

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



**Alena Voltrová**

Triploidní rostliny: bariéra nebo prostředník genového toku u diploidně-polyploidních druhů?  
*Triploid plants: barriers or mediators of gene flow in diploid-polyploid species?*

Bakalářská práce

Vedoucí práce: RNDr. Filip Kolář, Ph.D.

Praha, 2021

## **Poděkování**

Ráda bych poděkovala vedoucímu mé práce, RNDr. Filipu Kolářovi, Ph.D., za cenné rady, trpělivou podporu a celkové vedení při psaní této práce.

## **Prohlášení**

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

V Praze, 5. května 2021

Podpis:

# Abstrakt

Cílem této práce je zaměřit se na znalosti o evolučním významu triploidních rostlin, způsoby jejich vzniku a mechanismy, které tomu zabraňují, a dále se pokusit zodpovědět otázku, zda triploidi hrají spíše roli prostředníka či bariéry v genovém toku mezi populacemi, které se liší počtem chromozomových sad (diploidními a tetraploidními). Produkce neredukovaných gamet je považována za hlavní způsob vzniku triploidů v jinak diploidních populacích, kdy dojde ke splnutí gamety haploidní a diploidní. Naopak ve smíšených di-tetraploidních populacích triploidi vznikají hybridizací. Frekvence vzniku a reprodukční úspěšnost triploidů snižuje celá řada reprodukčních bariér, a to pre- i postzygotických, z nichž nejvýznamnější je tzv. triploidní blok způsobený nevybalancovaným poměrem původně mateřských a otcovských genů ve výživovém pletivu endospermu. Ačkoliv vznik triploidů je doprovázen mnoha bariérami, které mají za následek jejich sníženou životaschopnost a fertilitu, hrají triploidi v populacích podstatnější roli, než by se mohlo na první pohled zdát z jejich zpravidla vzácného výskytu v přírodě. Jako prostředník genového toku slouží v případě, že skrze tzv. triploidní most zprostředkovávají tok genů mezi sudými ploidiemi. Naopak četnost jejich formace a plodnost do značné míry přímo určuje sílu bariéry v křížení mezi ploidiemi, a tedy stupeň do něhož v daném systému pokročila polyploidní speciace.

**Klíčová slova:** triploidní rostliny, reprodukční izolace, triploidní blok, neredukované gamety, genový tok, polyploidní komplex

# Abstract

The aim of this work is to review our knowledge on the evolutionary significance of triploid plants, modes of their origin and mechanisms preventing triploid formation, and to answer the question of whether triploids act rather as mediators or barriers in gene flow between populations possessing different numbers of chromosome sets (diploid and tetraploid). The production of unreduced gametes is considered to be the major pathway of triploid formation in otherwise diploid populations, following the merger of haploid and diploid gamete. In contrast, in mixed di-tetraploid populations, triploids are usually formed by interploidy hybridization. The frequency of formation and fitness of triploids is reduced by a number of reproductive barriers, both pre- and postzygotic, the most important of which is the so-called triploid block caused by an unbalanced ratio of originally maternal and paternal genes in the nourishing tissue endosperm. Although the formation of triploids is accompanied by many barriers, which also further translate to their reduced viability, followed by additional reduction in fertility due to meiotic problems, triploids play a more important role in populations than might be expected solely on the basis of their rare occurrence in nature. Triploids act as mediators of gene flow between individuals of even ploidy through the so-called triploid bridge. On the contrary, the rates of their formation and subsequent fertility determines to a large extent the strength of the barrier in crossing between ploidy, and thus the degree to which polyploid speciation has advanced in a given system.

**Key words:** triploid plants, reproductive isolation, triploid block, unreduced gametes, gene flow, polyploid complex

## Obsah

1	Úvod.....	1
1	Mechanismy vedoucí ke vzniku triploidů.....	3
1.1	Pohlavní a nepohlavní rozmnožování triploidů.....	3
1.2	Neredukované gamety.....	5
1.3	Hybridizace.....	5
1.4	Somatické mutace.....	5
2	Mechanismy stojící za triploidní (ne)tvorbou – reprodukční izolace a triploidní blok.....	7
2.1	Prezygotické bariéry.....	7
2.2	Postzygotické bariéry.....	8
2.2.1	Triploidní blok.....	8
2.2.2	Snížená fertilita triploidů.....	10
2.3	Polyploidizace jako postpolinační reprodukční izolace.....	11
3	Role triploidů v genovém toku mezi ploidiemi.....	12
3.1	Uchycení nových tetraploidů.....	16
5	Praktický projekt.....	17
6	Závěr.....	20
	Literatura.....	22

# 1 Úvod

Polyploidie, neboli vlastnictví více než dvou kompletních sad chromozomů, je u krytosemenných rostlin běžnou záležitostí (Comai, 2005; Cui et al., 2006; Soltis & Soltis, 1999). Pravděpodobně všechny krytosemenné rostliny v minulosti prošly alespoň jedním, spíše však více koly genomové duplikace (Soltis et al., 2009). Polyploidizace, proces znásobení chromozomových sad, je považována za hlavní prostředek sympatrické speciace (Ramsey & Schemske, 1998; Rieseberg & Willis, 2008). Ačkoliv k polyploidizaci dochází pouze v jednom kroku, z generace na generaci, je pravděpodobně součástí dlouhotrvajících evolučních procesů a souvisí také s environmentálními změnami a se stresem (Van De Peer et al., 2017). Celogenomová duplikace pravděpodobně může rostlinám přinést vyšší odolnost vůči patogenům a biotickému i abiotickému stresu (Van de Peer et al., 2021). Velmi pravděpodobně i ty druhy krytosemenných rostlin, které jsou dnes považovány za diploidní, byly v minulosti polyploidní, ale jejich předchůdce již vyhynul (Briggs & Walters, 2001) nebo již došlo k chromozomovým přestavbám a následnému navrácení k diploidnímu počtu (Wendel, 2015).

Triploidie je nejnižší stupeň polyploidie. Triploidní rostliny mají o jednu sadu chromozomů více než běžné, diploidní rostliny, a kvůli tomu čelí znevýhodnění v podobě nízké plodnosti. Meiotické dělení, které je nezbytné pro správnou tvorbu gamet samčích i samičích, je třetí sadou chromozomů komplikováno, dochází k chybnému párování homologních chromozomů a důsledkem toho vznikají neplodné gamety (Ramsey & Schemske, 1998). Proti vzniku triploidních rostlin v přírodě fungují reprodukční bariéry (E. Baack et al., 2015), z nichž nejsilnější je triploidní blok, který vzniká nevyváženým poměrem maternálního a paternálního genomu v endospermu (Köhler et al., 2010). Endosperm je stěžejním pletivem pro správný vývoj embrya a jeho poškození je pro embryo často letální. Elegantním řešením těchto reprodukčních bariér je pro triploidy nepohlavní rozmnožování v podobě klonů a apomixie, jehož pomocí obejdou meiotické nesrovnalosti a snáze se uchytí v populaci (Bicknell & Koltunow, 2004; Chrtek et al., 2017; Kolář et al., 2017). Obecně byli triploidi v minulosti považováni za neplodné, ale s pokrokem vědeckých metod na přelomu století vyšlo najevo, že jejich fitness může být poměrně vysoká (Burton & Husband, 2000; Ramsey & Schemske, 1998). Záleží však na druhu, možnostech jejich vzniku (daných například vzdáleností diploidních a tetraploidních populací) a ekologických podmínkách stanovišť jejich výskytu.

Hlavním cílem mé práce je zaměřit se na mechanismy bránící nebo naopak vedoucí ke vzniku triploidních rostlin a zhodnotit roli triploidních hybridů v genovém toku mezi populacemi s rozdílnou ploidií. Tato práce není zaměřena na hybridizaci vyšších ploidií, protože na toto téma bylo provedeno méně studií a již nesouvisí přímo se vznikem polyploidů, jejichž další diverzifikace do vyšších stupňů polyploidie může navíc podle experimentálních studií probíhat snadněji (Sonnleitner et al., 2016; Sutherland & Galloway, 2017).

Genový tok mezi populacemi je regulován reprodukčními bariérami, které určují míru speciace (E. Baack et al., 2015; Rieseberg & Willis, 2008). Genový tok může být nízký díky reprodukční izolaci, která zabrání hybridizaci a populace jsou stabilní a navzájem intaktní, nebo na druhou stranu, v případě slabé reprodukční izolace, dochází k většímu genovému toku a hybridizaci mezi dvěma populacemi, které se tím v čase mění. Ve většině případů není reprodukční izolace kompletní a genový tok alespoň v nenulové intenzitě probíhá, a v případě diploidně-tetraploidních komplexů pak právě triploidy hrají centrální roli. Pro triploidy je tato role dvojitá (Kolář et al., 2017). V první řadě představují bariéru genového toku, která je předurčena nízkou životaschopností a plodností triploidů jako F1 hybridů. Tato bariéra je zajištěna reprodukční izolací a způsobuje snížení toku genů v obou směrech (směrem od diploidních jedinců k tetraploidním i směrem opačným). Ve směru od diploidů k tetraploidům je však možné tuto bariéru obejít skrze neredukované gamety.

Díky tomu, že triploidní bariéra nebývá kompletní, se skrze tuto nedokonalost projevuje druhá role triploidů, a to role prostředníka genového toku. Díky triploidům může docházet k obousměrnému přenosu genů z diploidní populace do tetraploidní a naopak. Tento tzv. triploidní most také přispívá ke vzniku nových tetraploidních jedinců a jejich následnému uchycení v populaci (Burton & Husband, 2001; Husband, 2004). Doposud však byla výskytu triploidů a jejich reálnému křížení v mixoploidních populacích věnována příliš malá pozornost. Nedostávají se zejména empirická data propojující frekvenci vzniku triploidů s jejich schopností tvořit životaschopné gamety a hybridizovat s jedinci jiných, častějších ploidií, zejména diploidů a tetraploidů. Cílem této práce proto je rešerše poznatků ze studií triploidních rostlin a jejich významu v genovém toku v diploidně-polyploidních komplexech krytosemenných rostlin.

Tato oblast rostlinné evoluce nabízí široké možnosti pro následující výzkum. Lepší porozumění triploidů a jejich role v populaci je cesta k pochopení evoluce polyploidních komplexů v přírodních populacích polyploidních druhů.

