha-západ, obec Průhonice, studený skleník	–	–	–	15/07/2016	PM	S

Název taxonu	Kód populace	Stát ^a	Popis lokality	Nadmořská výška [m n. m.]	Zeměpisná šířka	Zeměpisná délka	Datum sběru	Sběratel ^b	Sběr semen ^c
<i>H. picroides</i> s. l.	HPICR_s.l._01	FR	oddělení Savoie, průsmyk Col du Petit Saint-Bernard	2050	45.6580	6.8640	28/08/2015	PM	P
<i>H. piliferum</i> Hoppe	HPILI_01	FR	pohoří Chaîne de Belledonne, vrch Pic Couttet	2700	45.1708	5.9747	26/08/2015	PM	P
	HPILI_02	CZ	okres Praha-západ, obec Průhonice, studený skleník	–	–	–	29/05/2016	PM	S
<i>H. pilosum</i> s. l.	HPILO_s.l._01	FR	oddělení Savoie, průsmyk Cormet de Roselend	2010	45.6860	6.6913	29/08/2015	PM	P
<i>H. pojoritense</i> Woł.	HPOJO_01	RO	kraj Suceava, obec Pojojâta	690	47.5340	25.4950	10/08/2014	PM	P
<i>H. porrifolium</i> L.	HPORR_01	SI	region horní Carniola, u obce Podljubelj	870	46.4255	14.2694	03/09/2016	PM	P
<i>H. praecurrens</i> s. l.	HPRAE_s.l._01	BA	střední Bosna, u města Fojnica	1510	43.9744	17.7675	06/08/2014	MH, PM, MŠ	P
	HPRAE_s.l._02	RO	kraj Harghita, u města Băile Tușnad	730	46.1470	25.8510	10/08/2014	PM	P
<i>H. prenanthoides</i> Vill.	HPREN_01	IT	kraj Piemonte, u obce Claviere	1570	44.9464	6.7692	27/08/2015	PM	P
	HPREN_02	FR	pohoří Massif des Écrins, u obce Pelvoux	1660	44.9050	6.4414	27/08/2012	PM	P
<i>H. prenanthoides</i> s. l.	HPREN_s.l._01	SK	pohoří Belianské Tatry	1280	49.2481	20.2258	30/07/2015	PZ	P
	HPREN_s.l._02	SK	pohoří Vysoké Tatry, u jezera Popradské pleso	1500	49.1407	20.0689	28/08/2015	JCH	P
	HPREN_s.l._03	SK	pohoří Belianské Tatry	1470	49.2359	20.1990	29/08/2015	PM	P
	HPREN_s.l._04	FR	pohoří Massif des Écrins, u obce Pelvoux	1660	44.9050	6.4414	27/08/2012	PM	P
	HPREN_s.l._05	FR	oddělení Haute-Savoie, u obce Vallorcine	1440	46.0330	6.9380	29/08/2015	PM	P
	HPREN_s.l._06	FR	pohoří Massif des Écrins, u obce Pelvoux	1660	44.9050	6.4414	27/08/2012	PM	P
	HPREN_s.l._07	CH	oblast Wallis, průsmyk Simplonpass	2050	46.2480	8.0340	13/08/2015	PM	P

Název taxonu	Kód populace	Stát ^a	Popis lokality	Nadmořská výška [m n. m.]	Zeměpisná šířka	Zeměpisná délka	Datum sběru	Sběratel ^b	Sběr semen ^c
<i>H. prenanthoides</i> s. l.	HPREN_s.l._08	FR	pohoří Massif des Écrins, u obce Pelvoux	1660	44.9050	6.4414	27/08/2012	PM	P
	HPREN_s.l._09	CZ	Krkonoše, Dolní Labský vodopád	1200	50.7702	15.5499	02/09/2016	JCH	P
