

## Introduction

The tribe Cichoriae Lam. & DC. (syn. Lactuceae Cass.) represents one of the most studied groups of Asteraceae family especially thanks to several genera such as *Crepis* L., *Hieracium* L., *Pilosella* Hill. or *Taraxacum* Wigg. and economically important genera as *Lactuca*. Cichoriaeae is well morphologically and anatomically defined (occurrence of milky latex and homogamous capitula with 5-dentate, lingulate flowers have been constantly respected characters since the time of its description; Tournefort 1964). Taxonomic situation inside of the tribe is more complicated, i.e. that the majority of above mentioned genera are generally well known because of polyploidy, hybridisation and apomixis frequently resulting in highly intricate taxonomic classifications. The aim of a taxonomic treatment is to mirror real situation in nature usually expressed by numerous "microspecies" representing particular apomictic lineages<sup>1</sup>. Nevertheless, system of these complex taxonomic treatments can hardly be natural as hybridisation (even an ancient one) results in reticulate evolution.

### *Hieracium* s. l.

Formal genus *Hieracium* sensu lato has recently been more frequently treated as two separate genera (*Hieracium* and *Pilosella*; Sell & West 1975, Bräutigam & Greuter 2007), which is why genus ranks *Hieracium* and *Pilosella* are used separately in further text. Genera *Hieracium* and *Pilosella* comprise perennial herbs with 1 to numerous stems (foliated or leafless) terminated by 1 to numerous capitula. Leaves are shaped from entire to deeply dentate or lobed. Involucres are formed by several irregularly imbricate rows of linear to lanceolate bracts. Individual ligules are usually yellow (sometimes with a red stripe on the outer face or rarely orange, reddish, green or white). Achenes are covered in 10 to 13 ribs of narrowly obconical shape (never beaked) carrying 1 or 2-rowed pappus (e.g. Zahn 1921, 1930, Sell & West 1976, Bräutigam & Schuhwerk 2002, Chrtek 2002, 2004).

### *Pilosella*

Genus *Pilosella* differs from *Hieracium* in several important characters. Cypselas length is up to 2.5 mm (genus *Hieracium* 2.5 - 5mm) and they are covered in ca 10 denticular ribs. Pappus hair forms mainly 1 row (in case of *Hieracium* 2 rows). Apart from the mentioned characters genus *Pilosella* may be discriminated by several morphological tendencies such as presence of stolons or red veins on the abaxial ligule surface. Genus *Pilosella* significantly differs also at the level of other biosystematical characters. Homoploid genome size (Cx-value) is approximately twice lower in *Pilosella* than in *Hieracium* (Bräutigam & Bräutigam 1999, Vladimirov & Greilhuber 2003, Chrtek et al. 2009). Also apomixis type is essentially different (*Pilosella* - apospory vs. *Hieracium* - diplospory; Pogan & Wcisło 1989, 1995, Rosenberg 1906, 1907). Molecular markers (nuclear - ITS and chloroplast haplotypes; Fehrer et al. 2007a) brought better understanding of the whole group. Molecular study based on the analyses of the internal transcribed spacer of the nuclear ribosomal DNA (nrDNA ITS) and *trnT-trnL* intergenic spacer and *matK* gene of the chloroplast DNA (Fehrer et al. 2007a) had great impact for the understanding of the whole group. All markers confirmed the monophyly of the clade composed of *Hieracium* s. l. *Andryala* L. and *Hispidella* Lam. However incongruence among the results based on chloroplast and nuclear data was observed in respect of the evolutionary history of *Pilosella*. Whereas the nuclear data (ITS) mainly confirm the hitherto taxonomical concepts with *Pilosella/Hispidella* being a sister group to *Hieracium* s. str./*Chionoracium* and *Andryala* clades, *Pilosella* was split into two major lineages according to the cpDNA. Moreover neither of them was composed of *Pilosella* accessions solely. In the first one *Andryala* clustered together with part of the *Pilosella* species, the other clade comprised *Hispidella* in addition. These data suggest ancient hybridisation events among these genera. However, higher number of representative individuals should be added to potential consequent analyses as recent biosystematical studies at region scale clearly confirm highly different microevolutionary patterns (hybridisation direction, ploidy levels, breeding modes etc.) even from very close mountain ranges (Krahulec et al., unpublished).

---

<sup>1</sup> The highest number of taxa was described in *Hieracium* s. l. compared to any other genus in the European flora (Sell & West 1976).

Generally accepted taxonomic concept of the genus *Pilosella* is structured into group of basic (Hauptarten) and intermediate species (Nebenarten or later called Zwischenarten; Nägeli & Peter 1885). Basic species comprise taxa characterized by unique morphological traits, whereas intermediate ones combine basic species features indicating their hybridogenous nature. The concept is supported by numerous hybridisation experiments of Nägeli and Peter (1885) and its robustness has been corroborated by many studies (i. e. Suda et al. 2007, Fehrer et al. 2007a etc.). The basic vs. intermediate species distinction also corresponds well with the patterns of ploidy level and breeding mode differentiation (basic species being frequently sexual diploids vs. predominantly polyploid apomictic intermediates; Krahulcová et al. 2000). However, problems of particular hybridogenous species age cannot be sufficiently determined either by molecular markers or by paleobotanical research (most of Asteraceae taxa do not differ in pollen morphology, phytolites or any other known paleobotanical marker; e.g. Beug 2004, phytolites - Petr & Urfus unpub.). Nevertheless, the majority of hybridogenous intermediate species do evolve so they are already distinguishable (e. g. by progeny structure) from recent hybrids (e.g. Krahulec et al. 2004, 2008). Number of basic species varies depending on the species rank concept between 20 - 30 (i.e. 20 with numerous taxa treated at subspecific level; Bräutigam & Greuter 2007). On the contrary, number of described intermediate species reaches place value of hundreds to thousands. Detailed taxonomic concept probably reflects the real situation more naturally (especially in case of application of biological species concept; e.g. Juxip 2002, Tyler 2005). On the other hand, morphological delimitation of the microspecies is often doubtful. Vast number of previously described intermediate taxa represents apomictic lineages artificially separated from partly sexually and apomictically breeding populations which hybridise occasionally. Thus a high number of taxa described for example a hundred years ago does not even exist (they vanished via recurrent hybridisation events; e.g. Krahulec et al. 2004, 2008<sup>2</sup>). The situation, obviously irresolvable by traditional taxonomic approaches, has therefore resulted in resignation on detailed taxonomic concept [i.e. Bräutigam and Greuter (2007) mention 122 intermediate species].

Most of the *Pilosella* species distribution areas does not spread far over the European geographic borders (Bräutigam 1992, Fehrer et al. 2007b), but in many cases their eastern distribution borders are simply unknown. Several species distribution areas reach South Siberia (i. e. *Pilosella echioides* (Lum.) F. W. Schultz & Sch. Bip., *P. onegensis* Norrl.; Schischin 2002) or middle Asian mountains (*Pilosella aurantiaca* (L.) F. W. Schultz & Sch. Bip.; Krahulec unpub.). The majority of genus *Pilosella* species are mainly stress tolerant plants. Basic species tend to occur mostly in primary mainly forest-free habitats (rocky outcrops, steppes, sandy habitats, various transition mires margins etc.), whereas intermediate species mainly occur in secondary habitats (e.g. Zahn 1921, 1930, Sell & West 1976, Bräutigam & Schuhwerk 2002, Chrtek 2002, 2004).

The vast number of described taxa, various taxonomic concepts and frequent resignation on detailed plant determination evidently imply question of the variation sources. There are several main sources of enormous variation of the *Pilosella* species: hybridization accompanied by polyploidisation (detected cytotypes: 2x, 3x, 4x, 5x, 6x, 7x, 8x; x= 9), variation in reproductive mode (apomixis combined with sexual reproductive mode often within the same capitulum) as well as vegetative reproduction via stolons (Gadella 1987, 1991, Krahulcová et al. 2000). These sources are accompanied by production of fertile pollen (even in case of apomicts and completely sterile plants such as F1 triploids) and occurrence of haploid parthenogenesis or autogamy via mentor effect (Krahulcová et al. 1999, Krahulcová et al. 2000, Krahulcová & Krahulec 2000). Moreover, all the above mentioned phenomena are usually combined in an intricate way. Apomictic lineages are facultative thus they subsequently hybridise with other cytotypes or taxa resulting in enormous number of different morphological lineages and cytotypes (Krahulcová & Krahulec 2000). In addition, several other important variation sources has not yet been sufficiently studied and, for example, the frequency of unreduced gametes formation has not yet been assessed. Nothing is known about the importance of further genom duplication of polyhaploids frequently resulting in highly distinct lineages (Krahulec et al. 2011).

---

<sup>2</sup> Detailed study of *Pilosella* species in Krkonoše mountains illustrates intricacy of microspecies concept (e. g. number of described taxa is some cases higher than number of clones; Krahulec et al. 2004).

## Polyploidy

Genus *Pilosella* is deeply influenced by polyploidisation. Broad spectrum of ploidy levels was recorded (2x,3x,4x,5x,6x,7x,8x - basic chromosome number  $x=9$  ; Schuhwerk 1996, Schuhwerk & Lippert 1997, 1998, Krahulcová & Krahulec 1999, Krahulcová et al. 2000, Rotreklová et al. 2002, 2005 etc.). During experimental hybridisation even higher ploidy levels were detected (up to 12x; Skalińska 1976). Almost half of *Pilosella* taxa are supposed to consist of more ploidy levels (even within one population; Schuhwerk 1996, Schuhwerk & Lippert 1997, 1998, Krahulcová & Krahulec 1999, Rotreklová et al. 2002, 2005 etc.). Diploid level is characteristic mostly for basic species (even though e.g. basic species *P. aurantiaca* does not have any diploid cytotype, only dihaploid plants were recorded as a result of parthenogenesis during experimental crossing; Skalińska 1971). Polyploidisation in the genus is probably induced via unreduced gametes, which fuse with usual reduced gametes (rarely unreduced gametes) resulting in addition hybrids. According to results of experimental crossing addition hybrids represent the first step for subsequent polyploidisation (Skalińska 1973, 1976, Gadella 1988, Krahulcová & Krahulec 2000, Krahulcová et al. 2004, 2011). The importance of addition hybrids as a source of variation and as a basic step for generation higher polyploids is probably still not valued enough (i. e. *P. rubra* in Krkonoše mountains was proved to be an addition hybrid between *P. aurantiaca* -  $2n$  and *P. officinarum* Vaill. -  $n$ ; Krahulcová et al. 2004, Suda et al. 2007). Moreover, species of genus *Pilosella* differ in absolute DNA content at the monoploid level and intermediate contents of intermediate species are confirming the hybridogenous character (Suda et al. 2007).