# 1 Mechanismy vedoucí ke vzniku triploidů

Triploid je označení pro organismus, který vlastní tři sady chromozomů v somatických buňkách místo obvyklých dvou. Jedná se o jeden z typů polyploidizace neboli znásobení chromozomových sad, při kterém se triploid vyvíjí s jednou sadou chromozomů navíc. V této práci bude použito značení jedné sady chromozomů malým písmenem  $x$ . U triploidů se tedy jedná o  $3x$  a obdobně je tomu tak i u dalších ploidii (diploid –  $2x$ , tetraploid –  $4x$ ). Je však podstatné rozlišení  $x$  od malého písmene  $n$ . To bude použito pro označení haploidních buněk, tedy buněk s polovičním počtem chromozomů (gamety), než mají buňky somatické u téhož jedince. Ty mají neredukovaný počet chromozomů a označují se  $2n$ . U diploidních rostlin tedy platí, že  $2n = 2x$ . Například u tetraploidů však platí, že  $2n = 4x$ , neboť buňky v pletivech jsou neredukované a k tomu mají ještě zdvojený počet chromozomů. V případě gamety produkované tetraploidní rostlinou, při jejichž tvorbě dochází k redukčnímu dělení, tedy platí, že  $n = 2x$ . Například *Chamerion angustifolium* (Onagraceae) se vyskytuje v Severní Americe ve formě diploidní ( $2n = 2x = 36$  chromozomů) a tetraploidní ( $2n = 4x = 72$  chromozomů) (Burton & Husband, 2001). V zóně kontaktu těchto dvou ploidii lze nalézt v přírodě i rostliny triploidní ( $2n = 3x = 54$  chromozomů).

## 1.1 Pohlavní a nepohlavní rozmnožování triploidů

Pohlavní rozmnožování je pro triploidy komplikovaný proces, protože čelí meiotickým nesrovnalostem a mají nízkou životaschopnost i fertilitu. V případě křížení triploidů mezi sebou nebo jejich samoopylení by bylo možné předpokládat, že potomstvo bude převážně triploidní, ale není tomu tak a dochází ke vzniku pouze 10 % potomstva s triploidním genomem ( $3x \times 3x = 3x$ ) (Ramsey & Schemske, 1998). Proto se usuzuje, že triploidi se v populacích neudrží pohlavním rozmnožováním, ale rozmnožují se nepohlavně, a to klonálně či apomikticky. Nepohlavní rozmnožování totiž umožní triploidům obejít problémy s meiotickým dělením a nízkou fertilitou, a proto je pro ně výhodnější.

Příkladem apomixie může být rod *Taraxacum* (Asteraceae) sekce *Ruderalia*, která zahrnuje více než 2000 druhů diploidních a triploidních rostlin. Pouze méně než 10 % druhů této sekce jsou diploidi ( $2n = 2x = 16$ ), kteří se obligátně rozmnožují pohlavně a jsou výhradně cizosprašní. Všechny ostatní druhy jsou triploidní a rozmnožují se apomikticky ( $2n = 3x = 24$ ) (Meirmans et al., 1999).

Dalším podobným příkladem je druh jeřáb (*Sorbus*), který se rozmnožuje pohlavně převážně v diploidní formě. Triploidní forma se převážně rozmnožuje apomixií. Má nejméně



životaschopný pyl a je cizosprašná, nepohlavní rozmnožování je pro ni tedy výhodou. Tetraploidní forma se rozmnožuje pohlavně i nepohlavně, je fakultativně apomiktická a samosprašná (Lepší et al., 2019). Apomixie bývá vysvětlována jako pasivní únik před sterilitou, ale má kladný adaptivní význam. Polyploidní druhy se mohou díky ní lépe adaptovat na zvláštní typy stanovišť, navíc mnoho polyploidů je apomiktických jen fakultativně, ne obligátně. Tím spíše se potvrzuje, že apomixie napomáhá adaptaci na nová stanoviště (Briggs & Walters, 2001).

Dalším příkladem, který je v současnosti kontroverzní, je rod orsej (*Ficaria*). Vyskytuje se v přírodě v diploidní a tetraploidní formě, diploidní *Ficaria calthifolia* ( $2n = 2x = 16$ ) a tetraploidní *Ficaria verna* subsp. *verna* ( $2n = 4x = 32$ ). Vzácně lze v jejich kontaktních zónách nalézt hybridní triploidní ( $2n = 3x = 24$ ) či pentaploidní formu ( $2n = 5x = 40$ ). Donedávna byl všeobecný názor o rozmnožování rodu *Ficaria* takový, že diploidi se rozmnožují především pohlavně a vyšší ploidie apomikticky (Briggs & Walters, 2001). Avšak studie Popelka et al., (2019) je v rozporu s tímto názorem, protože experimentální křížení tetraploidní *F. verna* subsp. *verna* s diploidní *F. calthifolia* ( $4x \times 2x$ ) bylo překvapivě velmi úspěšné a dalo vznik hybridním triploidům (počet semen byl nízký, ale jejich klíčivost vysoká, 80 %). V této studii nebyly prokázány žádné prvky apomixie.

Chrtek et al. (2017) zkoumali druh *Pilosella echioides* (Asteraceae), který se vyskytuje v oblasti u Znojma v mixoploidní populaci se všemi ploidiemi od  $2x$  po  $6x$ . Zajímavé je, že až 70 % rostlin v této oblasti jsou triploidi. O tomto druhu je známo, že není samosprašný a rozmnožuje se pohlavně semeny i nepohlavně tvorbou dceřiných růžic. Právě tato schopnost nepohlavního rozmnožování stojí za vysokou úspěšností triploidů a díky tomu se jim také zřejmě podařilo překonat vyloučení minoritního cytotypu.

Tato práce se bude dále zabývat vznikem a rolí triploidů u druhů rozmnožujících se pohlavně. Podle Ramsey & Schemske (1998) ke vzniku nových triploidních jedinců, neotriploidů, dochází v populacích častěji, než k jejich autonomnímu rozmnožování. Hlavními mechanismy jejich vzniku *de novo* jsou tvorba neredukovaných gamet a hybridizace. V prvním případě dojde ke splynutí neredukované a redukované gamety a tím vznikne neotriploid. K jeho vzniku dojde v jedné diploidní populaci a je velmi vzácný. Ve druhém případě dochází k hybridizaci mezi dvěma populacemi lišícími se ploidií. Ke vzniku triploida dochází při křížení tetraploida ( $n = 2x$ ) s diploidem ( $n = x$ ), kdy splynou redukované gamety obou rostlin a vzniká triploidní hybrid,  $2x + x = 3x$ . Oba tyto mechanismy jsou popsány níže.

## 1.2 Neredukované gamety

U běžných diploidních rostlin dochází ke vzniku redukovaných gamet meiotickým dělením. Tyto gamety jsou samčí spermatické buňky v pylových zrnech a samičí vaječné buňky, z nichž každá je ukryta v zárodečném vaku. Splynutím těchto haploidních gamet dochází ke vzniku zygoty, která je opět diploidní, tedy  $n + n = 2n$ . V přírodě však dochází i ke vzniku neredukovaných gamet, které si zachovávají somatický počet chromozomů, tedy  $2n$ . Vznik těchto gamet je způsoben meiotickou dysfunkcí, která je indukována genetickými nebo environmentálními podmínkami (Bretagnolle & Thompson, 1995). Nejčastěji jsou neredukované gamety tvořeny meiotickou nukleární restitucí, která může nastat v prvním i druhém meiotickém dělení (Bretagnolle & Thompson, 1995; Ramsey & Schemske, 1998). V prvním případě dojde k produkci gamet, které jsou heterozygotní, protože obsahují nesesterské chromatidy od otce i od matky, zatímco v druhém případě vznikají gamety méně heterozygotní, protože obsahují chromatidy sesterské (Bretagnolle & Thompson, 1995).

V případě, že neredukovaná gameta splyne s redukovanou gametou, dochází ke vzniku triploidního jedince, tedy  $2n + n = 3n$  ( $3x$ ). Tento mechanismus je považován za nejběžnější způsob vzniku triploidů (Bretagnolle & Thompson, 1995; Ramsey & Schemske, 1998).

## 1.3 Hybridizace

Druhým způsobem vzniku triploida je hybridizace, tedy vznik triploida v místě kontaktu dvou populací stejného diploidního druhu, který je však diferencován allopatricky (Petit et al., 1999). Triploid je pak hybridem vzniklým křížením diploidního jedince (z  $2x$  populace) s tetraploidním (z  $4x$  populace), kdy se v obou případech jedná o redukované gamety. Dochází tedy ke splynutí redukované gamety diploida ( $n = x$ ) a redukované gamety tetraploida, (kde  $n = 2x$ ) a tím vzniká  $x + 2x = 3x$  (Burton & Husband, 2001; Ramsey & Schemske, 1998). Tímto způsobem vznikají triploidní rostliny na kontaktních zónách dvou cytotypů.

## 1.4 Somatické mutace

Polyploidie může vzniknout i jinými mechanismy než skrze neredukované gamety nebo hybridizaci. Do těchto mechanismů patří mutace jako jsou somatická duplikace, polyembryonie a polyspermie.

Somatická duplikace je mutace, při které dojde ke zdvojnásobení chromozomů. K tomu může dojít již v zygotě nebo raném embryu, čímž vznikne čistě polyploidní rostlina. To je způsobeno například tepelným šokem (Randolph, 1932). Jestliže však dojde ke zdvojení

později, vyroste například tetraploidní větev nebo prýt na jinak diploidní rostlině a vznikne mixoploidní chiméra (Ramsey & Schemske, 1998). Slavným případem somatické allopolyploidie již z 19. století je *Primula kewensis*, která byla objevena roku 1899 jako neplodný diploidní hybrid *P. floribunda* × *P. verticulata*. Při jejím pěstování se však nejméně třikrát urodila semena. Všechny rostliny vyklíčené z těchto semen byly tetraploidní a plodné. U jedné z původních hybridních rostlin se zjistilo, že vegetativní buňky prýtu, na němž vyrostla semena, jsou tetraploidní, ačkoliv ostatní části jsou diploidní a květenství z těchto diploidních částí byla sterilní. Somatickým zdvojením chromozomů může tedy dojít k překonání neplodnosti díky polyploidizaci (Briggs & Walters, 2001). Tyto pokusy však byly prováděny již před dlouhou dobou a bylo by užitečné prověřit tyto informace molekulárními metodami.

Polyembryonie je případ polyploidie vzniklé zdvojením embryí jako je tomu u dvojčat. Tato mutace je však pravděpodobně způsobena spíše meioticky než somaticky. V případě polyspermie dojde k oplození vajíčka více spermiemi a tento způsob vzniku polyploidie je znám například u orchidejí (Ramsey & Schemske, 1998). Detailnější informace jsou stále předmětem výzkumu.

