

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
Přírodovědecká fakulta
Katedra botaniky

Studijní program: Biologie
Studijní obor: Biologie



HANA JIRSÁKOVÁ

**ROLE TRIPLOIDNÍCH HYBRIDŮ V CYTOTYPOVĚ SMÍŠENÝCH POPULACÍCH HEŘMÁNKOVCE
NEVONNÉHO (*TRIPLEUROSPERMUM INODORUM*)**

THE ROLE OF TRIPLOID HYBRIDS IN MIXED-PLOIDY POPULATIONS OF *TRIPLEUROSPERMUM*
INODORUM (ASTERACEAE)

Bakalářská práce

Vedoucí závěrečné práce/Školitel: MGR. MARTIN HANZL

Praha, 2013

Prohlášení:

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

V Praze, 17.5.2013

Podpis:

Poděkování:

Ráda bych touto cestou poděkovala svému školiteli Martinu Hanzlovi za jeho pomoc, cenné rady a trpělivost při vedení mé bakalářské práce.

V Praze, 17.5.2013

Podpis:

OBSAH

ABSTRAKT	1
ABSTRACT	2
1. ÚVOD	3
2. VIABILITA A FERTILITA TRIPLOIDŮ	5
2.1. STRUKTURA GENOMU A ANEUPLOIDIE	5
2.2. TRIPLOIDNÍ BLOK A ENDOSPERM BALANCE NUMBER (EBN)	5
2.3. POROVNÁNÍ ZDATNOSTI TRIPLOIDŮ A JEJICH RODIČŮ	7
3. ROLE TRIPLOIDŮ V CYTOTYPOVĚ SMÍŠENÝCH POPULACÍCH	10
3.1. TRIPLOIDNÍ MOST	10
3.2. NEVÝHODA MALÝCH ČÍSEL	12
3.3. GENOVÝ TOK	15
4. MODELOVÁ ROSTLINA: <i>TRIPLEUROSPERMUM INODORUM</i>	18
4.1. BIOLOGICKÉ VLASTNOSTI A EKOLOGIE	18
4.2. CYTOTYPOVÁ DIVERZITA A JEJÍ PŮVOD	20
4.3. DISTRIBUCE CYTOTYPŮ <i>T. INODORUM</i>	23
5. OTÁZKY KLADENÉ DO NAVAZUJÍCÍ MAGISTERSKÉ PRÁCE	26
6. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	27

ABSTRAKT

Zdvojení jaderného genomu je považováno za jeden z hlavních způsobů, jak mohou u rostlin vznikat v sympatrii nové druhy. Polyploidizace je také zpravidla významným zdrojem nových evolučně výhodných vlastností. Nicméně není tomu tak ale vždy, polyploidie s lichým počtem chromozómových sad často trpí omezenou životaschopností a fertilitou. V cytotypově smíšených populacích diploidů s tetraploidy, nebo i v diploidních populacích za přispění vysoké tvorby neredukovaných gamet mohou vznikat triploidní hybridy. V některých případech je jejich vitalita dokonce srovnatelná s rodičovskými cytotypy, ale produkují jen malé množství potomstva a to navíc o různých ploidních úrovních. Ačkoliv se dříve myslelo, že žádný evoluční význam nemají, dnes již na základě mnoha experimentálních prací s jistotou víme, že se mohou značně podílet na vzniku nových polyploidů. Pokud se triploidie vyskytují v populaci s dostatečnou frekvencí, mohou sehrát roli i při stabilizaci společné koexistence diploidního a tetraploidního cytotypu. Triploidní hybridy mohou i se svou omezenou fertilitou přispívat k obousměrnému toku genů mezi rodiči, a překonat tak bariéru jejich odlišných ploidních úrovní.

Vhodným modelem pro studium úlohy, jakou mohou hrát triploidní hybridy v přirozených smíšených populacích diploidů s tetraploidy, je *Tripleurospermum inodorum* (*Asteraceae*). Jedná se o velmi odolnou jednoletou bylinu hojně se vyskytující na příhodných stanovištích po celé severní polokouli. Ve značné části areálu druhu se mohou společně vyskytovat dvě chromozómové rasy, diploidní a tetraploidní.