<i>H. racemosum</i> s. l.	HRACE_s.l._01	BA	střední Bosna, u města Fojnica	800	43.9789	17.8103	06/08/2014	MH, MŠ, PM	P
<i>H. rapunculoides</i> Arv.-Touv.	HRAPU_01	FR	pohoří Massif des Écrins, u obce Pelvoux	1690	44.9070	6.4380	27/08/2015	PM	P
<i>H. sabaudum</i> s. l.	HSABA_s.l._01	CZ	okres Litoměřice, u obce Zahořany u Litoměřic	210	50.5333	14.2326	10/10/2015	PZ	P
	HSABA_s.l._02	CZ	okres České Budějovice, město Hluboká nad Vltavou	425	49.0514	14.4383	26/09/2015	PZ	P
	HSABA_s.l._03	CZ	okres České Budějovice, město Hluboká nad Vltavou	380	49.0518	14.4286	26/09/2015	PZ	P
	HSABA_s.l._04	CZ	okres Chomutov, u obce Vojnín	425	50.2718	13.2432	12/09/2015	PZ	P
	HSABA_s.l._05	CZ	okres Chomutov, u města Mašřov	420	50.2714	13.2435	12/09/2015	PZ	P
	HSABA_s.l._06	CZ	okres Louny, u obce Břvany	230	50.4085	13.7464	13/09/2015	PZ	P
	HSABA_s.l._07	CZ	okres Chomutov, u obce Vojnín	425	50.2719	13.2399	12/09/2015	PZ	P
	HSABA_s.l._08	CZ	okres Litoměřice, u obce Libochovany	150	50.5587	14.0390	05/10/2015	PZ	P
	HSABA_s.l._09	CZ	okres Litoměřice, obec Velké Žernoseky	170	50.5424	14.0669	05/10/2015	PZ	P
	HSABA_s.l._10	CZ	okres Litoměřice, u obce Libochovany	145	50.5553	14.0390	05/10/2015	PZ	P
	HSABA_s.l._11	CZ	okres Litoměřice, obec Velké Žernoseky	145	50.5394	14.0626	05/10/2015	PZ	P
	HSABA_s.l._12	SK	okres Gelnica, obec Margecany	340	48.8970	21.0170	01/11/2015	PM	P

Název taxonu	Kód populace	Stát ^a	Popis lokality	Nadmořská výška [m n. m.]	Zeměpisná šířka	Zeměpisná délka	Datum sběru	Sběratel ^b	Sběr semen ^c
<i>H. sabaudum</i> s. l.	HSABA_s.l._13	SK	okres Gelnica, u obce Prakovce	730	48.8150	20.9370	31/10/2015	PM	P
	HSABA_s.l._14	CZ	okres Praha-východ, u města Mnichovice	390	49.9250	14.7400	02/11/2014	PM	P
	HSABA_s.l._15	SK	okres a u města Nové Mesto nad Váhom	290	48.7500	17.8040	11/10/2014	PM	P
	HSABA_s.l._16	CZ	okres Praha-východ, u města Mnichovice	410	49.9240	14.7380	18/08/2015	PM	P
	HSABA_s.l._17	SK	pohoří Považský Inovec, u obce Bezovec	590	48.6702	17.9458	28/10/2016	PM	P
<i>H. schmidtii</i> nebo hybrid	HxSCH_01	FR	oddělení Ardèche, u obce Jaujac	400	44.6400	4.2540	07/08/2015	PM	P
<i>H. scitulum</i> s. l.	HSCIT_s.l._01	UA	pohoří Schidni Beschady, vrch Pikui	1280	48.8296	23.0000	21/07/2014	PM	P
<i>H. silesiacum</i> Krause	HSILE_01	SK	pohoří Západné Tatry, u jezer Roháčske plesá	1390	49.2133	19.7497	21/08/2016	JCH	P