Somatická polyploidizace však pravděpodobně nestojí za vznikem triploidů, protože se jedná o násobení chromozomů, a tudíž budou tímto způsobem vznikat pouze sudé ploidie. Právě to je však důležitou rolí triploidů v případě, kdy dojde k somatické duplikaci v pletivu triploida a vznikne hexaploidní (6x) prýt či celá rostlina. Takto tedy může i sterilní triploid dát vznik hexaploidu s obnovenou fertilitou v jediném kroku. Právě k tomuto případu došlo u sterilního triploidního F1 hybridu *Arabidopsis thaliana* (2x) × *A. suecica* (4x), na kterém vyrostl hexaploidní prýt, který urodil 37 životaschopných semen (Matsushita et al., 2012). Obdobně vznikl hexaploid *Senecio cambrensis* z původně triploidního hybridu *S. ×baxteri*, jehož rodiče jsou *S. vulgaris* (tetraploid) a *S. squalidus* (diploid) (Hegarty et al., 2005) nebo například hexaploid *Mimulus peregrinus* z triploidního *M. ×robertsii* (Vallejo-Marín et al., 2015).

## 2 Mechanismy stojící za triploidní (ne)tvorbou – reprodukční izolace a triploidní blok

Reprodukční izolaci lze rozdělit na dva typy bariér: prezygotické a postzygotické (E. Baack et al., 2015; Husband & Sabara, 2004; Ouyang & Zhang, 2018; Ramsey & Schemske, 1998).

Prezygotické bariéry jsou procesy, které zabraňují samotnému vzniku zygoty, tedy oplození vajíčka spermatickou buňkou. Embryo tedy vůbec nevznikne. Naopak postzygotické bariéry jsou procesy, které nastávají až po vzniku zygoty a zabraňují vývoji embrya nebo zajistí jeho budoucí neplodnost. V této práci jsou bariéry rozděleny převážně na pre- a postzygotické. Tato kapitola je zaměřena na bariéry vzniku hybridních rostlin při křížení rostlin lišících se ploidii.

### 2.1 Prezygotické bariéry

Mezi prezygotické bariéry oddělující jedince téhož druhu lišící se ploidii zahrnují Husband & Sabara (2004) mimo jiné geografickou izolaci a asynchronní kvetení. Geografická izolace je mezi různými ploidii velmi častá. Je alespoň z části vyvinuta u většiny polyploidních komplexů a je to významná prezygotická bariéra (např. u druhů *Taraxacum sp.* (Meirmans et al., 1999), *Chamerion angustifolium* (Sabara et al., 2013), *Dactylis glomerata L.* (Zohary & Nur, 1959), *Pilosella echinoides* (Trávníček et al., 2011), *Senecio carniolicus* (Hülber et al., 2015), *Ranunculus adoneus* (E. J. Baack, 2004)). Jejím účinkem je snížení toku genů mezi populacemi, protože se každá nachází v jiné oblasti a je tedy nepravděpodobné, že dojde k opylení jedné ploidie ploidii jinou. Výjimkou jsou kontaktní zóny, které se tvoří v místě překryvu nebo těsného sousedství dvou populací a může zde docházet k hybridizaci.

Modelovým druhem reprodukční izolace u polyploidů je vrbovka úzkolistá (*Chamerion angustifolium*), která roste v Severní Americe v diploidní a tetraploidní formě. Diploidi rostou ve vyšších nadmořských výškách a zeměpisných šířkách než tetraploidi. Přejít mezi těmito oblastmi tvoří kontaktní zónu ve Skalnatých horách (Rocky Mountains) (Burton & Husband, 2001). Diploidi a tetraploidi projevují také časovou izolaci v době kvetení, kdy diploidní jedinci kvetou o 10 dní dříve než tetraploidní. Kvůli této asynchronii je doba, kdy obě ploidie kvetou zároveň, zkrácena na 87 % celé periody a snižuje se možnost vzájemného křížení (Husband & Sabara, 2004).

Wallace byl toho názoru (z roku 1912), že selekce bude podporovat evoluci prezygotických bariér v případě, že ty postzygotické již existují. Tím pádem rostliny nebudou plýtvat gametami, které by později vedly ke vzniku neživotaschopných hybridů v důsledku

postzygotické bariéry. Tento proces je známý jako „Wallaceův efekt“ nebo reinforcement. Navzdory nejasnostem tohoto procesu, které jsou stále řešeny, ukazují teoretické i experimentální pokusy, že tento proces může zvýšit selekci proti produkci meziploidních hybridů s nízkou životaschopností nebo proti zbytečnému plýtvání gametami či ucpání blizen (E. Baack et al., 2015).

Příkladem výše zmíněného reinforcementu je rozdílnost barvy květů homoploidních druhů *Phlox drummondii* a *P. cuspidata*, kterou se zabývali vědci Hopkins & Rausher (2012). V alopatrických populacích mají oba druhy světle modré květy, zatímco v sympatrických populacích má *Phlox drummondii* tmavě červené květy. Rozdíl v barvě květů přispívá k nižší hybridizaci, protože odlišné barvy lákají různé typy opylovačů a omezí se tak mezidruhový přenos pylu. Tím dojde k nižší tvorbě hybridů, kteří mají sníženou fitness kvůli postzygotickým bariérám (Hopkins & Rausher, 2012). Reinforcement u polyploidních rostlin, přestože je vzhledem k silné postzygotické bariéře v tvorbě triploidů pravděpodobný, je však málo zkoumaný a bývá spíše součástí hypotéz (Kolář et al., 2017).

## 2.2 Postzygotické bariéry

Nejvýznamnější postzygotickou bariérou pro triploidy je bezpochyby triploidní blok, jemuž je věnována následující podkapitola, a jejich snížená fertilita.

### 2.2.1 Triploidní blok

Triploidní blok je silná postzygotická bariéra přenosu genů mezi diploidy a polyploidy (Husband & Sabara, 2004; Morgan et al., 2021; Petit et al., 1999; Ramsey & Schemske, 1998). Triploidní blok je způsoben genomovou nevyrovnaností rodičů a s tím spojenými vývojovými vadami v semeni, kde se vyvíjí triploidní potomek. Vývojové vady jsou způsobeny nesprávným poměrem ploidií v pletivu endospermu, který hraje klíčovou roli ve vývoji embrya a dodává mu potřebné živiny.

Podle vývojových a molekulárních výzkumů (Köhler et al., 2010; Ramsey & Schemske, 1998; Scott et al., 1998) je snížená životaschopnost triploidů způsobena abnormálním vývojem endospermu, který slouží embryu jako výživné pletivo a má stěžejní roli ve vývoji embrya. Ve většině druhů je nutné, aby poměr ploidií maternální ku paternální v endospermu byl 2:1. Například u diploidních rostlin dochází při dvojitém oplození ke splynutí haploidního vajíčka s jednou haploidní spermatickou buňkou za vzniku diploidního embrya a druhá spermatická buňka splyne se dvěma haploidními polárními jádry za vzniku triploidního endospermu (Ramsey & Schemske, 1998). Tím v endospermu vzniká poměr maternálního a

paternálního genomu 2:1. Odchýlení od tohoto poměru způsobí poškození vývoje embrya nebo působí letálně, zřejmě v důsledku nevybalancované epigenetické regulace (Köhler et al., 2010). Právě k takovým odchylkám dochází u meziploidních křížení. V případě křížení  $2x \times 4x$  (v celé práci platí, že matečná rostlina je v tomto typu zápisu uvedena na prvním místě) je poměr maternálního a paternálního genomu v endospermu 2:2 zatímco v opačném směru křížení  $4x \times 2x$  je poměr 4:1, v obou případech je tedy výrazná odchylka od původního, vývojově stabilního poměru 2:1. Právě odlišnost v úspěšnosti jednoho směru křížení oproti druhému mezi diploidy a tetraploidy je hlavní manifestací triploidního bloku. Většinou mívá převahu v úspěšnosti křížení maternal excess, ve kterém matečná rostlina má vyšší ploidií než otcovská. To je důkazem, že závisí na směru odchylky od poměru 2:1 (maternální ku paternální).

Nový vhled do problematiky triploidního bloku přinesla nová studie od Morgan et al. (2021), kde byla mimo jiné potvrzena důležitost směru křížení mezi diploidy a tetraploidy. Tento pokus byl proveden na diploidních a tetraploidních rostlinách *Arabidopsis arenosa* (Brassicaceae), které pocházejí ze tří kontaktních zón v Evropě, a to z Dinárské oblasti (Slovinsko), ze Slovenska a z Rumunska. Vzájemným křížením diploidů a tetraploidů vznikly triploidní rostliny. Křížení byla provedena ve dvou směrech:  $4x \times 2x$  a  $2x \times 4x$  a výsledky v závislosti na směru křížení byly značně rozdílné. V prvním případě se jedná o křížení, ve kterém je tetraploidní matečná rostlina opylena diploidní otcovskou rostlinou (a ve vzniklém endospermu tedy převažuje mateřský genom k otcovskému v poměru 4:1, tzn. „maternal excess“) a semena z tohoto křížení vznikají velmi úspěšně a vyklíčilo celkem 961 semenáčků, z nichž 94 % byli triploidi. Naopak je tomu u druhého směru křížení, kdy je diploidní matečná rostlina opylena tetraploidní otcovskou rostlinou (poměr v endospermu 2:2, „paternal excess“). V tomto případě vznikl velký kontrast, neboť křížení byla úspěšná jen velmi zřídka. Vyklíčilo pouze 10 % semenáčků (98 rostlin) oproti prvnímu směru křížení a 61 % z nich bylo diploidních, 29 % triploidních a 10 % tetraploidních. Z toho vyplývá, že u druhu *Arabidopsis arenosa* platí, že pokud je rostlina s vyšší ploidií matkou, je křížení úspěšnější. Tato studie odpovídá poznatkům z rešerše literatury od Ramsey & Schemske (1998), ve které 10 z 11 studií potvrdily větší výnos semen ze směru  $4x \times 2x$  (maternal excess), kde hodnota triploidního bloku byla 80 %, než u opačného směru, kde byla hodnota triploidního bloku vyšší, 95 %. Do této studie byly zahrnuty druhy pokrývající osm čeledí krytosemenných: *Brassica oleracea*, *Nasturtium officinale*, *Campanula persicifolia*, *Spinacia oleracea*, *Gossypium arboreum*, *Primula veris*, *Populus tremula*, *Lycopersicon pimpinellifolium* a

*Salpiglossis sinuata*. Převaha maternal excess v úspěšnosti meziploidního křížení však není pravidlem, například u druhů *Mimulus peregrinus* (6x) (Vallejo-Marín et al., 2016), *Leucanthemum pluriflorum* (Greiner & Oberprieler, 2012) a již zmíněné *Chamerion angustifolium* (Sabara et al., 2013) má převahu v úspěšnosti křížení paternal excess.