Problems of aneuploidy (abnormal number of chromosomes) are obviously connected with polyploidisation (and hybridisation). In case of genus *Pilosella* aneuploidy was recorded several times: *P. aurantiaca* ( $2n=30$ ; Pashuk 1987), 5 individuals of *P. piloselliflora* (Nägeli & Peter) Soják ( $2n=48$ ; Krahulcová & Krahulec 1999, Krahulcová et al. 2000), or in hybridisation swarm between *P. officinarum* and *P. piloselloides* subsp. *bauhini* (Schult.) S. Bräut. & Greuter (Krahulcová et al. 2009) etc. Even in cases of experimental crossings aneuploidy is quite a rare phenomenon known either as a triploid progeny of tetraploid and diploid crossing (*P. officinarum*, *P. aurantiaca*; Gadella 1991, Skalińska 1971) or relatively frequently as a result of pentaploid (pollen donor) and diploid or tetraploid crossing (Krahulcová & Krahulec 2000).

## Reproduction modes

Apomixis in genus *Pilosella* is, as mentioned above, of aposporous type (i.e. type *Antenaria* L.; Rosenberg 1907, Pogan & Wcisło 1995). Essential role of genus *Pilosella* in apomixis research is underlined by the first detection of aposporous type directly in the genus (Pogan & Wcisło 1989). Unreduced embryo sacs are frequently mixed with the standard reduced ones resulting in mixed progeny (facultative apomixis, e.g. Krahulcová et al. 2000, 2004, 2011, Krahulec et al. 2004). Both types of embryo sacs are competing until one of them prevails (but only little is so far known about factors influencing one of the embryo sacs final dominance).

The essential source of genus enormous variation is not apomixis itself, but especially the combination of various reproductive modes (frequently within single capitulum; Krahulcová et al. 2000, 2004). Breeding modes are partly fixed to particular ploidy levels. The higher ploidy level is, the higher is the probability of apomixis (diploids are sexual). Odd ploidy levels are usually characterized by apomictic breeding (or sterile; Gadella 1987, 1991, Krahulec & Krahulcová 1999, Krahulcová et al. 2000, Krahulcová et al. 2001, Rotreklová et al. 2002, 2005). Nevertheless, many exceptions occur (e. g. rare sexual triploids, apomictic tetraploids and sexual pentaploids or large groups of sexual hexaploids; Pogan & Wcisło 1995, Peckert 2005, Peckert & Chrtek 2006, Rotreklová et al. 2002, etc.). But at least the diploid cytotypes were proved to be sexual (*P. lactucella* - Skalińska 1967, Gadella 1984, Krahulcová & Krahulec 1999; *P. peleteriana* (Mérat) F. W. Schultz & Sch. Bip. and *P. hoppeana* (Schult.) F. W. Schultz & Sch. Bip. - Gadella 1984, *P. officinarum* - Gadella 1984; *P. onegensis* - Skalińska 1967, Skalińska & Kubień 1972, Krahulcová & Krahulec 1999; *P. echioides* - Kašin & Černišková 1997, Peckert 2001, Rotreklová et al. 2002). Despite that, the apomixis was confirmed in case of dihaploid individuals (Bicknell 1997, Bicknell et al. 2000, Krahulec et al. 2011).

Sexual forms were proved to be allogamous (Gadella 1988, 1991, Krahulcová & Krahulec 1999). However, self-compatibility is still possible via stimulation of stigma by foreign pollen - mentor effect (Krahulcová et al. 1999, subsequently confirmed in case of *Hieracium* s. str.; Mráz 2003). Such process is probably common in the field, as more than one species usually grow together; thus self-pollination probably occurs quite frequently.

Indispensable source of genus *Pilosella* variation is clonal growth (Krahulcová et al. 2000) via stolons (above or below ground). Due to clonal growth a particular genotype is able to spread at local scale even in case of otherwise sterile plants. Long-time persistence takes the sterile genotype back to microevolutionary process because even sterile plants of genus *Pilosella* species were proved to produce viable pollen. The ability to produce viable pollen (of probably all cytotypes) is in contrast to *Hieracium* s. str. because some of its cytotypes produce aborted pollen grains (Gadella 1987, Krahulcová & Krahulec 2000).

### Hybridization

Hybridisation is very common in genus *Pilosella* and the whole group represents a typical example of hybrid speciation in many respects. Solitary hybrids, or at least signs of introgression occur in majority of populations and even large hybrid swarms are quite frequent, because the most sympatric taxa are able to hybridise (almost no hybridisation barriers are established; Gadella 1987). Introgression is obviously a widespread phenomenon in the genus *Pilosella* species and even triple hybrids production happens (Gadella 1988, 1992). Hybridisation also knocks down barriers between different ploidy levels or breeding modes. Hybridisation between different ploidy level species was reported many times (e. g. Skalińska 1967, Gadella 1987). Even apomictic individuals frequently participate in crossing either as pollen donors (e. g. Skalińska 1976, Gadella 1982, 1987) or surprisingly often as mother plants (naturally apomicts are facultative in case of genus *Pilosella*; e. g. Skalińska, Krahulec et al. 2004, 2008).

Current high rate of genus *Pilosella* hybridisation is substantially increased due to human activities. Artificially preserved forest-free areas (anthropic steppe) markedly contribute to genus *Pilosella* species spreading. Broad-spectrum of variously disturbed secondary habitats frequently combines species whose niches would not otherwise connect, resulting in an antropohybridisation (Wójcicki 1991). Montane meadows are a classic example of long time established anthropic habitat type, which is regularly disturbed by cutting for hay and many less competitive species occur there. Species from alpine forest-free habitats and lower altitudes grow there together, forming hybrid swarms and resulting in many well established hybridogenous taxa (Krahulcová & Krahulec 1999, Krahulec et al. 2004).

### *Pilosella officinarum* and *P. piloselloides* subsp. *bauhini* under investigation

*Pilosella officinarum* is probably the most abundant species of the whole genus *Pilosella*. Together with several mostly diploid species it forms a section *Piloselina*, which is distinctly defined by one headed (single capitulum) stem and dense cover of stellate hairs at abaxial side of leaf (e. g. Zahn 1923, Sell & West 1976). *Pilosella officinarum* is the only abundant polyploid of the section (except for a rare tetraploid *P. saussuroides*); it is an extremely variable species. The complexity of its variation may illustrate 624 subspecies mentioned or directly described by the monograph of genus *Hieracium* s. l. K. H. Zahn (Zahn 1923).

Sources of *P. officinarum* variation are identical to the ones in the whole genus (polyploidy, different reproductive modes, hybridisation and clonal growth; Krahulcová et al. 2000). According to high number of ploidy levels (2x, 4x, 5x, 6x, 7x), various combinations of reproductive modes to different cytotypes and extensive tendency to hybridise (the most frequent participant of all hybridisation events and also most frequent parental species of hybridogenous species; e.g. Zahn 1923) *Pilosella officinarum* represents a model species crucial for understanding the problems of the entire genus *Pilosella* and even for possible reconstructing the ancient history of many other agamic complexes, where apomixis absolutely prevails (such as *Alchemilla*). Different ploidy levels relate to particular reproductive modes. Tetraploids tend to be mostly sexual (only rarely a partly apomictic exceptions were detected too; e.g. Gadella 1984). Pentaploids, on the contrary, tend to be apomictic (e.g. Gadella 1984), but partly sexual individuals have been already proven (Turesson & Turesson 1960, Turesson 1972, Pogan & Wcisło 1995) and even fully sexual ones (Krahulcová

et al. 2000, Rotreklová et al. 2002). Hexaploids form both apomictic and sexual lineages. Sexual plants were documented from mountainous habitats (especially the Alps; Gadella 1984) and recently also from Central European regions from river canyons (Urfus 2006). Rare heptaploid individuals are either apomictic or sterile (Gadella 1984, 1991). *Pilosella officinarum* diploid cytotype (described by Gadella 1984 and Delcourt 1972) requires perhaps further studies as its status seems to be obscure.

*P. piloselloides* subsp. *bauhini* (further in text *P. \*bauhini*) does not belong to such markedly morphologically distinct group compared to *P. officinarum* - section *Prealtina* (e.g. related *P. piloselloides* subsp. *piloselloides* differs only in the absence of stolons; e. g. Gottschlich 1987). As well as *P. officinarum*, *P. \*bauhini* consists of many intraspecific taxa (e. g. Zahn 1923, 1930). *Pilosella \*bauhini* is also not as diversified in ploidy levels (three were detected - 4x, 5x and 6x; Rotreklová 2004). Cytotypes of *P. \*bauhini* are negatively distributed in Central Europe compared to *P. officinarum* (Rotreklová 2004). Tetraploid cytotype breeds mainly sexually, but some apomictic tetraploid populations were also documented (Rotreklová 2004, Krahulcová et al. 2009). Only apomictic pentaploids and hexaploids were detected. *Pilosella \*bauhini* also frequently participates in hybridisation. The species forms huge hybrid swarms especially with *P. officinarum* [resulting in broad spectrum of morphological lineages more or less close to *P. brachiata* (DC.) F. W. Schultz & Sch. Bip. and *P. leptophyton* (Nägeli & Peter) S. Bräut. & Greuter - intermediate species between both parental species; e. g. Krahulcová et al. 2009].

To understand the problematics of genus *Pilosella*, a comparison with a related group characterised by evolution at the diploid level might be helpful. *Picris hieracioides* L. and very close *P. hispidissima* (Bartl.) Koch represent species group of closely related and almost exclusively diploid taxa (Sell 1975, 1976, Bolòs & Vigo 1990, Slovák et al. 2007). According to recent phylogenetic studies (Klilian et al. 2009) *Pilosella* and *Picris* rank among genera forming sister clades (clade 4 and 5). *Picris hieracioides* group may be characterised by high morphological variation despite being strictly diploid and allogamous sexual (Sell 1976). High number of intraspecific taxa confirms the real variation (currently recognised at the base of peduncle length, involucre proportions, colour and hair characteristics - very similar set of characters is also crucial in entire genus *Hieracium* and *Pilosella* determination; Sell 1975, 1976). Different and incompatible taxonomic concepts of *Picris hieracioides* were established (analogous to different taxonomic treatments in genus *Hieracium* and *Pilosella*; Sell 1975, 1976, Bolòs & Vigo 1990, Haeupler & Muer 2007). Generally *Picris hieracioides* (according to study in the Western Carpathians; Slovák & Marhold 2007) occurs either in mountainous primary habitats ("higher altitude type") or in widespread secondary habitats ("lower altitude type").

#### **Aims of the thesis**

- I. The detection of processes within hybrid swarm by morphometric comparison of maternal and filial generation
- II. Ploidy levels distribution pattern on different scales
- III. Morphometric evaluation of cytotypes defined by ploidy level and reproductive mode
- IV. Comparison of different variation patterns in related taxa

#### **Material and methods**

Material used for the first case study was herbarium specimens linked to set of hybridization experiments (Krahulcová et al. 2009). Individuals analysed in the second case study was sampled in the area of Central Europe (3-5 randomly chosen plants per population) and then cultivated in experimental garden. After relevant analyses a herbarium voucher was made out of each individual. Herbarium specimen (out of cytogeographic study) were further used for biometric study. Material of *P. hieracioides* group was sampled analogously to previous studies.