	HSILE_02	SK	pohoří Západné Tatry, u jezer Roháčske plesá	1400	49.2132	19.7501	30/09/2016	JCH	P
<i>H. stelligerum</i> Froel.	HSTEL_01	FR	oddělení Ardèche, u obce Jaujac	400	44.6400	4.2540	07/08/2015	PM	P
	HSTEL_02	FR	oddělení Ardèche, obec Thueyts	400	44.6708	4.2193	05/05/2015	PM	P
	HSTEL_03	FR	oddělení Ardèche, obec Thueyts	400	44.6700	4.2100	04/05/2015	PM	P
	HSTEL_04	FR	oddělení Ardèche, obec Thueyts	400	44.6700	4.2106	05/05/2015	PM	P
<i>H. stygium</i> Uechtr.	HSTYG_01	SK	pohoří Vnější Západní Karpáty, vrch Babia hora	1530	49.5690	19.5190	26/07/2015	PM	P
	HSTYG_02	SK	pohoří Západné Tatry, u jezer Roháčske plesá	1410	49.2126	19.7506	21/08/2016	JCH	P
<i>H. sudeticum</i> Sternb.	HSUDE_01	CZ	pohoří Krkonoše, Pančavský vodopád	1300	50.7610	15.5449	26/08/2015	JCH	P
	HSUDE_02	CZ	pohoří Krkonoše, Dolní Labský vodopád	1190	50.7700	15.5500	26/08/2016	JCH	P

Název taxonu	Kód populace	Stát ^a	Popis lokality	Nadmořská výška [m n. m.]	Zeměpisná šířka	Zeměpisná délka	Datum sběru	Sběratel ^b	Sběr semen ^c
<i>H. telekianum</i> Boros & Lengyel	HTELE_01	RO	kraj Harghita, u města Băile Tușnad	790	46.1490	25.8510	10/08/2014	PM, MŠ	P
<i>H. transilvanicum</i> Heuff.	HTRAN_01	RO	pohoří Munți Bistriței, vrch Pietrosul Bogolin	1010	47.3877	25.5363	11/08/2014	PM	P
	HTRAN_02	RO	kraj Harghita, u města Băile Tușnad	730	46.1470	25.8510	10/08/2014	PM	P
<i>H. umbellatum</i> L.	HUMBE_01	SE	provincie Västerbotten, u města Skellefteå	20	64.7194	21.0122	31/08/2014	PM, VM	P
	HUMBE_02	SE	provincie Gävleborgs län, u města Gävle	20	60.6911	17.0839	31/08/2014	PM, VM	P
	HUMBE_03	NO	kraj Nordland, u jezera Fustvatnet	30	65.9080	13.3610	25/08/2012	PM, VM	P
	HUMBE_04	CZ	okres Litoměřice, u obce Velké Žernoseky	180	50.5462	14.0536	05/10/2015	PZ	P
	HUMBE_05	CZ	okres Litoměřice, u obce Libochovany	230	50.5466	14.0499	05/10/2015	PZ	P
	HUMBE_06	SK	okres Gelnica, obec Prakovce	380	48.8140	20.9120	31/10/2015	PM	P
	HUMBE_07	SK	okres Gelnica, obec Prakovce	370	48.8150	20.9120	31/10/2015	PM	P
	HUMBE_08	NO	provincie Nord-Trøndelag, u jezera Snåsavatnet	30	64.2625	12.2706	24/08/2014	PM, VM	P
	HUMBE_09	CZ	okres Litoměřice, u obce Libochovany	220	50.5559	14.0404	01/09/2016	PZ	P
	HUMBE_10	NO	kraj Nordland, město Narvik	50	68.4397	17.4267	27/08/2014	PM	P
<i>H. vagneri</i> Pax	HVAGN_01	RO	pohoří Munți Bistriței, vrch Pietrosul Bogolin	1750	47.3853	25.5386	11/08/2014	PM	P