Doprovodným rysem triploidního bloku je kompetice pylu. Je to prezygotická, ale již postpolinační bariéra, ve které se pylové láčky předhánějí v oplození vajíček. Byla prokázána například v mixoploidních komplexech *Chamerion angustifolium* (Baldwin & Husband, 2011), *Centaurea* (Koutecký et al., 2011) a *Gladiolus communis* (Castro et al., 2020) a je pravděpodobné, že byla objevena také u *Arabidopsis arenosa* ve výše zmíněné studii Morgan et al. (2021). Značný rozdíl vznikl mezi tvorbou triploidních rostlin v kontrolovaném křížení, kde byla každá matečná rostlina opylena pouze jednou otcovskou rostlinou a triploidi vznikali s vysokým úspěchem (94 % triploidů v maternal excess), a tvorbou triploidů v simulovaných přírodních podmínkách, kde byly matečné rostliny ponechány volnému sprášení, a tedy pravděpodobně opyleny pylem od více otců. V tomto případě byli triploidi vzácní, pouze 4,3 % všech potomků bylo triploidních, a to pouze na mateřských tetraploidních rostlinách. Na diploidních rostlinách vznikla pouze diploidní semena. Tento fakt naznačuje pravděpodobnou kompetici pylu po opylení více různými ploidiemi, který je navíc i v přírodních podmínkách doprovázen triploidním blokem (přítomnost triploidů pouze na tetraploidních mateřských rostlinách).

#### 4.2.2 Snížená fertilita triploidů

Třetí sada chromozomů způsobuje pro triploidy problém při meiotickém dělení, protože lichý počet chromozomů lze těžko pravidelně rozdělit do dvou dceřiných buněk. Důsledkem této komplikace může být snížená životaschopnost samčích i samičích gamet, či jejich úplná sterilita (Ramsey & Schemske, 1998). Různý obsah genomu v gametách má za následek široký rozsah ploidií potomků triploidů. Tento problém je podrobněji vysvětlen v kapitole 4.

Například ve studii Morgan et al. (2021) byla fertilita pylových zrn triploidů druhu *Arabidopsis arenosa* vysoká, dosahovala průměrně 82 % fertility kontrolních diploidů, a byla o 39 % vyšší, než zjištěná průměrná hodnota fertility pylu od Ramsey & Schemske (1998). Ve studii od Burton & Husband (2000) zjistili, že obecná životaschopnost triploidů byla shodná s diploidy i tetraploidy, ale jejich produkce pylu a jeho životaschopnost byla výrazně snížená. Hodnoty relativní fitness pro 2x, 3x a 4x jsou 1, 0,09 a 0,61. To poukazuje na to, že izolace mezi ploidiemi zapříčiněná sníženou tvorbou a životaschopností triploidů je velká, ale není kompletní. Narozdíl od této studie byla životaschopnost pylových zrn triploidních hybridů

*Ficaria verna* subsp. *verna* × *calthifolia* natolik nízká, že spolu s dalšími faktory autoři Popelka et al. (2019) nepředpokládají, že skrze tyto hybridy proudí genový tok.

### 2.3 Polyploidizace jako postpolinační reprodukční izolace

Pro reprodukční izolaci u rostlin navrhli vědci Baack et al. (2015) označení pre- a postpolinační bariéry, která jsou z botanického hlediska přesnější a experimentálně snadněji uchopitelné. Nízký počet semen u hybridních rostlin totiž nelze určit jako pre- či postzygotickou bariéru a může být dokonce důsledkem obou. Rozdíl je tedy v tom, zda vůbec nedojde k opylení (prepolinační bariéry) nebo k němu dojde, avšak s negativními důsledky pro fitness hybridu (postpolinační bariéry). Jediná polyploidizační událost může způsobit okamžitou reprodukční izolaci (Otto & Whitton, 2000). Jak bylo diskutováno výše, triploidi vznikající křížením diploida s tetraploidem vznikají v omezené míře nebo mohou být zcela neživotoschopní kvůli špatnému vývoji endospermu. Počet semen pro potomstvo křížení  $4x \times 2x$  (na prvním místě je psána mateřská rostlina a na druhém otcovská) je velmi redukován (o 80 %) (Ramsey & Schemske, 1998). Životoschopní triploidi potom budou velmi pravděpodobně čelit potížím s výše zmíněným meiotickým dělením. Všechny tyto bariéry se pak sčítají a vedou k výrazně snížené fitness triploidních hybridů. Například triploidní rostliny rodu *Chamerion angustifolium* mají jen 11% fitness oproti diploidům (Husband & Sabara, 2004).



### 3 Role triploidů v genovém toku mezi ploidiemi

Role triploidních rostlin v polyploidních populacích je stále diskutována. Ačkoliv triploidní jedinci těžko vznikají, jejich role v populaci může být stěžejní pro evoluci polyploidů.

Triploidní rostliny hrají v populacích dvojí roli (Kolář et al., 2017). Zprvé působí jako bariéra genového toku kvůli své nízké životaschopnosti a plodnosti (triploidní blok a další bariéry, E. Baack et al., 2015; Köhler et al., 2010; Ramsey & Schemske, 1998), ale zadruhé mohou působit jako jeho prostředník a přispívají vzniku tetraploidů (triploidní most, (Husband, 2004)). Intenzita role bariéry versus prostředníka genového toku je předurčena konkrétní mírou životaschopnosti a plodnosti triploidů jako F1 hybridů. To naznačuje reprodukční izolaci mezi diploidy a polyploidy, zejména triploidní blok, který byl popsán výše (Bretagnolle & Thompson, 1995; Köhler et al., 2010). Z výzkumů prováděných na *Chamerion angustifolium* je ale patrné, že tato bariéra není kompletní (Burton & Husband, 2000, 2001; Husband, 2004).

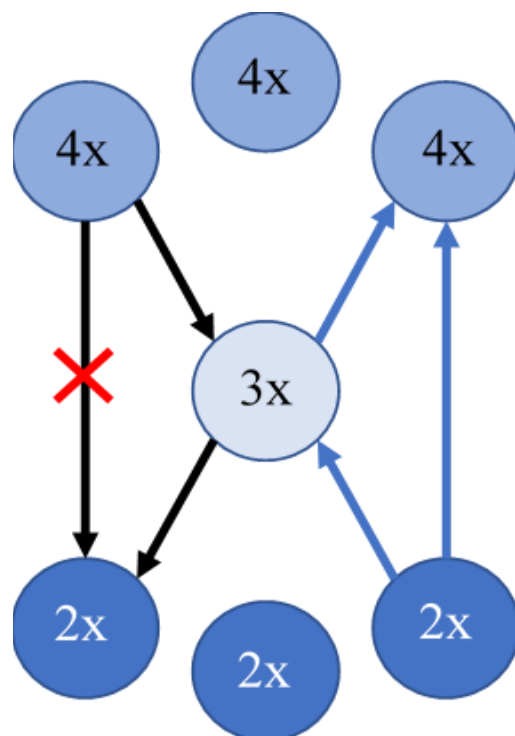
Triploidní rostliny však hrají v polyploidizaci podstatnější roli, než by se mohlo na první pohled zdát. Přestože čelí triploidnímu bloku a nízké fertilitě, pokud jsou alespoň omezeně plodní, dochází jejich prostřednictvím ke vzniku tetraploidních rostlin. Tento proces se nazývá triploidní most (Bretagnolle & Thompson, 1995; Ramsey & Schemske, 1998; Husband, 2004). Jeho principem je tvorba triploida, který dá v následné generaci vznik neotetraploidu. V případě, že dojde ke vzniku triploida splynutím redukované a neredukované gamety ( $n + 2n = 3x$ ), může se tento triploid dále křížit se svým rodičem diploidem za vzniku tetraploida ( $3x \times 2x = 4x$ ; gamety  $3x + x$ ). Tento způsob je pravděpodobně častější než splynutí dvou neredukovaných gamet dvou diploidních jedinců ( $2n + 2n$ ), protože jejich výskyt je příliš vzácný. Je to však možný klíčový mechanismus, jakým se může neotetraploid uchytit v původně čistě diploidní populaci (bližší popsání v následující kapitole). Ačkoliv tvorba neredukovaných ( $3x$ ) gamet triploida není pravidlem (nanejvýš  $2x$  gamety se vyskytovaly např. u triploidů *A. thaliana* (Henry et al., 2009)), vyskytuje často se například u druhu *Pilosella echioides* (Chrtek et al., 2017).

Pro vysvětlení role triploidů v ploidně smíšené populaci je důležité popsat jejich meiotický problém. Při běžné meióze v diploidní rostlině dochází ke vzniku gamet, ve kterých je uložena polovina rodičovské DNA. Dochází k tomu přiblížením dvojic homologních chromozomů a následným crossing-overem. Pravidelné párování je možné jen v případě, že se v jádře vyskytují dva homologní chromozomy od každého páru a vytvoří bivalent. U autotetraploidních rostlin jsou přítomny vždy čtyři homologní chromozomy, což způsobuje,

že se místo dvou chromozomů propojí tři nebo dokonce čtyři, jelikož párování začíná na více místech současně, pokud nedojde například k adaptivnímu snížení počtu crossing-overů na chromozom (Yant et al., 2013). Tato vícečetná propojení se nazývají multivalenty, jejichž propojením vznikají chyby při rozcházení chromozomů. V jádrech tak zůstávají nespárované chromozomy zvané univalenty. Dceřiné buňky vzniklé prvním meiotickým dělením obsahují univalenty v nevyvážených počtech, což přispívá k chromozomální nerovnováze a neplodnosti hybridů. Allopolyploidní jedinci mají výhodu v tom, že vznikají splynutím dvou nesterilných chromozomových sad, a tedy nemůžou tvořit multivalenty, protože každý chromozom má pouze jeden protějšek (Briggs & Walters, 2001).

Právě tvorba univalentů a multivalentů se vyskytuje i u triploidů, kde narozdíl od tetraploidů není možné nijak zajistit pravidelné párování z důvodu lichého počtu homologních chromozomů, a způsobuje tvorbu gamet s různými počty chromozomů. Důkazem toho je potomstvo triploidů, které má velkou ploidní diverzitu (Chrtek et al., 2017; Ramsey & Schemske, 1998). Triploidi mohou tvořit gamety s různým počtem chromozomů, a to haploidní, diploidní, neredukované triploidní či aneuploidní. Nejčastějším typem podle metaanalýzy v Ramsey & Schemske (1998) byly aneuploidní gamety s chromozomovým počtem  $n = 3/2$ , které tvořily více než 30 % všech gamet průměrně ze shrnutých studií. Druhé a třetí nejčastější typy gamet byly  $n = (3/2) - 1$  a  $n = (3/2) + 1$ , dále pak neredukované gamety (5 %). Toto jsou však výsledky studií pylových zrn, ne samičích vajíček, protože experimentů s vajíčky je prozatím příliš málo.