Flow cytometry was applied to assess DNA ploidy level (staining solution - DAPI) and absolute genome size (staining solution - PI). Methodics used to sample preparation was standardized (incl. minor optimizations; e. g. Suda et al. 2007).

Reproductive modes analysis followed standard emasculation tests (Gadella 1987, Krahulcová & Krahulec 1999). Analysis consists of three methodical steps: foreign pollen addition (sterility test), capitulum covered by textile bag (autogamy and apomixis test) and emasculated capitulum covered by textile bag (apomixis test).

Set of quantitative and semiquantitative characters was chosen in order to analyse the material morphometrically. Obtained data were further analysed by multivariate statistics.

## Results and discussion

Hybridization processes occurring within mixed population of *Pilosella piloselloides* subsp. *bauhini* and *P. officinarum* in Prague (Praha - Vysočany) were detected by means of the morphometric analysis. We analysed set of maternal plants occurring in the field and set of their progeny originated in the field. The analysis showed common hybridization of both parents as well as of their hybrids (*P. brachiata* and *P. leptophyton*). All plants with different reproductive modes (sexual, facultative apomictic and variable) participated in these hybridizations.

Four ploidy levels were found in studied area with contrasting pattern of distribution. The most widespread cytotype in Bohemian part of the Czech Republic is tetraploid (4x), while the pentaploids and hexaploids (5x and 6x, respectively) clearly prevail in Slovakia and Moravian part of the Czech Republic. The boundary between common occurrence of tetraploids and higher ploids is very obvious and represents the geomorphologic boundary between the Bohemian Massif and the Western Carpathians with adjacent part of Pannonia. Mixed populations consisting of two different ploidy levels were recorded in nearly 12% of localities. Statistically significant difference in vertical distribution of penta- and hexaploids was observed in the Western Carpathians and adjacent Pannonia. Hexaploid populations tend to occur in lower elevations (usually below 500 m), while the pentaploid level is dominant at higher altitudes. Heptaploid level (7x) was found for the first time in Slovakia in one site. In Europe, tetraploid level has clearly Subatlantic character of distribution. Higher ploids (penta- and hexa-) prevail in northern part of Fennoscandinavia and British Isles and in the Alps and the Western Carpathians with adjacent part of Pannonia.

*Pilosella officinarum* is represented mainly by tetraploid ( $2n = 36$ ), pentaploid ( $2n = 45$ ) and hexaploid ( $2n = 54$ ) cytotype further combined with different breeding modes (4x - sexual, 5x - apomictic and 6x - sexual + apomictic). Its current intraspecific taxonomical treatment based mainly on selected apomictic lineages is confusing and not generally applicable. Morphometrical analyses were performed in order to determine set of characters distinguishing particular lineages characterised by ploidy level and breeding mode. Results confirmed morphological differences among ploidy levels and different breeding lineages of hexaploid cytotype in addition.

Although divergences in nuclear DNA content among different species within a genus are widely acknowledged, intraspecific variation is still a somewhat controversial issue. The aim of this study was to assess genome size variation in the polymorphic species *Picris hieracioides* L. (Asteraceae) and to search for potential interpretations of the size heterogeneity. 2C-values (population means) at the diploid level varied from 2.26 to 3.11 pg, spanning a 1.37-fold range. The variation persisted even after splitting the whole data set into two recently distinguished morphotypes (i.e. the 'Lower altitude' type and the 'Higher altitude' type) that possess significantly different nuclear DNA contents. Cluster analysis revealed the presence of three major groups according to genome size, which exhibited a particular geographical pattern. Generally, the genome size of both morphotypes increased significantly from south-west to north-east. A new cytotype, DNA triploid, was found for the first time. High intraspecific variation in the amount of nuclear DNA in *P. hieracioides* correlates with the extensive morphological variation found within the taxon. Despite the complex pattern that was presented, genome size variants were non-randomly distributed and reflected palaeovegetation history. We suggest that the complex evolutionary history of *P. hieracioides* (e.g. the existence of several cryptic

lineages with different levels of cross-interactions) is the most plausible explanation for the observed heterogeneity in genome size.

The only Balkan endemic of the genus *Picris*, *Picris hispidissima*, was studied in detail using morphological and karyological methods. The species was shown to be morphologically distinct from the closest taxon, *Picris hieracioides*, by the pectinate–ciliate indumentum of involucral bracts, dilatation of the peduncle, length of the outer and inner bracts, and indumentum colour. No morphological variation that would require taxonomic classification was found within this species. Despite the diploid chromosome number ( $2n = 2x = 10$ ) being confirmed for *P. hispidissima*, variation of up to 9.5% in genome size was found. The likely explanation for this variation is hybridization and introgression with closely related *P. hieracioides*. The most convincing evidence for this hypothesis is the detection of plants with two clearly different DNA contents arising from a single capitulum found in the location where *P. hispidissima* and *P. hieracioides* co-occur.

## Conclusions

To assess the importance of particular sources of variation within genus *Pilosella* and to follow microevolutionary trends, several case studies at different levels were performed (population, regional, comparative etc.). The gradient of different spatial levels and comparative studies of closely related groups (characterised by partly different type of ongoing microevolution) clearly indicated common processes and at the same time underlined the uniqueness of genus *Pilosella*.

Microevolutionary potential was studied at the population level (hybridization tendencies of highly complex hybridization swarm in Prague - Praha Vysočany). Basic species *P. officinarum* and *P. piloselloides subsp. bauhini* (further in text *P. \*bauhini*) hybridize there resulting in wide spectrum of various lineages (according to ploidy level, reproductive mode etc.). Aim of the above mentioned study was to focus on morphological manifestation of highly complex microevolutionary phenomena (especially hybridization accompanied by polyploidy, reproductive mode variation, parthenogenesis etc.).

The study was focused on two related datasets: maternal plants and their progeny. Both datasets were further structured to biosystematically characterised groups based on ploidy level and reproductive mode. Results of multivariate morphometric study confirmed morphological gradient in the hybrid swarm between *P. officinarum* and *P. \*bauhini* which exists in maternal plants. Crossing resulted in the most frequent hybrid *P. brachiata* (and rare *P. leptophyton*). Analysis of filial plants showed shifts within the progeny: they indicate several microevolutionary traits such as formation of new hybrid combination, introgressive hybridization and hybrids segregation or most probably their combination. Hybridization was present in almost all directions despite the fact of apomictic reproductive mode presence (one of the parental species as well as part of hybrids) and *P. officinarum* was indicated to play dominant role in backcrossing (especially with *P. brachiata*), which may be considered to be the crucial result of the analyses.

Population level was followed by studies at regional scale (focused on Central Europe overlapping to whole distribution range). *Pilosella officinarum* was chosen as a model species. The taxon is characterised by enormous variation (in ploidy levels and reproductive modes) and at the same time it is the most frequent species of *Pilosella* in Europe. Further extrapolation of *P. officinarum* studies to the rest of genus *Pilosella* is adequate, because *P. officinarum* is the most frequent participant of hybridization events in the entire genus. *Pilosella officinarum* was sampled from the area of Central Europe (especially the Czech and Slovak Republic). DNA ploidy level analyses confirmed highly discrete pattern of cytotype (DNA ploidy level) group distribution including accurately determined cytotype distribution borders. Whole Europe cytotype distribution map was created out of published data and the Central European distribution maps were finally interpreted in whole European context.

Cytotype distribution pattern in central Europe corresponds to geomorphologic/geologic regions. Tetraploid cytotype almost exclusively occurs in Bohemia and further to the west and North whereas pentaploid and hexaploid cytotypes prevail in Moravia and Slovakia and further to south-east. The distribution areas correspond to geomorphologic units of Czech Massif (≈Hercynicum) and Western Carpathians, probably

reflecting different history (florogenesis), geological constitution and climatic gradient towards continental type. Tetraploid cytotype area have distribution centre in Central and Western Europe (incl. Baltic region) and Iberian Peninsula, whereas pentaploid and hexaploid cytotypes occur in surrounding areas (deglaciated regions of British Isles and Scandinavia, Central and Eastern Mediterranean and the Balkan Peninsula. Overall distribution pattern probably mirrors different processes in history, partially of postglacial recolonisation (geographic parthenogenesis).

When we included results of reproductive mode analysis the cytotypes were further divided. Tetraploid cytotype was confirmed to be sexual, whereas apomixis almost absolutely prevailed among pentaploids. Hexaploid plants formed two distinct groups in Central Europe. Apomictic hexaploids occur frequently in Moravia and Slovakia regions (Western Carpathians) and in Pannonia. On the other hand, sexual hexaploid cytotype is almost exclusively restricted to several steep slopes and rocky outcrops of river canyons in southern Moravia and Central Bohemia (relic primary forest free habitats).

Morphological characters of most of the plants were then analysed using multivariate morphometrics. Results confirmed possibility to distinguish particular cytotypes (pentaploids partly overlapping with the tetra- and hexaploids). Different morphologic traits of sexual vs. apomictic hexaploids were indicated too. Nevertheless, the confirmed distinct groups could hardly be taxonomically treated for several reasons (over 600 already described subspecies, difficulties with their typifications, additional biosystematic data which would be needed for original types etc).

Comparative studies of related group were then performed. As microevolutionary comparable taxa *Picris hieracioides* group was chosen (less complex pattern, no apomixis, almost exclusively diploid). Variation is still evidently mirrored at the level of absolute genome size. Detailed absolute genome size study revealed two distinct groups with no overlaps. Each group occurs in different habitat according to altitude and rate of anthropic impact ("higher altitude type" - mountains, primary habitats vs. "lower altitude type" - lowland, secondary habitats) and that is why they are probably lineages with unique evolutionary history. Generally, the genome size of both morphotypes increased significantly from south-west to north-east. During genome size screening also a mixed population with two triploid plants was found (the first report of triploid incidence in the whole genus). *Picris hieracioides* was supposed to be exclusively diploid; thus triploid plants existence (probable via unreduced gamete participation) confirmed a theoretical polyploid potential even in this group.

Final comparative study was focused on *Picris hispidissima* - a Balkan taxon, which seemed to be already distinctly derived from the *P. hieracioides* group (probably due to isolation). Stability and discreteness of *P. hispidissima* as taxon was supported by much lower range of intraspecific genome size variation. Absolute genome size also separates *P. hispidissima* from *P. hieracioides* (significantly higher content of DNA). Multivariate morphometric studies finally confirmed markedly specific morphology compared to *P. hieracioides*.