<i>H. valdepilosum</i> s. l.	HVALD_s.l._01	FR	oddělení Savoie, u obce Bonneval-sur-Arc	2070	45.3770	7.0890	28/08/2015	PM	P
<i>H. villosum</i> s. l.	HVILL_s.l._01	SK	pohoří Belianské Tatry	1720	49.2309	20.2166	30/07/2015	PZ	P
<i>H. vrancei</i> Mráz, species nova	HVRAN_01	RO	pohoří Munții Vrancei, u obce Lepșa	590	45.9430	26.5860	10/08/2014	PM	Z

Název taxonu	Kód populace	Stát^a	Popis lokality	Nadmořská výška [m n. m.]	Zeměpisná šířka	Zeměpisná délka	Datum sběru	Sběratel^b	Sběr semen^c
<i>H. vrancei</i> Mráz, species nova	HVRAN_02	RO	pohoří Munții Vrancei, u obce Lepșa	590	45.9430	26.5860	10/08/2014	MH, PM, MŠ	P

Tab. 2 Přehled analyzovaných rostlin, úborů a semen u seed setu nebo průtokové cytometrie (FCM) a zjištění ploidní úrovně embrya a způsobu reprodukce u analyzovaných taxonů rodu *Hieracium* s. str. – Vysvětlivky: a) počet analyzovaných rostlin/úborů/semín pro zjištění reprodukčního zabezpečení nebo ploidní úrovně embrya, X = nelze zjistit daný počet; b) počet analyzovaných rostlin/úborů pro zjištění seed setu, X = nelze zjistit daný počet; c) plodní úroveň embrya; d) apo = apomiktické rozmnožování, sex = sexuální rozmnožování, zsex = zbytková sexualita.

Název taxonu	Kód taxonu	FCM ^a	Seed set ^b	Ploidie ^c	Způsob rozmnožování ^d
<i>H. alpinum</i> L.	–	853/X/3 987	1 741/X	2x a 3x	apo a sex
<i>H. amplexicaule</i> L.	HAMPL	12/18/96	12/18	3x a 4x	apo, sex a zsex
<i>H. atratum</i> s. l.	HATRA s.l.	6/X/50	4/7	4x	apo
<i>H. barrelieri</i> Gottschl., Raimondo, Greuter & Di Grist.	HBARR	10/30/150	10/30	4x	apo
<i>H. bupleuroides</i> s. l.	HBUPL s.l.	4/X/30	1/2	4x	apo
<i>H. caesium</i> s. l.	HCAES s.l.	1/2/10	1/2	3x	apo
<i>H. carpaticum</i> s. l.	HCARP s.l.	1/X/5	neanalyzováno	4x	apo
<i>H. chloropsis</i> Gren. & Godr.	HCHLO	1/3/15	1/3	4x	apo
<i>H. corconticum</i> K. Knaf ex Celak.	HCORC	1/X/5	neanalyzováno	4x	apo
<i>H. crinitum</i> Sibth. & Sm.	HCRIN	2/X/10	neanalyzováno	4x	apo
<i>H. glanduliferum</i> Hoppe	HGLAN	19/19/95	19/19	3x	apo
<i>H. glaucum</i> s. l.	HGLAU s.l.	6/9/45	7/10	4x	apo
<i>H. grovesianum</i> subsp. <i>rigoanum</i> (Zahn) Zahn	HRIGO	1/X/5	neanalyzováno	4x	apo
<i>H. halleri</i> Vill.	HHALL	21/X/115	20/22	3x	apo
<i>H. intybaceum</i> All.	HINTB	48/76/380	49/78	2x a 4x	2x (sex) a 4x (nezjištěno)
<i>H. jaubertianum</i> Timb.-Lagr. & Loret	HJAUB	14/14/70	15/15	3x	apo