**Obr. 1:** Schéma genového toku mezi populacemi diploidů, triploidů a tetraploidů druhu *Arabidopsis arenosa*. Modré šipky značí směr  $2x \rightarrow 4x$  a černé šipky směr opačný. Modrá přímá šipka vedoucí od diploidní populace k tetraploidní značí vznik tetraploidních hybridů přímo, bez nutnosti triploidního hybridu, skrze splynutí redukované gamety tetraploida a neredukované gamety diploida, a šipky vedoucí přes triploidní populaci značí triploidní most. U opačného směru však dochází pouze k jedné cestě genového toku, a to přes triploidní populaci. Není známý způsob, jakým by mohl být genový tok zajišťován přímo z tetraploidů na diploidy bez křížení s triploidy (Kolář et al., 2017). Zpětný genový tok z  $4x \rightarrow 2x$  je tedy možný pouze za přítomnosti triploidů.



Díky schopnosti triploidů tvořit i euploidní gamety je možné křížením s jinými ploidiemi získat euploidní potomstvo (více v kapitole 5). To je důležité zejména při zpětném křížení ve směru  $4x \rightarrow 2x$ , kdy díky přítomnosti triploidů vznikají diploidi, a je to možná cesta genového toku zpět k nižší ploidi. Čistě teoreticky může nastat situace, kdy se například alela A, která vznikla v populaci tetraploidů, přenesla křížením s triploidem na triploidního potomka ( $4x \times 3x = 3x$ ), který se následně zkříží s diploidem za vzniku diploidního potomka ( $3x \times 2x = 2x$ ), který alelu A zdědí po svém triploidním rodiči (Obr. 1).

**Tab. 1:** Přehled studií zabývajících se experimentálním křížením triploidů a jejich diploidních a tetraploidních rodičovských ploidií.

Druh Čeleď	Úspěšnost vzniku triploidů	Úspěšnost křížení triploidů s 2x a 4x	Ploidie potomků ( $2x \times 3x$ ; $3x \times 2x$ )	Ploidie potomků ( $3x \times 4x$ ; $4x \times 3x$ )	Ploidie gamet triploidů	Známý výskyt triploidů přírody	Citace	Poznámky, metoda určení ploidie
<i>Arabidopsis thaliana</i> Brassicaceae	vysoká	střední	2x, 2x + 1, aneuploid	3x, 4x, aneuploid	x, 2x; aneuploidní mezi x - 2x	není	(Henry et al., 2009)	Průtoková cytometrie
<i>Butomus umbellatus</i> Butomaceae	vysoká	s 2x vysoká, s 4x NA	2x, 3x, aneuploid	NA	x, 2x, aneuploidní mezi x - 2x	ano, často	(Krahulcová & Jarolímová, 1993)	Karyologie
<i>Chamerion angustifolium</i> Onagraceae	vysoká	s 2x nízká, s 4x střední	3x (2x, 4x) **	4x a vyšší, (3x) **	x, 2x, 3x	ano, vzácně	(Burton & Husband, 2001; Husband, 2004)	uvedené ploidie jsou sloučené pro oba směry křížení, průtoková cytometrie
<i>Dactylis glomerata</i> Poaceae	nízká	NA	Otevřený polinační pokus, 4x, 5x, aneuploid		♀: 3x; ♂: NA	ano, velmi vzácně	(Zohary & Nur, 1959)	Díky 3x vajíčkům vznik 4x a 5x, karyologie
<i>Pilosella (Hieracium) echioides</i> Asteraceae	vysoká	vysoká	2x, 3x, 4x, 5x aneuploid	3x, 4x, 5x, 6x, 7x, aneuploid	x, 2x, 3x, aneuploidní mezi x - 3x	ano, často (až 70%*)	(Herben et al., 2016; Peckert & Chrtek, 2006)	vajíčka 3x, pyl x; FCSS
<i>Taraxacum</i> sekce <i>Ruderalia</i> Asteraceae	vysoká (apomixie) ***	nízká	2x, 3x, 4x (pro směr $2x \times 3x$ )	NA	NA	ano, často	(Van Dijk et al., 1999)	apomixie; téměř 90 % potomků 2x díky samoopylení, UV průtoková cytometrie

\* Pouze v populaci u Havraníků, Znojmo (Chrtek et al., 2017)

\*\* Především vznikaly tyto ploidie. Ploidie v závorkách jsou zastoupené méně.

FCSS = metoda Flow Cytometric Seed Screen

V tabulce (Tab. 1) je základní přehled studií, které se zabývaly zpětným křížením triploidů, tedy křížením triploidů s rodičovskými ploidiemi (s diploidy a tetraploidy). Všechny tyto druhy jsou alespoň částečně životaschopné a schopné křížení, mají fertillní gamety a plodí životaschopná semena, z nichž vznikají mimo aneuploidy i různé euploidy (vlastnictví různého počtu celých sad chromozomů). Druhem s nejvyšší úspěšností pravděpodobně ve všech kategoriích je *Pilosella (Hieracium) echioides*, mezi potomky tohoto zpětného křížení patří všechny ploidy od 2x do 7x. U rodu *Taraxacum* sekce *Ruderalia* dochází k častému apomiktickému rozmnožování, díky kterému jsou triploidy hojně zastoupeny v přírodě, ale jejich pohlavní rozmnožování je výrazně slabší. V tomto pokusu od (Van Dijk et al., 1999) byli diploidy opylováni pylem z triploidů a 90 % potomků tohoto křížení bylo diploidních, ale toto vysoké množství bylo zapříčiněno překonáním bariéry proti samoopylení – tyto diploidní potomci tedy vznikli samoopylením. Nízká úspěšnost křížení u tohoto druhu se tedy týká skutečných hybridních křížení, která byla velmi vzácná (potvrzení, že se jedná o skutečné hybridy, bylo výsledkem ověření molekulárními technikami).

U druhu *Dactylis glomerata* se jedná o otevřený polinační pokus a nejsou tedy k dispozici informace o ploidi druhého rodiče (pravděpodobně se jedná buď o diploida nebo tetraploida). Díky zastoupení tetraploidních a pentaploidních potomků předpokládají autoři Zohary & Nur (1959), že tento druh tvoří neredukované samičí gamety (triploidní vajíčka). Tato práce z roku 1959 je vhodná pro novodobé prozkoumání s využitím moderních technik a další výzkum polyploidních komplexů tohoto druhu *Dactylis glomerata*. Druhy *Butomus umbellatus* a *Arabidopsis thaliana* pravděpodobně vůbec netvoří triploidní gamety, pouze haploidní, diploidní a aneuploidní (Henry et al., 2009; Krahulcová & Jarolímová, 1993).

Prostřednictvím křížení diploidů a tetraploidů s triploidy tedy vznikají i euploidní potomci. Tento fakt je podstatný, protože je mechanickým důkazem možnosti genového toku mezi diploidními a tetraploidními populacemi skrze triploidy (schematicky znázorněno na Obr. 1). Směrem k vyšším ploidiím dochází ke vzniku tetraploidů v křížení  $3x \times 4x$  (recipročně), ale dokonce i v křížení  $2x \times 3x$  (též recipročně). Ve druhém případě dochází pravděpodobně k produkci neredukovaných gamet triploidů (3x) a jedná se o druhy *Pilosella (Hieracium) echioides* a *Dactylis glomerata*. Ačkoliv je u většiny druhů role triploidů vnímána spíše jako bariéra, minimálně u druhů v tabulce Tab. 1 je genový tok skrze triploidy potvrzen a jejich role je tedy spíše prostředník genového toku. Absence podobných případů u dalších druhů může být zapříčiněna jak nízkou tvorbou a fertilitou triploidů tak i náročností takového výzkumu vyžadujícího komplikované hybridizační experimenty.

### 3.1 Uchycení nových tetraploidů

Triploidní rostliny jsou důležité i z hlediska uchycení až případné fixace nově vzniklých tetraploidů v populaci, kde je dominantní diploidní cytotyp. Tato cesta je možná díky opakovanému křížení diploidů s triploidy ( $x + 3x$  gamety) anebo dvou triploidů společně ( $2x + 2x$  nebo  $x + 3x$  gamety), čímž vznikají noví tetraploidi (neotetraploidi). Jestliže dojde ke vzniku neotetraploida, je vystaven nevýhodě minoritního cytotypu, která spočívá ve znevýhodnění málo zastoupeného cytotypu v plodnosti, která je závislá na frekvenci jedinců stejné ploidie (Castro et al., 2020; Chrtek et al., 2017). To znamená, že jelikož je vzácný, je přednostně opylován pylem z diploidů, kteří se kolem něj většinou vyskytují. Vzniká tak především triploidní potomstvo, ne tetraploidní. Zpětným křížením neotetraploidů s triploidy však opět mohou vznikat tetraploidní potomci (splynutím  $2x + 2x$  gamet), což podporuje udržení tetraploidů v populaci.

Husband (2004) ve své studii kombinující teoretické modely a data z předchozích experimentů na druhu *Chamerion angustifolium* zkoumal roli triploidů ve fixaci tetraploidů pomocí počítačových simulací. Ty potvrdily, že i triploidi s nízkou fitness, kteří jsou plodní, mohou významně ovlivnit udržení tetraploidů v koexistenci s diploidy. V simulaci, kde triploidi byli letální, nebyli tetraploidi schopni přetrvat ani se rozšířit v diploidní populaci. Když se fitness triploidů zvýšila nad 40 % relativní hodnoty diploidů, byla překonána hranice a tetraploidi byli schopni fixace. Tato teoretická možnost může být potvrzena i mým pokusem navazujícím na empirickou studii na druhu *Arabidopsis arenosa* Morgan et al. (2021), která potvrdila výskyt tetraploidních potomků v křížení triploidů s tetraploidy (popsáno v následující kapitole). Tyto příklady ilustrují význam studia hybridních triploidů, kteří mohou představovat zároveň bariéru i prostředek genového toku mezi ploidiemi a mechanismus bránící i podporující uchycení nových polyploidů – vše v závislosti na četnosti jejich vzniku, životaschopnosti a plodnosti triploidních i tetraploidních cytotypů.

## 5 Praktický projekt

Závěrečná kapitola této práce je věnována praktickému projektu, který jsem dělala v průběhu bakalářského studia. Hlavním předmětem mého projektu bylo zpětné křížení triploidních rostlin rodu *Arabidopsis arenosa* (Obr. 2, 3), které jsou navzdory triploidnímu bloku životaschopné a tvoří životaschopná pylová zrna. *Arabidopsis arenosa* tvoří v přírodě diploidně-tetraploidní kontaktní zóny, ve kterých jsou tyto dva cytotypy v blízkém kontaktu a velmi vzácně zde dochází i ke vzniku triploidů (Kolář et al., 2016; Emma J. Morgan et al., 2020) a genetická data ukazují na přítomnost meziploidního genového toku (Monnahan et al., 2018). Při experimentálním křížení dochází k velmi snadné produkci triploidního potomstva, jehož plodnost a schopnost křížení však zůstala nejasná (Morgan et al., 2021). U blíže příbuzného druhu *A. thaliana* (polyploidie jsou známy jen z kultivace) bylo zjištěno, že triploidi tvoří převážně aneuploidní pylová zrna (6 – 9 chromozomů, tedy mezi  $x$  a  $2x$ ) a euploidní redukovaná pylová zrna ( $x$  a  $2x$ ). Ačkoliv aneuploidní zrna byla fertilmí, byla zaznamenána mírná selekce pro euploidní pyl (Henry et al., 2009). Otázkou však zůstává, zda podobný mechanismus ovlivňuje i přirozeně polyploidní komplex *A. arenosa*.