The *Picris* comparative case studies revealed highly distinct microevolutionary pattern compared to genus *Pilosella*. Some crucial sources of genus *Pilosella* variation are evidently not present here and that is why less reticulate and complex pattern is formed. Especially apomixis has not ever been recorded in *Picris*. Thus formation of discrete lineages ( $\approx$ genotypes) characteristic of apomicts is not present. At the same time almost no polyploidy was recorded. Results also indicate relatively low rate of hybridization (especially compared to genus *Pilosella*). In addition, no clonal growth occurs and such rarity as long-time persistence of triploids is not possible. Microevolution in genus *Picris* seems to be rapidly ongoing but there still exist natural, partly discrete taxonomic units. On the contrary, during extremely rapid and reticulate microevolution within genus *Pilosella* natural taxonomic units merge together and the whole genus is evidently coming through deep changes.



## Úvod

Tribus Cichoriae Lam. & DC. (syn. Lactuceae Cass.) představuje jednu z nejstudovanějších skupin čeledi Asteraceae. Velkému zájmu se těší především rody jako: *Crepis*, *Hieracium*, *Pilosella* nebo *Taraxacum* a hospodářsky významný rod *Lactuca* (Kilian et al. 2009). Tribus Cichoriae je jednoznačně morfologicky a anatomicky definován (přítomnost latex produkcujících mléčnic, homogamní úbor a jazykovité květy zakončené pěti zuby jsou znaky uznávané již od popisu taxonu, Tournefort 1964). Naproti tomu je taxonomická situace uvnitř tribu podstatně komplikovanější. Většina výše uvedených rodů je totiž všeobecně známa výskytem polyploidie, hybridizace a apomixie, následkem čehož jsou taxonomická pojetí často velmi komplikovaná. Záměrem taxonomického pojetí je zohlednit skutečnou situaci v přírodě (častým výsledkem bývá dělení do velkého množství mikrospecií, které reprezentují jednotlivé apomiktické linie). Přesto však je těžké přirozený systém vytvořit, neboť častá hybridizace (projevující se retikulátní evolucí) vše značně komplikuje.

### ***Hieracium* s. l.**

Na místo rodu *Hieracium* s. l. se dnes stále častěji používá užší pojetí vyjádřené dvěma rody (*Hieracium* a *Pilosella*; Sell & West 1975, Bräutigam & Greuter 2007). Z toho důvodu jsou také v následujícím textu oba rody pojaty odděleně. Rod *Pilosella* se od rodu *Hieracium* podstatně liší několika znaky. Délka nažky nepřesahuje 2,5 mm (u rodu *Hieracium* je 2,5-5 mm) a nažka samotná je pokryta ca 10 žebry. Chmýr nažek bývá jednořadý (u rodu *Hieracium* dvouřadý). Mimo jednoznačné znaky lze rod *Pilosella* charakterizovat na základě několika morfologických tendencí jako např.: tvorba výběžků nebo červené proužkování okrajových jazykovitých květů (např. Zahn 1921, 1923, 1930, Sell & West 1975, 1976, Chrtek 2002, 2004). Odlišnosti lze nalézt na úrovni biosystematických vlastností. Absolutní velikost genomu (Cx - hodnota) je u zástupců rodu *Pilosella* přibližně dvakrát nižší než u rodu *Hieracium* (Bräutigam & Bräutigam 1999, Vladimirov & Greilhuber 2003, Chrtek et al. 2009). Zásadní odlišnost je na úrovni typu apomixie (*Pilosella* - aposporie a *Hieracium* - diplosporie; Pogan & Wcisło 1989, 1995, Rosenberg 1906, 1907). Přínos pro pochopení problematiky rodu znamenalo použití molekulárních metod (jaderných markerů - ITS a chloroplastových haplotypů; Fehrer et al. 2007a). Data z analýz jaderných markerů spíše potvrdila dosavadní taxonomické koncepty. Naproti tomu chloroplastové haplotypy vytvořily překvapivé "pattern" rozdělující rod *Pilosella* do dvou značně vzdálených skupin. Pro jednoznačnější výsledky však bude v budoucnu nutné zahrnout z každého výrazně větší počet jedinců. Některé recentní biosystematické studie totiž naznačují, že typy a kombinace mikroevolučních procesů (hybridizace, ploidní úroveň, reprodukční způsoby a další) jsou značně odlišné i mezi dvěma velmi blízkými pohořími (Krahulec et al. nepublikováno).

### ***Pilosella***

Všeobecně uznávaný taxonomický koncept rodu *Pilosella* je členěn do skupiny základních druhů (Hauptarten) a druhů vedlejších (Nebenarten později též Zwischenarten; Nägeli & Peter 1885). Skupina základních druhů zahrnuje skupinu taxonů, které jsou charakterizovány unikátními znaky. Zatímco druhy vedlejší kombinují znaky hlavních druhů, a naznačují tak jejich hybridogenní ráz. Taxonomický koncept je podpořen velkým množstvím dat z hybridizačních experimentů Nägeliho a Petera (1885) a jeho robustnost dodnes potvrzována (např. Suda et al. 2007, Fehrer et al. 2007a). Odlišení základních a vedlejších druhů rovněž odpovídají některým tendencím biosystematických vlastností (ploidní úroveň či reprodukční způsob). Základní druhy bývají často diploidní a sexuální jsou naproti tomu vedlejší druhy nejčastěji polyploidní a apomiktické (Krahulcová et al. 2000). Stáří a okolnosti vzniku jednotlivých hybridogenních druhů však nelze jednoznačně určit ani molekulárními markery ani paleobotanickým výzkumem (většina taxonů čeledi Asteraceae totiž nemá specifickou morfologii pylu, fytolitu a ani dalších paleobotanických markerů, např. Beug 2004, Petr & Urfus nepublikováno). Každopádně evoluce vedlejších druhů stále probíhá a od recentních hybridů je většinou lze odlišit. Počet vedlejších druhů kolísá mezi 20 a 30 v závislosti na jednotlivých taxonomických konceptech (např. Bräutigam a Greuter rozlišují 20 hlavních druhů a množství poddruhů ve svém nejnovějším členění; Bräutigam & Greuter 2007). Naproti

tomu počet popsaných vedlejších druhů se pohybuje v řádech stovek a tisíců. Detailnější taxonomické přístupy pravděpodobně lépe odrážejí reálnou diverzitu, avšak morfologické vymezení jednotlivých mikrospecií je často nejisté. Značné množství dříve popsaných taxonů navíc představuje apomiktické linie uměle vyjmuté z populací, které se z velké části rozmnožují sexuálně a příležitostně hybridizují. V neposlední řadě se ještě celá řada taxonů popsaných před více jak sto lety zcela rozplynula prostřednictvím introgresivní hybridizace. Podobně komplikované situace jsou pomocí tradiční taxonomie téměř neřešitelné, což v poslední době vyústilo v rezignaci na detailní taxonomické koncepty (Bräutigam a Greuter zredukovali počet vedlejších druhů na pouhých 122; Bräutigam & Greuter 2007).

Rozšíření rodu *Pilosella* příliš nepřesahuje geografické hranice Evropy (Bräutigam 1992, Fehrer et al. 2007b). V mnoha případech však nejsou známy východní hranice rozšíření. Rozšíření několika druhů zasahuje na jižní Sibiř (např. *P. echioides*, *P. onegense*; Schischin 2002) nebo do středoasijských pohoří (*P. aurantiaca*; Krahulec nepublikováno). Většina druhů rodu *Pilosella* zahrnuje stres tolerantní rostliny. Základní druhy se mají tendenci vyskytovat na primárních bezlesých stanovištích (skály, stepi, písčiny, lemy vrchovišť a rašelinišť atd.). Vedlejší druhy se vyskytují spíše na sekundárních stanovištích (Zahn 1921, 1923, 1930, Sell & West 1975, 1976, Chrtěk 2002, 2004).

S ohledem na značné množství popsaných taxonů v rámci různých taxonomických konceptů se jednoznačně nabízí otázka po zdrojích variability. Zdrojů enormní variability skupiny je více: polyploidie (zaznamenané cytotypy:  $2x, 3x, 4x, 5x, 6x, 7x, 8x; x=9$ ), apomixie v kombinaci se sexuálním rozmnožováním (často v rámci jednoho úboru), vegetativní rozmnožování pomocí výběžků a další (Gadella 1987, 1991, Krahulcová et al. 2000). Pyl zástupců rodu *Pilosella* bývá navíc i u rostlin s převažující apomixií fertilní (i u jinak sterilních rostlin typu F1 triploidů). Mezi další zdroje variability mimo jiné patří také: haploidní partenogeneze a autogamie prostřednictvím mentor efektu (Krahulcová et al. 1999, Krahulcová et al. 2000, Krahulcová & Krahulec 2000). Většina výše zmíněných fenoménů se navíc nejrůznější měrou kombinuje. Apomiktické linie jsou fakultativní, takže často následně hybridizují s jinými cytotypy či taxony, výsledkem čehož je široká škála různých morfologických linií či cytotypů. Rozhodně existuje ještě celá řada méně známých zdrojů variability rodu *Pilosella*. Dodnes např. nebyla zhodnocena frekvence výskytu neredukovaných gamet. Stejně není zdaleka pochopen význam haploidní partenogeneze a především zpětného zdvojování polyhaploidů (Krahulec et al. 2011).

### **Polyploidie**

Rod *Pilosella* je polyploidizací zásadním způsobem ovlivněn. Lze se v něm setkat se širokým spektrem ploidních úrovní (zaznamenané cytotypy v přírodě:  $2x, 3x, 4x, 5x, 6x, 7x, 8x$ , při základním chromozomovém čísle  $x=9$ ; Schuhwerk 1996, Schuhwerk & Lippert 1997, 1998, Krahulcová & Krahulec 1999, Krahulcová et al. 2000, Rotreklová et al. 2002, 2005 atd.). Ovšem během různých hybridizačních experimentů byly zaznamenány mnohem vyšší ploidní úrovně (až do  $12x$ ; Skalińska 1976). Značné množství druhů je reprezentováno více než jednou ploidní úrovní a udává se, že prakticky polovina taxonů sestává z více jak jedné ploidie (i v rámci jednotlivých populací; Schuhwerk 1996, Schuhwerk & Lippert 1997, 1998, Krahulcová & Krahulec 1999, Rotreklová et al. 2002, 2005 atd.). Diploidní úroveň je charakteristická především pro hlavní druhy (u některých základních druhů však diploidní úroveň není známa - např. *P. aurantiaca* - zde znám pouze dihaploid, tedy výsledek haploidní partenogeneze; Skalińska 1971). Polyploidizace u rodu *Pilosella* je pravděpodobně způsobena hybridizací za účasti neredukovaných gamet (v naprosté většině za účasti jedné neredukované gamety), výsledkem jsou posléze tzv. "addition" hybridy. "Addition" hybridy tak představují základní krok k následné polyploidizaci (právě tento jev studován v rámci experimentálních hybridizací; Skalińska 1973, 1976, Gadella 1988, Krahulcová & Krahulec 2000, Krahulcová et al. 2004, 2011 a další). Důležitost "addition" hybridů jako základního kroku k polyploidizaci a tedy zdroje variability však pravděpodobně stále ještě není náležitě doceněna (např. u *P. rubra* z Krkonoš bylo prokázáno, že se jedná o "addition" hybrida mezi *P. aurantiaca* -  $2n$  a *P. officinarum* -  $n$ ; Krahulcová et al. 2004, Suda et al. 2007). Jednotlivé základní druhy rodu *Pilosella* se mimo jiné také liší na základě absolutní velikosti genomu. Intermediární absolutní velikost jednotlivých vedlejších druhů následně potvrzuje jejich hybridogenní charakter (Suda et al. 2007).