Klíčová slova: triploid, triploidní most, triploidní blok, genový tok, nevýhoda malých čísel, *Tripleurospermum inodorum*, heřmánkovec nevonný

ABSTRACT

The doubling of the nuclear genome is considered to be one of the main ways in which new sympatric plant species can arise. Polyploidy is also generally a significant source of new evolutionarily advantageous abilities. However, it is not always that way, polyploids with an odd number of chromosome sets have often limited viability and fertility. In cytotype mixed populations of diploids and tetraploids, or in diploid populations alone with the contribution of high rate of unreduced gametes formation may produce triploid hybrids. In some cases, their vitality is even comparable with parental cytotypes but they produce only a small number of offsprings and in addition of different ploidy levels. Although it has been recently thought that they have no evolutionary significance, now based on many experimental works it is known with confidence that they can significantly participate in the new polyploid formation. If triploids occur in the population with sufficient frequency, they may play a role in stabilizing of the common coexistence of diploid and tetraploid cytotypes. Triploid hybrids may despite their limited fertility contribute to the bi-directional gene flow between their parents, and thus overcome the barrier of their different ploidy levels.

A suitable model to study the role which can the triploid hybrids play in natural mixed populations of diploids and tetraploids is *Tripleurospermum inodorum* (*Asteraceae*). It is a very resistant annual herb, abundant in suitable habitats throughout the northern hemisphere. In significant part of the species area, there may occur together two chromosome strains, diploid and tetraploid.

Key word: triploid, triploid bridge, triploid block, gene flow, minority cytotype disadvantage, *Tripleurospermum inodorum*, scentless mayweed

1. ÚVOD

Polyploidie, vlastnictví alespoň tří kompletních sad chromozomů, byla rozhodujícím faktorem v evoluci rostlin (Levin 2002) a je široce uznávaná jako hlavní mechanismus adaptace a sympatrické speciace u rostlin (Otto, Whitton 2000). Názory na význam polyploidie v evoluci kvetoucích rostlin se v průběhu poloviny minulého století měnily (Levin 2002). Tímto tématem se zabývala celá řada autorů, například Masterson (1994), který na základě odhadu velikosti genomu fosilních svěřacích buněk průduchů již zaniklých krytosemenných dřevin došel k názoru, že se polyploidie vyskytla u přibližně 70 % krytosemenných rostlin. Tyto představy byly nedávno přehodnoceny s rozvojem moderních molekulárně biologických metod. V současnosti tak převládá názor, že všechny krytosemenné rostliny prošly v minulosti jednou až několika polyploidizačními událostmi (Soltis et al. 2009). U mnoha rostlinných skupin bylo také pozorováno, že k přechodu od diploidie k polyploidii došlo mnohokrát nezávisle na sobě (Soltis, Soltis 1999).

Celkové množství DNA v jádře určuje velikost buněk a tím potažmo i velikosti rostlinných orgánů, především listů, stonků a květních částí. Má tak celkově vliv na anatomii, morfologii, růst a vývoj rostliny (Ramsey, Schemske 2002). Výzkumy v zemědělských i přirozených systémech navíc dokazují, že genová duplikace často vede ke vzniku nových fyziologických a ontogenetických vlastností. Některé z těchto nových atributů mohou být adaptivní a mohou umožňovat rostlinám obsazovat nové ekologické niky (Levin 1983, 2002; Ramsey, Schemske 1998).

Často jsou rozlišovány dva hlavní typy polyploidů. Polyploidie vznikající v rámci jednoho druhu jsou označovány za autopolyploidie. Obvykle nesou několik kopií téhož genomu, takže v profázi meiotického dělení dochází běžně k tvorbě tetraivalentů (asociací všech homologních chromozomů). Tetraploidní buňka může vzniknout narušením normálního průběhu mitózy (např. v důsledku teplotního šoku) a následně může na jinak diploidní rostlině vyrůst např. polyploidní větev. Tomuto tzv. „somatickému zdvojení chromozomů“ však nebývá přisuzována významnější role při vzniku nových polyploidů (Levin 2002). Patrně nejčastější možností vzniku autopolyploidů je splynutí dvou neredukovaných gamet (se somatickým počtem chromozomů), ale protože je vznik neredukovaných gamet považován za vzácnou událost, pravděpodobnost jejich vzájemného splynutí je poměrně nízká. Naděje na vznik se dá zvýšit, pokud fúzí redukovaných a neredukovaných gamet vznikají triploidní jedinci, kteří jsou alespoň částečně plodní (viz kap. 3.2.). V případě, že je duplikace spojena s hybridizací dvou různých (i když zpravidla příbuzných) druhů, nazývá se

alopolyploidie. Alopolyploidi na rozdíl od autopolyploidů netvoří tetravalenty, ale dvě různé nezávislé sady bivalentů (Ohno 1970; Briggs, Walters 2001).