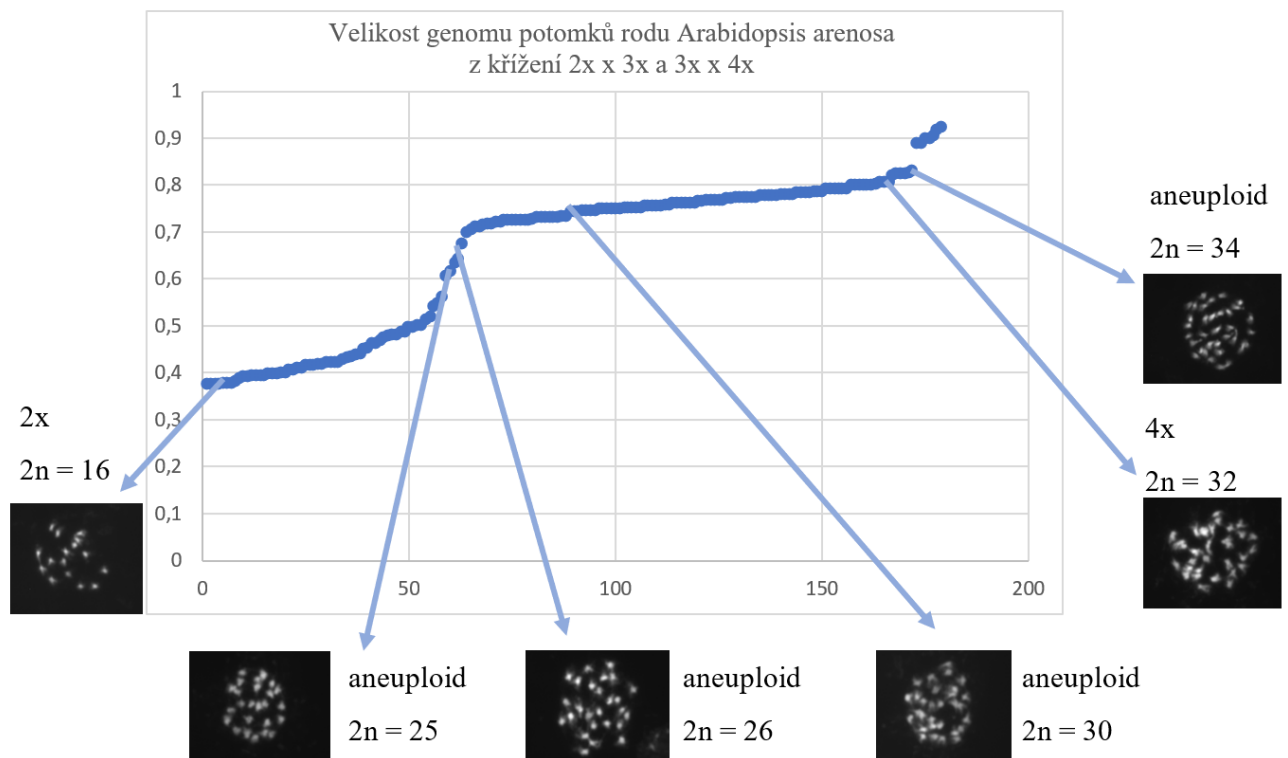


**Obr. 2, 3:** *Arabidopsis arenosa* v experimentálním skleníku Přírodovědecké fakulty UK

Hlavní otázky tohoto projektu se týkaly úspěšnosti zpětného křížení mezi triploidními hybridy a jejich di- a tetraploidními rodiči, zda dojde ke vzniku semen, frekvenci a roli (ne)redukovaných samčích i samičích gamet tvořených triploidy ve zpětné hybridizaci, a tedy i potenciálu pro meziploidní tok genů. Byly provedeny čtyři typy meziploidního křížení ( $2x \times 3x$ ,  $3x \times 2x$ ,  $3x \times 4x$ ,  $4x \times 3x$ , první v pořadí je vždy mateřská ploidy). Ploidie potomstva byla změřena průtokovou cytometrií (Obr. 4) a vybraní jedinci byli přesazeni a vernalizováni pro tvorbu pupat, která byla použita pro karyologickou část projektu (viz. fotografie chromozomů v Obr. 4). Z křížení vznikly kromě široké škály aneuploidů (dominantní většina vzorků) ploidy  $2x$ ,  $3x$ ,  $4x$ , a dokonce jeden hexaploid ( $6x$ , pravděpodobně vznikl díky

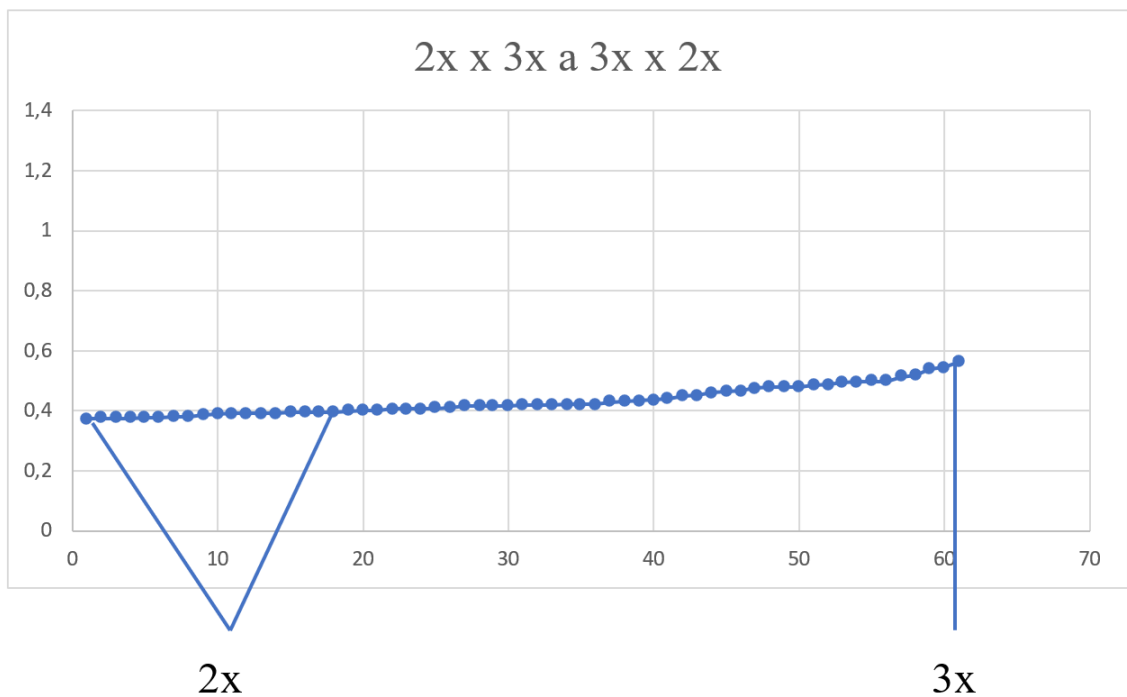


neredukované gametě tetraploida) (Obr. 5 a 6), což dokazuje, že zpětné křížení triploidů je možné a vznikají tím životaschopní potomci aneuploidní i euploidní.

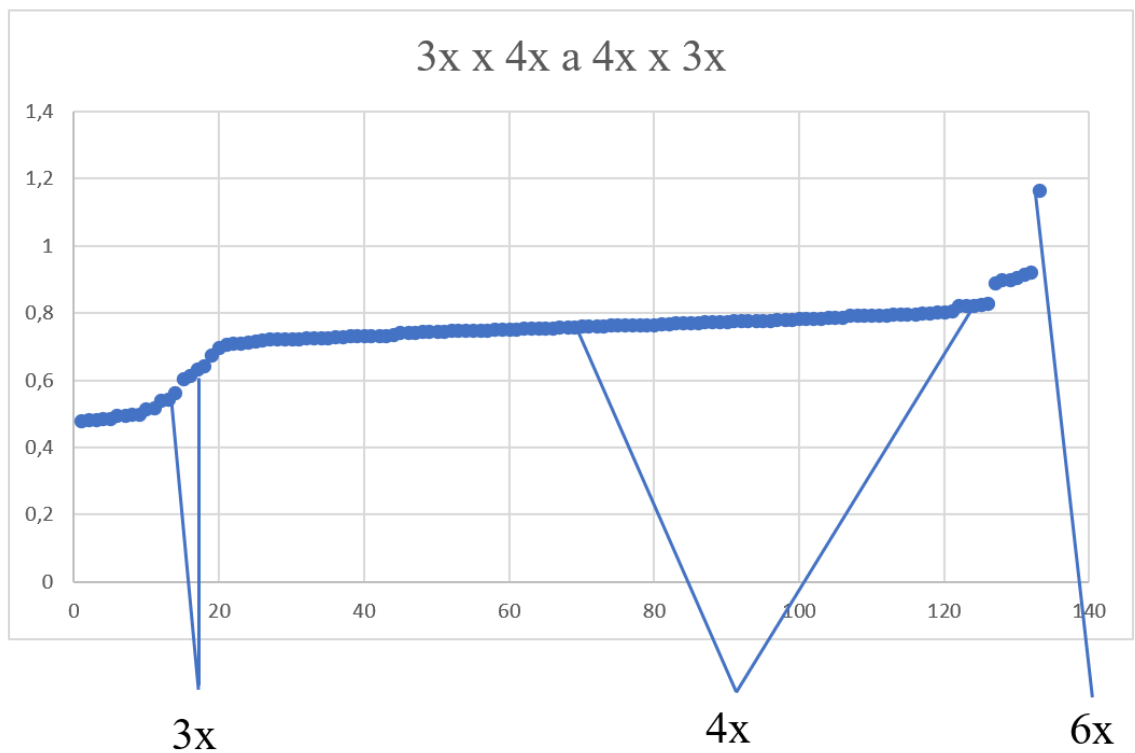


**Obr. 4:** Velikost genomu veškerého potomstva *Arabidopsis arenosa* z křížení 2x × 3x a 3x × 4x (recipročně) s fotografiemi a počtem chromozomů pořázenými při karyologické části projektu.