Problematika aneuploidie (tj. abnormálního chromozomového počtu) evidentně souvisí s polyploidizací (a hybridizací). V případě rodu *Pilosella* byla aneuploidie zaznamenána již v nemálo případech: *P. aurantiaca* ( $2n=30$ ; Pashuk 1987), 5 individuals of *P. piloselliflora* Nägeli et Peter ( $2n=48$ ; Krahulcová & Krahulec 1999, Krahulcová et al. 2000), nebo v hybridních rojích mezi *P. officinarum* a *P. bauhini* (Krahulcová et al. 2009) atd. Dokonce i v rámci hybridizačních experimentů je však aneuploidie u rodu *Pilosella* relativně vzácný fenomén. Je známá buď z triploidního potomstva křížení tetraploidů a diploidů (*P. officinarum* × *P. aurantiaca*; Gadella 1991, Skalińska 1971) nebo je relativně častá jako výsledek křížení pentaploidních (donor pylu) a diploidních nebo tetraploidních rostlin (Krahulcová & Krahulec 2000).

### Způsoby reprodukce

Apomixie (= apomixie s. str., t. j. agamospermie, neboli asexuální reprodukce prostřednictvím semen) se zdá být v blízkém vztahu s polyploidii (jedinou diploidní výjimkou pravděpodobně představuje rod *Boechea*, Brassicaceae, Kantama et al. 2007) a hybridizací. V případě rodu *Pilosella* se lze setkat s aposporickým typem apomixie (t. j. typ *Antenaria*; Rosenberg 1907). Zásadní roli rodu *Pilosella* ve výzkumu apomixie mimo jiné zdůrazňuje fakt, že právě u jeho zástupců byl tento typ poprvé zaznamenán (Pogan & Wcisło 1989). Neredukované zárodečné vaky se u zástupců rodu *Pilosella* běžně mísí se standardně redukovanými, výsledkem čehož je rovněž smíšené potomstvo (tj. fakultativní apomixie; např.: Krahulcová et al. 2000, 2004, 2011, Krahulec et al. 2004). Oba typy zárodečných vaků spolu posléze kompetují. Bohužel není o faktorech ovlivňujících podobnou kompetici a výslednou dominanci jednoho z typů prakticky nic známo.

Avšak apomixie sama o sobě není zásadním zdrojem variability v rodu *Pilosella*, za ten lze totiž považovat spíše kombinaci apomixie s dalšími reprodukčními způsoby (často v rámci jednoho úboru; Krahulcová et al. 2000, 2004). Jednotlivé reprodukční způsoby se částečně váží k různým ploidním úrovním. Čím vyšší je např. ploidní úroveň tím vyšší je pravděpodobnost apomixie (přičemž diploidní rostliny jsou sexuální). U lichých ploidií je rovněž vyšší pravděpodobnost apomixie (nebo sterility; Gadella 1987, 1991, Krahulec & Krahulcová 1999, Krahulcová et al. 2000, Krahulcová et al. 2001, Rotreklová et al. 2002, 2005). Výjimkou je v rodu *Pilosella* v tomto ohledu celá řada. Stále však alespoň platí, že diploidní rostliny jsou sexuální (*P. lactucella* - Skalińska 1967, Gadella 1984, Krahulcová & Krahulec 1999; *P. peleteriana* a *P. hoppeana* - Gadella 1984, *P. officinarum* - Gadella 1984; *P. onegensis* - Skalińska 1967, Skalińska & Kubień 1972, Krahulcová & Krahulec 1999; *P. echioides* - Kašin & Černišková 1997, Peckert 2001, Rotreklová et al. 2002). Přesto však byla apomixie potvrzena v případě dihaploidní rostliny (tj. rostliny s diploidním počtem chromozómů, která vznikly z tetraploida pomocí haploidní partenogeneze; Bicknell 1997, Bicknell et al. 2000, Krahulec et al. 2011).

U sexuálních rostlin byla potvrzena cizosprašnost (Gadella 1988, 1991, Krahulcová & Krahulec 1999). Přesto lze dosáhnout autogamie prostřednictvím stimulace blizny pomocí cizího pylu, tzv. mentor efekt (Krahulcová et al. 1999, posléze potvrzeno i u rodu *Hieracium* s. str.; Mráz 2003). Podobný proces nemusí být v přírodě nijak raritní událostí, protože pospolu většinou roste více druhů, takže samosprašnost je relativně častá.

Jednoznačně významným zdrojem variability je i klonální růst prostřednictvím výběžků (Krahulcová et al. 2000). Pomocí klonálního růstu se totiž mohou genotypy na lokální úrovni udržovat až šířit, což zahrnuje i genotypy jinak sterilní, které díky stále fertilitnímu pylu mohou dále zasahovat do mikroevoLucie (Gadella 1987, Krahulcová & Krahulec 2000).

### Hybridizace

V neposlední řadě je zcela zásadním zdrojem variability rodu *Pilosella* hybridizace (Krahulcová et al. 2000). Právě hybridizace je považována mnoha autory za zcela zásadní motor speciace (Skalińska 1967, Turesson 1972, Krahulcová et al. 2000). Jednotliví hybridní jedinci nebo alespoň znaky svědčící o introgresi se vyskytují ve většině populací. Relativně běžné jsou i rozsáhlé hybridní roje, protože většina sympatricky se vyskytujících taxonů rodu je schopná hybridizace (nejsou vytvořeny prakticky žádné hybridizační bariéry; Gadella 1987). Introgresivní hybridizace je zcela běžným jevem v celém rodu a lze se setkat i s trihybridy (Gadella 1988, 1992). Hybridizace zástupců rodu *Pilosella* probíhá bez ohledu na ploidní úroveň či reprodukční způsoby. Dokonce i apomiktiční jedinci se podílejí na hybridizaci buď jako donor pylu (např. Skalińska 1976, Gadella 1982, 1987)

nebo překvapivě jako mateřské rostliny, neboť jejich apomixie je fakultativního typu (např.: Skalińska, Krahulec et al. 2004, 2008).

V holocénu je míra hybridizace pravděpodobně umocněna lidskými aktivitami. Uměle zachovaná a rozšiřovaná bezlesá krajina (antropogenní step) výrazně napomáhá šíření některých druhů rodu *Pilosella*. Široké spektrum nejrůznějších disturbovaných sekundárních stanovišť hostí druhy a propojením jejich nik dochází k tzv. antropohybridizaci (Wójcicki 1991). Horské louky jsou v tomto ohledu klasickým příkladem dlouhodobě udržovaného antropogenního habitatu, který je pravidelně narušován sečí a kde se udržují i méně kompetitivní druhy. Setkávají se zde druhy horského bezlesí s druhy nižších poloh a vytvářejí hybridní roje ale i celou řadu stabilizovaných hybridogenních taxonů (Krahulcová & Krahulec 1999, Krahulec et al. 2004).

### ***Pilosella officinarum* a *P. piloselloides* subsp. *bauhini* v centru zájmu**

*Pilosella officinarum* je pravděpodobně nejběžněji se vyskytující druh rodu *Pilosella*. *Pilosella officinarum* společně s několika diploidními druhy tvoří sekci *Pilosellina*, která je jednoznačně charakterizována lodyhami s jedním úborem a hustou vrstvou hvězdovitých trichomů na rubu listů (např. Zahn 1923, Sell & West 1976). *Pilosella officinarum* je jediným běžným polyploidním druhem sekce<sup>3</sup>. Je to značně variabilní druh, jehož vnitřní komplikovanost lze názorně ilustrovat 624 poddruhy, které udává monograf rodu K. H. Zahn (Zahn 1923).

Zdroje variability *P. officinarum* se shodují s výše uvedenými zdroji pro celý rod (tzn. polyploidie, kombinace různých reprodukčních způsobů, hybridizace a klonální růst; Krahulcová et al. 2000). *Pilosella officinarum* je v těchto ohledech opravdu neuvěřitelně variabilní. Byly zaznamenány 2x, 4x, 5x, 6x a 7x cytotypy. Apomixie je nejrůznějším způsobem kombinována se sexuálním rozmnožováním. V rámci hybridizace lze druh *P. officinarum* dokonce považovat za nejdůležitější pro celý rod, neboť je nejčastějším rodičovským druhem hybridogenních taxonů (např. Zahn 1923). Podobně jako u celého rodu (viz. výše) se váží jednotlivé reprodukční způsoby k určitým ploidním úrovním. Tetraploidní rostliny jsou převážně sexuální (jsou však známy i apomiktické výjimky; Gadella 1984). Naproti tomu bývají pentaploidní rostliny apomiktické (ovšem i zde jsou sexuální výjimky; Turesson & Turesson 1960, Turesson 1972, Gadella 1984, Pogan & Wcisło 1995, Krahulcová et al. 2000, Rotreklová et al. 2002). Hexaploidní rostliny se vyskytují jak sexuální, tak apomiktické. Sexuální rostliny byly zaznamenány v horských oblastech (především v Alpách - grex *incanum*; Gadella 1984) a ve střední Evropě v říčních kaňonech (Urfus 2006). Vzácný heptaploidní cytotyp představují jak apomiktické tak sterilní rostliny (Gadella 1984, 1991). Diploidní cytotyp (Delcourt 1972, Gadella 1984) vyžaduje ještě další studium, neboť jeho statut a zařazení se zdají být pochybné.

*Pilosella piloselloides* subsp. *bauhini* (dále v textu *P. \*bauhini*) na rozdíl od *P. officinarum* nenáleží do tak morfologicky odlišné skupiny (sekce *Prealina* - příbuzný nominální poddruh se liší jen na základě absence stolonů; např. Gottschlich 1987). Podobně jako u *P. officinarum* i v rámci *P. \*bauhini* bylo popsáno značné množství vnitrodruhových taxonů (např. Zahn 1923, 1930). U druhu *P. \*bauhini* také zjištěno více ploidních úrovní (4x, 5x a 6x; Rotreklová 2004). Pozoruhodné bylo zjištění ohledně distribuce cytotypů (cytogeografie) na území střední Evropy, neboť *P. \*bauhini* má téměř dokonale inverzní distribuční "pattern" cytotypů ve srovnání s *P. officinarum* (Rotreklová 2004). Tetraploidní cytotyp se rozmnožuje především sexuálně, ale podobně jako u *P. officinarum* i zde byly nalezeny apomiktické linie (Rotreklová 2004, Krahulcová 2009). U pentaploidního a hexaploidního cytotypu zcela převažuje apomixie. *Pilosella \*bauhini* také velmi často hybridizuje. Obzvláště velké hybridní roje vytváří právě s *P. officinarum*, výsledkem čehož bývá široké spektrum morfologických linií podobných *P. brachiata* (DC.) F. W. Schultz & Sch. Bip. a *P. leptophyton* (Nägeli & Peter) S. Bräut. & Greuter (- intermediární hybridogenní druhy mezi oběma rodičovskými druhy; např. Krahulcová et al. 2009).