<i>H. jurassicum</i> s. l.	HJURA s.l.	1/X/10	neanalyzováno	3x	apo
<i>H. lachenalii</i> s. l.	HLACH s.l.	51/X/300	51/67	3x a 4x	apo
<i>H. laevigatum</i> s. l.	HLAEV s.l.	14/X/85	14/22	3x	apo
<i>H. lucidum</i> subsp. <i>cophanense</i> (Lojac.) Greuter	HCOPH	2/X/10	neanalyzováno	2x	sex
<i>H. lucidum</i> Guss. subsp. <i>lucidum</i>	HLUCI	1/X/5	neanalyzováno	2x	sex
<i>H. macilentum</i> s. l.	HMACI s.l.	9/9/47	9/9	3x a 5x	2x (apo) a 5x (zsex)
<i>H. murorum</i> s. l.	HMURO s.l.	110/X/701	109/132	3x a 4x	apo
<i>H. nigrescens</i> Willd.	HNIGR	1/1/5	1/1	4x	apo
<i>H. nigrescens</i> s. l.	HNIGR s.l.	49/X/222	50/51	3x a 4x	3x (apo) a 4x (apo a zsex)
<i>H. pallidiflorum</i> Hausm., nom. illeg.	HPALL	21/X/120	20/23	3x	apo
<i>H. petiolare</i> Jord.	HPETI	15/15/75	15/15	3x	apo
<i>H. petrovae</i> Vladimir. & Szelağ	HPETR	neanalyzováno	4/4	–	–
<i>H. picroides</i> s. l.	HPICR s.l.	9/X/61	6/9	3x	apo
<i>H. piliferum</i> Hoppe	HPILI	1/1/5	2/2	3x	apo
<i>H. pilosum</i> s. l.	HPILO s.l.	3/3/15	3/3	3x	apo

Název taxonu	Kód taxonu	FCM ^b	Seed set ^a	Ploidie ^c	Způsob rozmnožování ^d
<i>H. pojoritense</i> Woł.	HPOJO	2/9/50	2/11	2x	sex
<i>H. porrifolium</i> L.	HPORR	14/15/75	14/15	2x	sex
<i>H. praecurrens</i> s. l.	HPRAE s.l.	28/X/215	29/42	3x	apo
<i>H. prenanthoides</i> Vill.	HPREN	28/X/356	31/42	3x	apo
<i>H. prenanthoides</i> s. l.	HPREN s.l.	43/X/300	22/42	3x	apo
<i>H. racemosum</i> s. l.	HRACE s.l.	15/25/125	15/25	3x	apo
<i>H. rapunculoides</i> Arv.-Touv.	HRAPU	8/8/58	8/8/	4x a 5x	4x (apo) a 5x (zsex)
<i>H. sabaudum</i> s. l.	HSABA s.l.	96/129/644	95/129	3x	apo
<i>H. schmidtii</i> nebo hybrid	HxSCH	3/3/15	3/3	2x	sex
<i>H. scitulum</i> s. l.	HSCIT s.l.	17/X/92	15/17	3x a 4x	apo
<i>H. silesiacum</i> Krause	HSILE	4/X/19	neanalyzováno	4x	apo
<i>H. stelligerum</i> Froel.	HSTEL	34/X/245	35/49	2x	sex
<i>H. stygium</i> Uechtr.	HSTYG	8/X/40	6/6	4x	apo
<i>H. sudeticum</i> Sternb.	HSUDE	6/X/30	neanalyzováno	4x	apo
<i>H. telekianum</i> Boros & Lengyel	HTELE	1/X/24	1/4	3x	apo
<i>H. transilvanicum</i> Heuff.	HTRAN	46/64/309	47/66	2x	sex
<i>H. umbellatum</i> L.	HUMBE	75/136/672	76/140	2x a 3x	2x (sex) a 3x (apo)
<i>H. vagneri</i> Pax	HVAGN	16/16/76	16/16	4x	apo
<i>H. valdepilosum</i> s. l.	HVALD s.l.	5/5/25	5/5	3x	apo
<i>H. villosum</i> s. l.	HVILL s.l.	4/4/20	4/4	3x	apo
<i>H. vrancei</i> Mráz, species nova	HVRAN	23/X/120	25/29	2x	sex