Absence tetraploidů v křížení 2x × 3x, a pentaploidů v 3x × 4x však ukazuje, že triploidní jedinci pravděpodobně nejsou schopni tvořit plně neredukované (3x) gamety, v souladu se zjištěním studie na druhu *A. thaliana* (Henry et al., 2009). Triploidní jedinci tak mohou sloužit jako prostředník oboustranného genového toku mezi diploidy a tetraploidy (v reálných podmínkách však zřejmě jen velmi omezeně z důvodu jejich vzácného výskytu v přírodních populacích (Morgan et al., 2021), na druhou stranu jejich role v triploidním mostu a tím i v uchycení nově vzniklých tetraploidů je nanejvýš velmi omezená (zpětným křížením s diploidy nevzniká tetraploidní potomstvo). Pro konečné ověření role triploidů v genovém toku u *A. arenosa* by bylo vhodné doplnit tento experiment křížením dvou triploidních rostlin, při němž je, s ohledem na výsledky mého pokusu, vznik tetraploidních potomků možný (splynutím 2x a 2x gamet). Po dokončení a analýze výsledků můj projekt umožní zahrnout druh *A. arenosa* k hrstce dosud takto zkoumaných druhů shrnutých v tabulce Tab. 1, které vypovídají o možné roli triploidů jako prostředníků meziploidního genového toku.



**Obr. 5:** Velikost genomu potomků z křížení  $2x \times 3x$  a  $3x \times 2x$ . Z těchto křížení vznikly diploidní a triploidní rostliny a pravděpodobně aneuploidní rostliny jako přechod mezi těmito dvěma ploidiemi.



**Obr. 6:** Velikost genomu potomků z křížení  $3x \times 4x$  a  $4x \times 3x$ . Z těchto křížení vznikly euploidie  $3x$ ,  $4x$  a  $6x$ , jejichž rozsah je naznačen rozpětím čar. Zbytek rostlin je pravděpodobně aneuploidní.



## 6 Závěr

Ačkoliv triploidní rostliny čelí při svém vzniku mnoha reprodukčním bariérám, tyto bariéry většinou nejsou kompletní a tím pádem tvorba triploidů alespoň v malém měřítku probíhá v řadě rostlinných druhů. Jejich rozšíření v populaci může být usnadněno klonálním či apomiktickým nepohlavním rozmnožováním, a proto vyšší frekvence triploidů bývá pozorována zejména u druhů s tímto způsobem rozmnožování. Avšak pokud se zaměříme pouze na pohlavní rozmnožování, je velmi nepravděpodobné, že by triploidi mohli zformovat samostatnou populaci, protože v jejich potomstvu je jen nízké procento triploidů. Předpokládá se, že spíše vznikají v populacích opakovaně *de novo*. Tito neotriploidi jsou výsledkem buď splynutí neredukované a redukované gamety diploida nebo hybridizace diploida a tetraploida. V hybridizačním křížení diploidního a tetraploidního jedince závisí jeho úspěšnost na směru křížení, což je manifestace nejsilnější bariéry vzniku triploidů – triploidního bloku. Křížení, ve kterém je oplodněna tetraploidní matečná rostlina pylem z diploidní otcovské rostliny (v endospermu převládá mateřský genom) je ve většině případů výrazně úspěšnější než opačný směr, což dokazuje, jak důležitý je poměr maternálního ku paternálnímu genomu v endospermu vyživujícího triploidní embryo.

Role triploidů v genovém toku mezi diploidní a tetraploidní populací je skutečně dvojitá. Její význam se však mění podle různých druhů rostlin a závisí na životaschopnosti a fertilitě triploidů jako F1 hybridů. U druhů, ve kterých triploidi nevznikají vůbec, jsou sterilní, málo životaschopní apod., určuje frekvence a (ne)životaschopnost triploidů sílu bariéry genového toku mezi jedinci, kteří se liší stupněm ploidie. Na druhou stranu triploidi mohou fungovat i jako prostředek genového toku v případě, že jsou životaschopní a tvoří fertilitní gamety. Takto zdokumentovaných příkladů je však stále velmi málo, zřejmě v důsledku obtížné zachytitelnosti vzácných triploidů v přírodních populacích i náročného studia jejich reálné fertility pomocí hybridizačních pokusů. Příklady těchto rostlin jsou uvedeny v tabulce (Tab. 1). Ačkoliv studie zpětného křížení triploidů nejsou časté, lze odhadnout, že první zmiňovaná role (role bariéry) je mezi triploidy častější než role prostředníka genového toku. Díky této bariéře dochází k postupnému oddělení diploidních a tetraploidních populací, a tím i k polyploidní speciaci.

Pro určení druhů, ve kterých hrají triploidi roli prostředníka je prozatím dostupných příliš málo studií. I z hrstky dostatečně prozkoumaných případů však vyplývá, že přítomnost i pouze malého množství fertilitních triploidů v ploidně smíšené populaci má velký vliv na vývoj této populace. Ve směru genového toku od diploidům k tetraploidům lze triploidy obejít skrze

tvorbu neredukovaných gamet u diploida a jejich splynutím s redukovanými gametami tetraploida, čímž vznikne nový tetraploidní hybrid. Pro opačný směr od tetraploidům k diploidům však žádná taková cesta není. Tento směr od vyšší do nižší ploidie je tedy závislý na přítomnosti triploidních rostlin, a to je podstatný bod jejich role prostředníka genového toku.

Poznání frekvence výskytu triploidů i možnosti jejich křížení v přirozených populacích otevírá široké možnosti pro následující výzkum polyploidních komplexů, protože se jedná o klíčovou, avšak dosud málo probádanou oblast polyploidní speciace – pravděpodobně nejčastějšího způsobu sympatrické speciace v přírodě. S moderními technickými metodami se otevírají nové možnosti pro studium dynamiky těchto komplexů a role triploidů v nich. Pochopení této problematiky je zásadní pro porozumění evoluce diploidně-polyploidních komplexů.

## Literatura

- Baack, E. J. (2004). Cytotype segregation on regional and microgeographic scales in snow buttercups (*Ranunculus adoneus*: Ranunculaceae). *American Journal of Botany*, *91*(11), 1783–1788. <https://doi.org/10.3732/ajb.91.11.1783>
- Baack, E., Melo, M. C., Rieseberg, L. H., & Ortiz-Barrientos, D. (2015). The origins of reproductive isolation in plants. *New Phytologist*, *207*(4), 968–984. <https://doi.org/10.1111/nph.13424>
- Baldwin, S. J., & Husband, B. C. (2011). Genome duplication and the evolution of conspecific pollen precedence. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *278*(1714), 2011–2017. <https://doi.org/10.1098/rspb.2010.2208>
- Bicknell, R. A., & Koltunow, A. M. (2004). Understanding apomixis: Recent advances and remaining conundrums. *Plant Cell*, *16*(SUPPL.), 228–246. <https://doi.org/10.1105/tpc.017921>
- BRETAGNOLLE, F., & THOMPSON, J. D. (1995). Gametes with the somatic chromosome number: mechanisms of their formation and role in the evolution of autopolyploid plants. *New Phytologist*, *129*(1), 1–22. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1995.tb03005.x>
- Briggs D., & Walters S. M. (2001). Proměnlivost a evoluce rostlin. Univerzita Palackého.
- Burton, T. L., & Husband, B. (2000). Fitness differences among diploids, tetraploids, and their triploid progeny in *Chamerion angustifolium*: Mechanisms of inviability and implications for polyploid evolution. *Evolution*, *54*(4), 1182–1191. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2000.tb00553.x>
- Burton, T. L., & Husband, B. C. (2001). Fecundity and offspring ploidy in matings among diploid, triploid and tetraploid *Chamerion angustifolium* (Onagraceae): Consequences for tetraploid establishment. *Heredity*, *87*(5), 573–582. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2540.2001.00955.x>
- Castro, M., Loureiro, J., Husband, B. C., & Castro, S. (2020). The role of multiple reproductive barriers: Strong post-pollination interactions govern cytotypic isolation in a tetraploid-octoploid contact zone. *Annals of Botany*, *126*(6), 991–1003. <https://doi.org/10.1093/aob/mcaa084>
- Chrtěk, J., Herben, T., Rosenbaumová, R., Münzbergová, Z., Dočkalová, Z., Zahradníček, J., Krejčíková, J., & Trávníček, P. (2017). Cytotype coexistence in the field cannot be explained by inter-cytotype hybridization alone: linking experiments and computer simulations in the sexual species *Pilosella echioides* (Asteraceae). *BMC Evolutionary Biology*, *17*(1), 87. <https://doi.org/10.1186/s12862-017-0934-y>
- Comai, L. (2005). The advantages and disadvantages of being polyploid. *Nature Reviews Genetics*, *6*(11), 836–846. <https://doi.org/10.1038/nrg1711>
- Cui, L., Wall, P. K., Leebens-Mack, J. H., Lindsay, B. G., Soltis, D. E., Doyle, J. J., Soltis, P. S., Carlson, J. E., Arumuganathan, K., Barakat, A., Albert, V. A., Ma, H., & DePamphilis, C. W. (2006). Widespread genome duplications throughout the history of flowering plants. *Genome Research*, *16*(6), 738–749. <https://doi.org/10.1101/gr.4825606>
- Greiner, R., & Oberprieler, C. (2012). The role of inter-ploidy block for reproductive isolation of the diploid *Leucanthemum pluriflorum* Pau (Compositae, Anthemideae) and its tetra- and hexaploid relatives. *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*,

207(9), 629–635. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2012.07.001>