Pro pochopení problematiky rodu *Pilosella* je rozhodně vhodné srovnání s příbuznou skupinou, u které se odehrává evoluce na diploidní úrovni. *Picris hieracioides* L. jemu velmi příbuzný *P. hispidissima* (Bartl.) Koch

<sup>3</sup> Jediný další tetraploidní taxon je vzácná *P. saussureoides* (např. Sell & West 1976).

zastupují právě skupinu téměř výhradně diploidních a blízkce příbuzných rostlin (Sell 1975, 1976, Bolòs & Vigo 1990, Slovák et al. 2007). Příbuzenství obou skupin je rovněž potvrzeno fylogenetickými analýzami (Klilian et al. 2009), které řadí rod *Picris* a *Pilosella* do sesterských "cladů" (4 a 5) v rámci tribu Cichoriae. Skupina druhů kolem *Picris hieracioides* představuje značně morfologicky variabilní soubor, přestože se jedná o rostliny sexuální, cizosprašné a diploidní (Sell 1976). I v této skupině je rozlišován vysoký počet vnitrodruhových taxonů. Většina znaků se nachází na odění a zbarvení zákrovu, velikosti a tvaru květenství apod., čímž se značně podobají morfologické variabilitě rodů *Pilosella* i *Hieracium*; Sell 1975, 1976, Bolòs & Vigo 1990, Haeupler & Muer 2007). Obecně tvoří rostliny okruhu *P. hieracioides* (dle studie v západních Karpatech) dvě skupiny dle stanovišť: horské linie z primárních stanovišť a značně rozšířenou skupinu nižších poloh ze sekundárních habitatů (Slovák et al. 2007).

#### **Záměry práce:**

- I. Detekce procesů v rámci hybridního roje pomocí morfometrického zpracování maternální a filialní generace
- II. Distribuce ploidních úrovní na různých škálách
- III. Morfometrické zhodnocení cytotypů definovaných ploidní úrovní a reprodukčními způsoby
- IV. Srovnání různých "pattern" variability u příbuzných skupin

#### **Materiál a metodika**

Materiál pro první názornou studii v dizertační práci představovaly dokladové herbářové položky, které byly získány v rámci série hybridizačních experimentů (Krahlcová et al. 2009). Rostliny zpracovávané během druhé studie pocházely z terénních sběrů (3-5 náhodně vybraných jedinců z populace), byly pěstovány na experimentální zahradě BÚ AV ČR minimálně dvě sezóny a po příslušných analýzách z nich byly vytvořeny dokladové položky. Tento dokladový materiál byl nadále rozšířen a zařazen do biometrické studie. Materiál okruhu *Picris hieracioides* byl sbírán zcela analogickým způsobem jako předcházející studie.

Průtoková cytometrie byla užita pro stanovení DNA ploidní úrovně (fluorescenční barvivo DAPI) a absolutní velikosti genomu (f. barvivo PI). Postup přípravy vzorků byl standardní s menšími úpravami (např. Suda et al. 2007).

Analýzy reprodukčních způsobů odpovídaly postupu sérii kastročních pokusů (dle Gadella 1987, Krahlcová & Krahllec 1999). Analýza má tři nezávislé kroky: test sprášením cizím pylem (sterilita), uzavření úboru v plátěném sáčku (autogamie, apomixie) a emaskulace s následným uzavřením v plátěném sáčku (apomixie).

V morfometrických částech pak byla vybrána série kvantitativních a semikvantitativních znaků, jejichž hodnoty byly stanoveny u vybraných skupin herbářových položek. Získaná data dále zpracována mnohorozměrnými statistickými metodami.

#### **Výsledky a diskuze**

Prostřednictvím morfometrické analýzy byly studovány hybridizační procesy, které se vyskytují v populaci *P. officinarum* a *P. \*bauhini*. Analyzován byl soubor mateřských rostlin přímo v terénu a tamtéž byly těmito rostlinám odebrány nažky k analýze potomstva. Výsledky potvrdily běžnou hybridizaci obou rodičů a jejich hybridů (*P. brachiata* a *P. leptophyton*). Všechny rostliny s různými reprodukčními způsoby (sexuální, fakultativně apomiktický i variabilní) se na křížení podílely.

Na studovaném území byly nalezeny čtyři ploidní úrovně. Tetraploidní cytotyp byl nejrozšířenější v západní části (Čechy ≈ Hercynicum, Česká vysočina). Pentaploidní a hexaploidní cytotyp je naopak charakteristický pro oblast Slovenska a Moravy (Západní Karpaty a Panonie). Hranice rozšíření cytotypů je jasně patrná a odpovídá hranicím geomorfologických jednotek. Smíšené lokality ze dvou cytotypů byly detekovány v téměř 12% případech. V západních Karpatech byla navíc detekována signifikantní závislost distribuce cytotypů na základě nadmořské výšky.

Druh *Pilosella officinarum* je s ohledem na ploidní úroveň reprezentován především tetraploidním, pentaploidním a hexaploidním cytotypem, které jsou dále kombinovány s různými reprodukčními systémy (4x - převážně sexuální, 5x - většinou apomiktický a 6x sexuální i apomiktický). Současné vnitrodruhové pojetí druhu je založeno na apomiktických liniích, příliš komplikované a v praxi téměř neuplatnitelné. Z toho důvodu byli zástupci výše uvedených skupin podrobena morfometrické analýze. Výsledky potvrdily výrazné rozdíly mezi všemi třemi cytotypy včetně odlišné skupiny sexuálních a apomiktických hexaploidů.

Záměrem studie polymorfického taxonu *P. hieracioides* bylo stanovit variabilitu absolutní velikosti genomu. 2-C hodnota byla od 2,26 do 3,11 pg. Variabilita zůstala i po rozdělení souboru jedinců na dvě nedávno odlišné morfologické skupiny. Mimo jiné byl objeven nový triploidní cytotyp. Velikost genomu v rámci areálů obou morfotypů signifikantně vzrůstá od jihozápadu k severovýchodu.

V rámci poslední studie byla soustředěna pozornost na jediného balkánského endemita rodu *Picris*, *P. hispidissima*. Pro analýzy byly využity morfometrické a cytometrické metody. Byla dokázána morfologická odlišnost od nejbližšího taxonu *P. hieracioides*. Na vnitrodruhové úrovni již nebyla zaznamenána žádná další variabilita, která by vyžadovala další klasifikaci. Velikost genomu se ukázala být značně variabilní (až 9,5%), což lze vysvětlit hybridizací s *P. hieracioides*, který má signifikantně odlišnou velikost genomu.

### Závěry

Pro studium významnosti jednotlivých zdrojů variability rodu *Pilosella* a ke sledování mikroevolučních trendů byla uskutečněna série studií na několika úrovních (populační, regionální, komparativní). Výsledky studií na prostorovém gradientu a v rámci srovnávacího přístupu s příbuznou skupinou (charakterizovanou částečně odlišnými mikroevolučními procesy) jasně naznačily společné procesy a současně zdůraznily unikátní postavení rodu *Pilosella*.

Na populační úrovni byl studován mikroevoluční potenciál (hybridizační trendy mimořádně komplikovaného hybridního roje na území Prahy - Vysočany). Základní druhy *P. officinarum* a *P. piloselloides* susp. *bauhini* (dále jen *P. \*bauhini*) v rámci této populace intenzivně hybridizují a vytváří široké spektrum různých linií potomstva (jak podle morfologie, tak na základě ploidní úrovně či reprodukčních způsobů). Záměrem této studie bylo morfometrické zhodnocení projevů vysoce komplikovaných hybridizačních fenoménů (obzvláště hybridizace v souvislosti s polyploidii, variabilita reprodukčních způsobů včetně partenogeneze atd.).

Studie byla zaměřena na dva odlišné soubory dat: mateřské rostliny a jejich potomstvo. Oba soubory byly dále strukturovány do skupin definovaných biosystematickými vlastnostmi (ploidie a reprodukční systém). Morfometrická studie souboru mateřských rostlin potvrdila morfologický gradient mezi oběma rodičovskými druhy. Stejným způsobem zpracovaný soubor potomků již vykazuje posun, což naznačuje hned několik možných fenoménů jako: formaci nových hybridních kombinací, zpětnou hybridizaci (obzvláště směrem k *P. officinarum*) či segregaci hybridů nebo nejspíš jejich kombinaci.

Populační úroveň byla následována studií na regionální úrovni (zaměřená na střední Evropu s přesahy do celého areálu rozšíření). *Pilosella officinarum* byla vybrána jako modelový druh. Vzorky byly sbírány v prostoru střední Evropy (především z České a Slovenské republiky). Distribuční "pattern" tří ploidních úrovní (4x, 5x a 6x) bylo vyneseno do map.

Rostliny z cyto geografické studie byly také podrobeny testům reprodukčních způsobů, které dále rozdělily především hexaploidní cytotyp (na skupinu apomiktů a sexuálů). Celý soubor byl poté zpracován morfometricky a byly u něj potvrzeny značně odlišné morfologické trendy.

V rámci komparativního přístupu byli studováni zástupci značně polymorfického okruhu *P. hieracioides*. Byly u nich potvrzeny odlišné mikroevoluční trendy. Byla sledována recentně intenzivně probíhající mikroevoluce *P. hieracioides*, která zjevně směřuje k postupné speciaci dvou taxonů. Ideálním materiálem pro srovnání s předchozí studií byl endemický druh *P. hispidissima*, jehož speciace již dosáhla jednoznačně taxonomicky hodnotitelné úrovně.

## References

- Beug, H. J. (2004): Leitfaden der Pollenbestimmung in Mitteleuropa und angrenzenden Gebiete. Pfeil-Verlag, München.
- Bicknell R. A., (1997): Isolation of a diploid, apomictic plant of *Hieracium aurantiacum*. Sexual Plant Reproduction 10: 168–172.
- Bicknell R. A., Borst N. K. & Koltunow A. M. (2000): Monogenic inheritance of apomixis in two *Hieracium* species with distinct developmental mechanisms. - Heredity 84 (2): 228 - 237.
- Bicknell R. A. & Koltunow A. M. (2004): Understanding apomixis: recent advances and remaining conundrums. - Plant Cell, 16: 228-245.
- Bolòs O & Vigo J (1995): Flora manual dels Països Catalans. - EditorialBarcino, Barcelona.
- Bräutigam S. (1992): *Hieracium* L. - In: Meusel H. & Jäger E. J.,(eds.), Vergleichende Chorologie der zentraleuropäischen Flora 3., p. 325-333, 550-560, Gustav Fischer Verlag, Jena.
- Bräutigam S. & Bräutigam E. (1996): Determination of the ploidy level in the genus *Hieracium* subgenus *Pilosella* (Hill) S. F. Gray by flow cytometric DNA analysis. - Folia Geobotanica Phytotaxonomica 31: 315-321.
- Bräutigam S. & Greuter W. (2007): A new treatment of *Pilosella* for the Euro-Mediterranean flora [Notulae ad floram euro-mediterraneam pertinentes No. 24]. – Willdenowia 37: 123–137.
- Bräutigam S. & Schuhwerk F. (2002): *Hieracium* L. - In: Jäger E. J. & Werner K.(eds.), Rothmaler, Exkursionsflora von Deutschland 4.Gefäßpflanzen, Kritischer Band, 9. Auflage, p. 709 - 734, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg & Berlin.
- Chrtek J. Jr, Zahradníček J., Krak K. & Fehrer J. (2009): Genome size in *Hieracium* subgenus *Hieracium* (Asteraceae) is strongly correlated with major phylogenetic groups. Annals of Botany 104: 161-178.
- Chrtek J. jun (2002): *Hieracium* L. - In. Kubát K. (ed.), Klíč ke květeně České republiky, p. 706-732, Academia, Praha.
- Chrtek J. jun (2004): *Hieracium* L.- In: Štěpánek J. & Štěpánková J. (eds.), Květena České republiky 7, p. 540-701, Academia, Praha.
- Delcourt E. (1972): Contribution á l'étude cytotaxonomique de *Hieracium pilosella* L. - Bulletin Societe Botanique France 119: 287-302.
- Dickinson T. A. (1998): Taxonomy of agamic complexes in plants: A role for metapopulation thinking. - Folia Geobotanica 33 (3): 327-332.
- Fehrer, J., Gemeinholzer, B., Chrtek Jr., J. & Bräutigam, S. (2007a): Incongruent plastid and nuclear DNA phylogenies reveal ancient intergeneric hybridization in *Pilosella* hawkweeds (*Hieracium*, Cichorieae, Asteraceae). - Molecular Phylogenetics and Evolution 42: 347-361.
- Fehrer J., Krahulcová A., Krahulec F., Chrtek J. Jr., Rosenbaumová R. & Bräutigam. S. (2007b): Evolutionary aspects in *Hieracium* subgenus *Pilosella*. In: Grossniklaus, U., Hörandl, E., Sharbel, T., van Dijk, P. (eds.) Apomixis: Evolution, Mechanisms and Perspectives, Regnum Vegetabile 147, Koeltz, Königstein pp. 359-390.
- Fehrer J., Šimek R., Krahulcová A., Krahulec F., Chrtek J. Jr., Bräutigam E. & Bräutigam S. (2005): Evolution, hybridisation, and clonal distribution of apo- and amphimictic species of *Hieracium* subgen. *Pilosella* (Asteraceae: Lactuceae) in a Central European mountain range. In: F. T. Bakker, L.W. Chatrou, B. Gravendeel & P.B. Pelsler: Plant species-level systematics: new perspectives on patterns & processes. Regnum Vegetabile 143: 175-201. - Koeltz, Königstein.
- Gadella T. W. J. (1982): Cytology and reproduction of *Hieracium pilosella* L. and some related diploid species. - Acta Botanica Neerlandica 31: 140-141.
- Gadella T. W. J. (1984): Cytology and the mode of reproduction of some taxa of *Hieracium* subgenus *Pilosella*. - Proceedings of the Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen. Series C: Biological and Medical Sciences. 87: 387-399.
- Gadella T. W. J. (1987): Sexual tetraploid and apomictic pentaploid populations of *Hieracium pilosella* (Compositae). - Plant Systematic and Evolution 157: 219-245.

- Gadella T. W. J. (1988): Some notes on the origin of polyploidy in *Hieracium pilosella* agg. - Acta Botanica Neerlandica 37: 515-522.
- Gadella T. W. J. (1991): Variation, hybridization and reproductive biology of *Hieracium pilosella* L. - Proceedings of the Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen. Series C: Biological and Medical Sciences 94: 455-488.
- Gadella T. W. J. (1992): Notes on some triple and inter-sectional hybrids in *Hieracium* L. Subgenus *Pilosella* (Hill) S. F. Gray. - Proceedings of the Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen. Series C: Biological and Medical Sciences 95 (1): 51-63.
- Gottschlich G. (1987): *Hieracium* - In: Wagenitz G. (ed.), Hegi G., Illustrierte Flora von Mitteleuropa, ed. 2, p. 1182-1243, Parey, Hamburg.
- Haeupler, H. & Muer, T. (2007): Bildatlas der Farn- und Blütenpflanzen Deutschlands. - Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, Germany.
- Hörandl E. (1998): Species concepts in agamic complexes: Applications in the *Ranunculus auricomus* complex and general perspectives. - Folia Geobotanica 33 (3): 335-348.
- Hörandl E. (2006): The complex causality of geographical parthenogenesis. - New Phytologist 171 (3): 525-538.
- Hörandl E., Jakubowsky G. & Dobeš C. (2001): Isozyme and morphological diversity within apomictic and sexual taxa of the *Ranunculus auricomus* complex. - Plant systematic and evolution. 226: 165-185.
- Juxip A.J. (2002): *Hieracium* L. - In: Schischkin B.K. & Bobrov E.G. (eds.), Flora of the USSR, vol. XXX., Amerind Publishing, Washington.
- Kašín A. S. & Černíškova M. P. (1997): Chastota apomiksisa v populjatsiyach nekotorykh vidov *Taraxacum* i *Hieracium* (Asteraceae). - Botaničeskii Žurnal, St. Petersburg, 82: 14-24.
- Kashin A. S. & Anfalov V. E. & Demochko Yu. A. (2005): Studying allozyme variation in sexual and apomictic *Taraxacum* and *Pilosella* (Asteraceae) populations. - Russian Journal of Genetic 41:203-215.
- Kilian N., Gemeinholzer B. & Lack H. W. (2009): Lactuceae - In: Funk V. A., Susanna A., Stuessy T. F. Bayer R. J. (2009): Systematics, Evolution, and Biogeography of Compositae. International Association for Plant Taxonomy, Vienna.
- Kirschner J. (1998): A note on the taxonomy of agamic complexes. A reply to Tim Dickinson. - Folia Geobotanica 33 (3): 333-334.
- Koltunow A. M. (1993): Apomixis: Embryo sacs and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. - Plant Cell 5: 1425-1437.
- Koltunow A. M., Johnson S. D. & Bicknell R. A. (2000): Apomixis is not developmentally conserved in related, genetically characterized *Hieracium* plants of varying ploidy. - Sexual Plant Reproduction 12:253-266.
- Krahulec F., Krahulcová A., Fehrer J., Bräutigam S., Plačková I. & Chrtěk J. Jr. (2004): The Sudetic group of *Hieracium* subgen. *Pilosella* from the Krkonoše Mts: a synthetic view. - Preslia 76: 223-243.
- Krahulec F., Krahulcová A., Fehrer J. Bräutigam S. & 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 80: 1-26.
- Krahulec F., Krahulcová A., Rosenbaumová R. & Plačková I. (2011): Production of polyhaploids by facultatively apomictic *Pilosella* can result in the formation of new genotypes via genome doubling Preslia 83 (3): 471-490.
- Krahulcová A., Chrtěk J. & Krahulec F. (1999): Autogamy in *Hieracium* subgen. *Pilosella*. - Folia Geobotanica 34: 373-376.
- Krahulcová A. & Krahulec F. (1999): Chromosome numbers and reproductive systems in selected representatives of *Hieracium* subgen. *Pilosella* in the Krkonoše Mts ( the Sudeten Mts). - Preslia 71: 217-376.
- Krahulcová A. & Krahulec F. (2000): Offspring diversity in *Hieracium* subgen. *Pilosella* (Asteraceae): new cytotypes from hybridization experiments and from open pollination. - Fragmenta Floristica et Geobotanica 45 (1-2): 239-255.



- Krahulcová A., Krahulec F. & Chapman H. M. (2000): Variation in *Hieracium* subgen. *Pilosella* (Asteraceae): What do we know about its sources? - *Folia Geobotanica* 35: 319-338.
- Krahulcová A., Krahulec F. & Chrtek J. Jun. (2001): Chromosome numbers and reproductive systems in selected representatives of *Hieracium* subgen. *Pilosella* in the Krkonoše Mts (Sudeten Mts) - 2. - *Preslia*, 73: 193-211.
- Krahulcová A., Krahulec F. & Rosenbaumová R. (2011): Expressivity of apomixis in  $2n + n$  hybrids from an apomictic and a sexual parent: insights into variation detected in *Pilosella* (Asteraceae: Lactuceae). - *Sexual Plant Reproduction*, 24: 63-74.
- Krahulcová A., Papoušková S. & Krahulec F. (2004): Reproduction mode in the allopolyploid facultatively apomictic hawkweed *Hieracium rubrum* (Asteraceae, H. subgen. *Pilosella*). - *Hereditas* 141: 19-30.
- Krahulcová A., Rotreklová O., Krahulec F., Rosenbaumová A. & Plačková I. (2009): Enriching ploidy level diversity: the role of apomictic and sexual biotypes of *Hieracium* subgen. *Pilosella* (Asteraceae) that coexist in polyploid populations. - *Folia Geobotanica* 44: 281-306.
- Mráz P. (2003): Mentor effects in the genus *Hieracium* s. str. (Compositae, Lactuceae). - *Folia Geobotanica* 38: 345-350.
- Nägeli C. & Peter A. (1885): Die Hieracien Mittel-europas. Monographische Bearbeitung der Piloselloiden mit besonderer Berücksichtigung der mitteleuropäischen Sippen, München.
- Noyes R. D. & Soltis D. E. (1996): Genotypic variation in agamosperous *Erigeron compositus* (Asteraceae). - *American Journal of Botany*. 83:1292-1303.
- Pashuk K. T. (1987): Khromozomnye chisla vidov subal'piiskogo poyasa Chernogory (Ukrainskie Karpaty). - *Botaničeskii Žurnal, Leningrad*, 72: 1069-1074.
- Peckert T. (2001): *Hieracium echioides* Lumn. a *H. rothianum* Wallr. ve střední Evropě - Ms. [Dipl. práce, depon. in: Knihovna katedry botaniky PŘF UK, Praha].
- Peckert T. (2005): Polyploidy and agamospermy in *Hieracium echioides* (*Hieracium* subgen. *Pilosella*) : *Hieracium echioides* a model species for understanding of evolutionary processes in polyploids Ms. [Disert. práce, depon. in: Knihovna katedry botaniky PŘF UK, Praha].
- Peckert T. & Chrtek J. Jun. (2006): Mating interactions between coexisting diploid, triploid and tetraploid cytotypes of *Hieracium echioides* (Asteraceae). - *Folia Geobotanica* 41 (3): 323-334.
- Pogan E, Wcisło H. (1989): Cytological investigations on *Hieracium pilosella* L. From Poland. 1. Karyological studies. - *Acta Biologica Cracoviensia, Seria Botanica* 31: 19-28.
- Pogan E., Wcisło H. (1995): Embryological analysis of *Hieracium pilosella* L. From Poland. - *Acta Biologica Cracoviensia, Seria Botanica*. 37: 53-61.
- Richards A. J. (1997): *Plant Breeding Systems*, p.529, ed. 2., Chapman and Hall, London.
- Richards A. J. (2003): Apomixis in flowering plants: an overview. - *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B - Biological Sciences*, 358: 1085-1093.
- Rieseberg L. H. (1997): Hybrid origins of plant species. - *Annual Review of Ecology and Systematics* 28:359-389.
- Rosenberg O. (1906): Über die Embryobildung in der Gattung *Hieracium*. - Berlin Deutsche Botanische Gesellschaft. 24: 157-161.
- Rosenberg O. (1907): Cytological studies on the apogamy in *Hieracium*. - *Svensk Botanisk Tidskrift*. 11: 145-206
- Rotreklová O. (2004): *Hieracium bauhini* group in Central Europe: chromosome numbers and breeding systems. - *Preslia*, 76: 313-330.
- Rotreklová O., Krahulcová A., Mráz P., Mrázová V., Mártonfióvá L., Peckert T. & Šingliarová B. (2005): Chromosome numbers and breeding systems of some European species of *Hieracium* subgen. *Pilosella*. - *Preslia* 77 (2): 177-195.
- 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* 74: 27-44.
- Schuhwerk F. (1996): Published chromosome-counts in *Hieracium*. URL [<http://www.botanis-cestaatssammlung.de/projects/chrzlit.html>].