- Hegarty, M. J., Jones, J. M., Wilson, I. D., Barker, G. L., Coghill, J. A., Sanchez-Baracaldo, P., Liu, G., Buggs, R. J. A., Abbott, R. J., Edwards, K. J., & Hiscock, S. J. (2005). Development of anonymous cDNA microarrays to study changes to the *Senecio* floral transcriptome during hybrid speciation. *Molecular Ecology*, *14*(8), 2493–2510. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294x.2005.02608.x>
- Henry, I. M., Dilkes, B. P., Tyagi, A. P., Lin, H. Y., & Comai, L. (2009). Dosage and parent-of-origin effects shaping aneuploid swarms in *A. thaliana*. *Heredity*, *103*(6), 458–468. <https://doi.org/10.1038/hdy.2009.81>
- Herben, T., Trávníček, P., & Chrtek, J. (2016). Reduced and unreduced gametes combine almost freely in a multiploidy system. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, *18*, 15–22. <https://doi.org/10.1016/j.ppees.2015.12.001>
- Hopkins, R., & Rausher, M. D. (2012). Pollinator-mediated selection on flower color allele drives reinforcement. *Science*, *335*(6072), 1090–1092. <https://doi.org/10.1126/science.1215198>
- Hülber, K., Sonnleitner, M., Suda, J., Krejčíková, J., Schönswetter, P., Schneeweiss, G. M., & Winkler, M. (2015). Ecological differentiation, lack of hybrids involving diploids, and asymmetric gene flow between polyploids in narrow contact zones of *Senecio carniolicus* (syn. *Jacobaea carniolica*, Asteraceae). *Ecology and Evolution*, *5*(6), 1224–1234. <https://doi.org/10.1002/ece3.1430>
- Husband, B. C. (2004). The role of triploid hybrids in the evolutionary dynamics of mixed-ploidy populations. *Biological Journal of the Linnean Society*, *82*(4), 537–546. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2004.00339.x>
- Husband, B. C., & Sabara, H. A. (2004). Reproductive isolation between autotetraploids and their diploid progenitors in fireweed, *Chamerion angustifolium* (Onagraceae). *New Phytologist*, *161*(3), 703–713. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2004.00998.x>
- Köhler, C., Mittelsten Scheid, O., & Erilova, A. (2010). The impact of the triploid block on the origin and evolution of polyploid plants. *Trends in Genetics*, *26*(3), 142–148. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2009.12.006>
- Kolář, F., Čertner, M., Suda, J., Schönswetter, P., & Husband, B. C. (2017). Mixed-Ploidy Species: Progress and Opportunities in Polyploid Research. *Trends in Plant Science*, *22*(12), 1041–1055. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2017.09.011>
- Kolář, F., Lučanová, M., Závěská, E., Fuxová, G., Mandáková, T., Španiel, S., Senko, D., Svitok, M., Kolník, M., Gudžinskas, Z., & Marhold, K. (2016). Ecological segregation does not drive the intricate parapatric distribution of diploid and tetraploid cytotypes of the *Arabidopsis arenosa* group (Brassicaceae). *Biological Journal of the Linnean Society*, *119*(3), 673–688. <https://doi.org/10.1111/bij.12479>
- Koutecký, P., Baďurová, T., Štech, M., Košnar, J., & Karásek, J. (2011). Hybridization between diploid *Centaurea pseudophrygia* and tetraploid *C. jacea* (Asteraceae): The role of mixed pollination, unreduced gametes, and mentor effects. *Biological Journal of the Linnean Society*, *104*(1), 93–106. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2011.01707.x>
- Krahulcová, A., & Jarolímová, V. (1993). Ecology of Two Cytotypes of *Butomus umbellatus* I. Karyology and Breeding Behaviour. *Folia Geobotanica et Phytotaxonomica*, *13*(5).

- Lepší, M., Koutecký, P., Nosková, J., Lepší, P., Urfus, T., & Rich, T. C. G. (2019). Versatility of reproductive modes and ploidy level interactions in *Sorbus* s.l. (Malinae, Rosaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, *191*(4), 502–522. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boz054>
- Matsushita, S. C., Tyagi, A. P., Thornton, G. M., Pires, J. C., & Madlung, A. (2012). Allopolyploidization lays the foundation for evolution of distinct populations: Evidence from analysis of synthetic arabidopsis allohexaploids. *Genetics*, *191*(2), 535–547. <https://doi.org/10.1534/genetics.112.139295>
- Meirmans, P. G., Calame, F. G., Bretagnolle, F., Felber, F., & Den Nijs, J. C. M. (1999). Anthropogenic disturbance and habitat differentiation between sexual diploid and apomictic triploid *Taraxacum* sect. *Ruderalia*. *Folia Geobotanica*, *34*(4), 451–469. <https://doi.org/10.1007/BF02914922>
- Monnahan, P., Kolář, F., Baduel, P., Sailer, C., Koch, J., Horvath, R., Laenen, B., Schmickl, R., Paajanen, P., Šrámková, G., Bohutínská, M., Arnold, B., Weisman, C. M., Marhold, K., Slotte, T., Bomblies, K., & Yant, L. (2018). Pervasive population genomic consequences of genome duplication in *Arabidopsis arenosa*. *BioRxiv*, August, 1–49. <https://doi.org/10.1101/411041>
- Morgan, E. J., Čertner, M., Lučanová, M., Deniz, U., Kubíková, K., Venon, A., Kovářik, O., C., L. P., & Kolář, F. (2021). Disentangling the components of triploid block and its fitness consequences in natural diploid-tetraploid contact zones of. *New Phytologist*, *4*, 1–39. <https://doi.org/10.1111/nph.17357>
- Morgan, Emma J., Čertner, M., Lučanová, M., Kubíková, K., Marhold, K., & Kolář, F. (2020). Niche similarity in diploid-autotetraploid contact zones of *Arabidopsis arenosa* across spatial scales. *American Journal of Botany*, *107*(10), 1375–1388. <https://doi.org/10.1002/ajb2.1534>
- Otto, S. P., & Whitton, J. (2000). Polyploid incidence and evolution. *Annual Reviews*, *75*(759), 344–346. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.34.1.401>
- Ouyang, Y., & Zhang, Q. (2018). The molecular and evolutionary basis of reproductive isolation in plants. *Journal of Genetics and Genomics*, *45*(11), 613–620. <https://doi.org/10.1016/j.jgg.2018.10.004>
- Peckert, T., & Chrtek, J. (2006). Mating interactions between coexisting diploid, triploid and tetraploid cytotypes of *Hieracium echioides* (Asteraceae). *Folia Geobotanica*, *41*(3), 323–334. <https://doi.org/10.1007/BF02904945>
- Petit, C., Bretagnolle, F., & Felber, F. (1999). Evolutionary consequences of diploid-polyploid hybrid zones in wild species. *Trends in Ecology and Evolution*, *14*(8), 306–311. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(99\)01608-0](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(99)01608-0)
- Popelka, O., Sochor, M., & Duchoslav, M. (2019). Reciprocal hybridization between diploid *Ficaria calthifolia* and tetraploid *Ficaria verna* subsp. *verna*: evidence from experimental crossing, genome size and molecular markers. *Botanical Journal of the Linnean Society*, *189*(3), 293–310. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boy085>
- Ramsey, J., & Schemske, D. W. (1998). Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, *29*(January), 467–501. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.29.1.467>

- Randolph, L. F. (1932). Some effects of high temperature on polyploidy and other variations in maize. 222–229.
- Rieseberg, L. H., & Willis, J. H. (2008). Plant Speciation What Is a Plant Species? *Science*, 317(5840), 910–914. [www.sciencemag.org/cgi/content/full/317/5840/910/DC1](http://www.sciencemag.org/cgi/content/full/317/5840/910/DC1)
- Sabara, H. A., Kron, P., & Husband, B. C. (2013). Cytotype coexistence leads to triploid hybrid production in a diploid-tetraploid contact zone of *Chamerion angustifolium* (Onagraceae). *American Journal of Botany*, 100(5), 962–970. <https://doi.org/10.3732/ajb.1200583>
- Scott, R. J., Spielman, M., Bailey, J., & Dickinson, H. G. (1998). Parent-of-origin effects on seed development in *Arabidopsis thaliana*. *Development*, 127(11), 2493–2502. <https://doi.org/10.1017/S008045680001807X>
- Soltis, D. E., Albert, V. A., Leebens-Mack, J., Bell, C. D., Paterson, A. H., Zheng, C., Sankoff, D., DePamphilis, C. W., Wall, P. K., & Soltis, P. S. (2009). Polyploidy and angiosperm diversification. *American Journal of Botany*, 96(1), 336–348. <https://doi.org/10.3732/ajb.0800079>
- Soltis, D. E., & Soltis, P. S. (1999). Polyploidy: Recurrent formation and genome evolution. *Trends in Ecology and Evolution*, 14(9), 348–352. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(99\)01638-9](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(99)01638-9)
- Sonnleitner, M., Hülber, K., Flatscher, R., García, P. E., Winkler, M., Suda, J., Schönswetter, P., & Schneeweiss, G. M. (2016). Ecological differentiation of diploid and polyploid cytotypes of *Senecio carniolicus sensu lato* (Asteraceae) is stronger in areas of sympatry. *Annals of Botany*, 117(2), 269–276. <https://doi.org/10.1093/aob/mcv176>
- Sutherland, B. L., & Galloway, L. F. (2017). Postzygotic isolation varies by ploidy level within a polyploid complex. *New Phytologist*, 213(1), 404–412. <https://doi.org/10.1111/nph.14116>
- Trávníček, P., Dočkalová, Z., Rosenbaumová, R., Kubátová, B., Szelağ, Z., & Chrtek, J. (2011). Bridging global and microregional scales: Ploidy distribution in *Pilosella echioides* (Asteraceae) in central Europe. *Annals of Botany*, 107(3), 443–454. <https://doi.org/10.1093/aob/mcq260>
- Vallejo-Marín, M., Buggs, R. J. A., Cooley, A. M., & Puzey, J. R. (2015). Speciation by genome duplication: Repeated origins and genomic composition of the recently formed allopolyploid species *Mimulus peregrinus*. *Evolution*, 69(6), 1487–1500. <https://doi.org/10.1111/evo.12678>
- Vallejo-Marín, M., Cooley, A. M., Lee, M. Y., Folmer, M., McKain, M. R., & Puzey, J. R. (2016). Strongly asymmetric hybridization barriers shape the origin of a new polyploid species and its hybrid ancestor. *American Journal of Botany*, 103(7), 1272–1288. <https://doi.org/10.3732/ajb.1500471>
- Van de Peer, Y., Ashman, T. L., Soltis, P. S., & Soltis, D. E. (2021). Polyploidy: an evolutionary and ecological force in stressful times. *The Plant Cell*, 33(1), 11–26. <https://doi.org/10.1093/plcell/koaa015>
- Van De Peer, Y., Mizrachi, E., & Marchal, K. (2017). The evolutionary significance of polyploidy. *Nature Reviews Genetics*, 18(7), 411–424. <https://doi.org/10.1038/nrg.2017.26>

- Van Dijk, P. J., Tas, I. C. Q., Falque, M., & Bakx-Schotman, T. (1999). Crosses between sexual and apomictic dandelions (*Taraxacum*). II. The breakdown of apomixis. *Heredity*, *83*(6), 715–721. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2540.1999.00620.x>
- Wendel, J. F. (2015). The wondrous cycles of polyploidy in plants. *American Journal of Botany*, *102*(11), 1753–1756. <https://doi.org/10.3732/ajb.1500320>
- Yant, L., Hollister, J. D., Wright, K. M., Arnold, B. J., Higgins, J. D., Franklin, F. C. H., & Bomblies, K. (2013). Meiotic Adaptation to Genome Duplication in *Arabidopsis arenosa*. *Current Biology*, *23*(21), 2151–2156. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.08.059>
- Zohary, D., & Nur, U. (1959). Natural Triploids in the Orchard Grass, *Dactylis glomerata* L., Polyploid Complex and Their Significance for Gene Flow From Diploid to Tetraploid Levels. *Evolution*, *13*(3), 311. <https://doi.org/10.2307/2406108>