- Schuwerk F & Lippert W. (1997): Chromosomenzahlen von *Hieracium* L. (Compositae, Lactucae) Teil 1. - Sendtnera 4: 181-206.
- Schuwerk F & Lippert W. (1998): Chromosomenzahlen von *Hieracium* L. (Compositae, Lactucae) Teil 2. - Sendtnera 54: 269-286.
- Schuwerk F & Lippert W. (2002): Chromosomenzahlen von *Hieracium* L. (Compositae, Lactucae) Teil 4. - Sendtnera 8: 167-194.
- Seehausen O. (2004): Hybridization and adaptive radiation. - Trends in Ecology & Evolution 19, 198-207.
- Sell P. D. (1976): *Picris* L. - In: Tutin T. G., Heywood V. H., Burges N. A., Moore D. M., Valentine D. A., Walters S. M. et al. (eds) Flora Europaea 4., pp 315–317, Cambridge University Press, Cambridge.
- Sell P. D. & West C. (1975): *Hieracium* L. - In: Davis P. H. (ed.), Flora of Turkey Vol. 5., 696-763, University Press, Edinburgh.
- Sell P. D. & West C. (1976): *Hieracium* L. - In: Tutin T. G., Heywood V. H., Burges N. A., Moore D. M., Valentine D. H., Walters S. M. & Webb D. A., (eds.), Flora Europaea Vol. 4, p. 358-410, Cambridge University Press, Cambridge.
- Skalińska M. (1967): Cytological analysis of some *Hieracium* species, subgen. *Pilosella* from mountains of southern Poland. - Acta Biologica Cracoviensia, Seria Botanica 10: 126-140.
- Skalińska M. (1971): Experimental and embryological studies in *Hieracium aurantiacum* L. - Acta Biologica Cracoviensia, Seria Botanica 14: 139-152.
- Skalińska M. (1973): Further studies in facultative apomixis of *Hieracium aurantiacum* L. - Acta Biologica Cracoviensia, Seria Botanica 16: 121-133.
- Skalińska M. (1976): Cytological diversity in the progeny of octoploid facultative apomixis of *Hieracium aurantiacum* L. - Acta Biologica Cracoviensia, Seria Botanica 19: 39-46.
- Skalińska M. & Kubień E. (1972): Cytological and embryological studies in *Hieracium pratense* Tausch. - Acta Biologica Cracoviensia, Seria Botanica 15: 39-50.
- Stace T. A. (1998): Species recognition in agamosperms - The need for a pragmatic approach. - Folia Geobotanica 33 (3): 319-326.
- Stebbins G. L. (1957): Self-fertilization and population variability in the higher plants. The American Naturalist 91: 337–354.
- Suda J., Krahulcová A., Trávníček P., Rosenbaumová R., Peckert T. & Krahulec F. (2007): Genome size variation and species relationships in *Hieracium* subgen. *Pilosella* (Asteraceae) as inferred by flow cytometry. - Annals of Botany 100: 1323-1335.
- Tournefort J. P. de (1964): Éléments de Botanique, 3 vols. Imprimerie Royale, Paris.
- Turesson B. (1972): Experimental studies in *Hieracium pilosella* L. II. Taxonomy and differentiation. - Botaniska Notiser 125: 223-240.
- Tyler T. (2005): Patterns of allozyme variation in Nordic *Pilosella*. - Plant Systematics and Evolution 250: 133–145.
- Urfus T. (2006): Zdroje variability u *Hieracium pilosella* L. - Ms. (Dipl. práce, depon. in: Knihovna katedry botaniky PŘF UK, Praha).
- Vladimirov V. & Greilhuber J. (2003): DNA C-values of selected *Hieracium* species from Bulgaria. – Pp. (19-20) in: Anon. (Institute of Botany, Academy of Sciences of Czech Republic), Hieracium workshop Křivoklát, Czech Republic, 28.5.-1.6.2003. – Křivoklát.
- Zahn K. H. (1921): *Hieracium* L. - In: Engler H. G. A. (ed.) Das Pflanzenreich: Regni vegetabilis conspectus. IV, 280, Compositae - Hieracium. Band 76, 1-32, Wilhelm Engelmann, Leipzig.
- Zahn K. H. (1923): *Hieracium* L. subgen. *Pilosella* - In: Engler H. G. A. (ed.) Das Pflanzenreich: Regni vegetabilis conspectus. IV, 280, Compositae - Hieracium. Band 82, 1148-1195, Wilhelm Engelmann, Leipzig.
- Zahn K. H. (1930): *Hieracium* L. - In: Ascherson P. & Graebner. (eds.), Synopsis der Mitteleuropäischen Flora 12 (1), 1-492, Bornträger, Leipzig.

## **Curriculum Vitae**

Mgr. Tomáš Urfus (\*8.8.1981)

### **Affiliation and education**

since 2006: Institute of Botany, Academy of Sciences of the Czech Republic, Průhonice (part-time job),  
Department of Genetic Ecology

since 2005: Department of Botany, Faculty of Science, Charles University in Prague (part-time job), Laboratory  
of Flow and Image Cytometry

since 2006: PhD studies, Department of Botany, Charles University in Prague

since 2006: PhD studies, Institute of Botany, Academy of Sciences of the Czech Republic, Průhonice

2000-2006: MSc. Degree, Department of Botany, Charles University in Prague; Thesis: Sources of variation of  
*Hieracium pilosella* L. [in Czech]

### **Current research**

- flow cytometry

- biosystematics of polyploid and agamic groups (e.g. genus *Pilosella*, *Sorbus*)

- genome size microevolutionary aspects (e.g. genus *Picris*)

- hybridisation in natural environments (e.g. genus *Diphasiastrum*)

### **Grant projects**

project leader of 2 grant project, member of research team in 4 current and 5 finished grant projects

2009-2011: Hybridization and microevolutionary relationships among Central European *Diphasiastrum* species  
(GAUK 90809/2009, project leader).

2008-2010: A molecular biosystematic study of the section *Pilosellina* and evolutionary aspects of its glacial  
origin (GAUK 98708/2008, project leader).

### **Scientific societies membership**

since 2005 Czech Botanical Society

### **Teaching experience:**

since 2009: Methods in plant taxonomy I – Karyology, flow cytometry and palynology

since 2008: Critical groups of vascular plants

since 2007: Current research in botany and ecology

since 2007: Field excursion in botany for advanced

since 2006: Basic courses of botany for Environmental Protection (practices)

### Publications (h-index = 5):

- Hörandl E., Dobes Ch., Suda J, Vít P., **Urfus T.**, Temsch E., Cosendai A., Wagner J. et Ladinig U. (2011): Apomixis is not prevalent in subnival to nival plants of the European Alps. - *Annals of Botany* 108(2): 381-390
- Loureiro J., Trávníček P., Rauchová J., **Urfus T.**, Vít P., Štech M., Castro S. et Suda J. (2010): The use of flow cytometry in the biosystematics, ecology and population biology of homoploid plants. *Preslia* 82 (1): 3-21.
- Ekrat L., Trávníček P., Jarolímová V., Vít P. et **Urfus T.**(2009): Genome size and morphology of the *Dryopteris affinis* group in Central Europe *Preslia* 81 (3): 261-280.
- Suda J., Loureiro J., Trávníček P., Rauchová J., Vít P., **Urfus T.**, Kubešová M., Dreyer L.L., Oberlander K.C., Wester P. et Roets F. (2009): Flow cytometry and its applications in plant population biology, ecology and biosystematics: New prospects for the Cape flora *South African Journal of Botany* 75 (2): 389-389.
- Slovák M., **Urfus T.**, Vít P. et Marhold K. (2009): The Balkan endemic *Picris hispidissima* (Compositae): morphology, nuclear DNA content and relationship to the polymorphic *P. hieracioides*. - *Plant Systematics and Evolution* 278: 187-201.
- Suda J., Kolář F, Štech M., Trávníček P., Rauchová J., **Urfus T.**, Vít P. et Kubešová M. (2009): Towards resolving the *Knautia arvensis* agg. (Dipsacaceae) puzzle: primary and secondary contact zones and ploidy segregation at landscape and microgeographic scales. - *Annals of Botany* 103: 963-974.
- Slovák M., Vít P., **Urfus T.** et Suda J. (2009): Complex pattern of genome size variation in a polymorphic member of the Asteraceae. - *Journal of Biogeography* 39: 372-384.
- Mráz, P., Šingliarová, B., **Urfus T.** et Krahulec F. (2008): Cytogeography of *Pilosella officinarum* (Compositae): Altitudinal and longitudinal differences in ploidy level distribution in the Czech republic and Slovakia and the general pattern in Europe. - *Annals of Botany* 101: 59-71.

### Popularize publications

- Urfus T.** et Vít P. (2010): Plavuníky – tajemní návštěvníci z pravěku. - *Živa*, 2009, sv. 6, s. 251–253.
- Dvořáková K. et **Urfus T.** (2010): Plavuníky – "pravěká" novinka Českého lesa - *Český les* 7-8/2010: 31-33.