Během posledního desetiletí se ukazuje, především díky aplikaci nových metod (hlavně průtokové cytometrie), že jsou cytotypově smíšené populace podstatně častější, než se dříve myslelo (Šafářová, Duchoslav 2010; Trávníček et al. 2011). Smíšené populace v kontaktních zónách cytotypů umožňují studium nejen reprodukčních interakcí mezi blízkými příbuznými druhy, ale i vlivu genové duplikace na vznik nových druhů (Petit et al. 1999).

Byla identifikována celá řada faktorů a mechanismů, které mohou působit na koexistenci cytotypů ve smíšených populacích (Levin 2002), ale přesto se doposud neví, zda mohou být takové populace stabilní v čase. Je možné uvážit dva alternativní scénáře: buď mohou být smíšené populace pouze dočasnou epizodou v evoluci linií lišících se ploidní úrovní (tzv. *driving selection*), nebo může být umožněna dlouhodobě stabilní koexistence různých cytotypů (tzv. *balanced selection*; Weiss et al. 2002)

Ve smíšených populacích diploidů a tetraploidů dochází ke vzniku triploidních hybridů. Dříve se vědci domnívali, že se jedná o slepé vývojové větve evoluce, ale dnešní výzkumy naznačují, že by se mohli účastnit celé řady procesů a tím přispívat ke stabilitě koexistence rodičovských linií ve smíšených populacích a ovlivňovat jejich následný evoluční potenciál (Husband 2004). Tento skrytý mikroevoluční význam triploidů v cytotypově smíšených populacích je předmětem předkládané literární rešerše.

2. VIABILITA A FERTILITA TRIPLOIDŮ

Polyploidie se od svých diploidních předků mohou lišit v mnoha vlastnostech. To je umožněno různými změnami, ke kterým pravděpodobně dochází při zmnožování genetické informace. Takové změny mohou být u některých druhů výhodné a mohou přispět například k lepší schopnosti obsazovat nové niky, vhodnějším adaptacím k podmínkám prostředí, nebo k optimalizaci životního cyklu. Naopak může docházet i ke změnám fatálním, jako je neplodnost nebo neživotoschopnost vzniklých jedinců.

2.1. STRUKTURA GENOMU A ANEUPLOIDIE

V rostlinných populacích je možné rozlišit dva typy triploidních jedinců. První typ triploidů vzniká v populaci fúzí redukované ($n = x$) a neredukované ($n = 2x$) gamety diploidních rostlin. Je pravděpodobné, že díky vysoké míře podobnosti maternálního i paternálního genomu, pocházejících z téže populace, se budou všechny homologické chromozómy během profáze meiotického dělení spolu párovat.

Druhým typem triploidů jsou tací, kteří vznikají křížením mezi diploidními a tetraploidními rostlinami, splynutím jejich redukovaných gamet. V případě, že jsou tetraploidními rodiči nedávno vzniklí autotetraploidi, mohou se jejich potomci velmi podobat triploidům prvního typu. Naopak pokud rodiče pochází z relativně izolovaných a nepříbuzných linií, jejich genomy se budou lišit.

Během profáze prvního meiotického dělení se spolu párují homologní chromozómy ze všech sad a dochází mezi nimi k vzájemným translokacím (tzv. *crossing over*; Briggs, Walters 2001). U triploidních hybridů se v závislosti na míře podobnosti genomů rodičů (diploida a tetraploida) mohou shlukovat homologické chromozómy ze všech tří sad (tzv. trivalenty), nebo se párují jen dva chromozómy (tzv. bivalenty), např. ty pocházející ze stejného parentálního genomu, popřípadě se chromozomy vyskytují soliterně (tzv. univalenty). Homologické chromozomy se v dalším kroku, v anafázi, rozcházejí k opačným pólům dělicího vřeténka a jsou rozděleny do dvou dceřiných buněk. Rozdělení lichého počtu chromozomových sad však nikdy nemůže proběhnout rovnoměrně, a tak se dceřiné buňky liší množstvím genetického materiálu i chromozomovými kombinacemi.

2.2. TRIPLOIDNÍ BLOK A ENDOSPERM BALANCE NUMBER (EBN)

Křížení mezi diploidními a tetraploidními jedinci vedou často k aborci semen anebo ke vzniku triploidních potomků vykazujících neživotoschopnost, případně redukovanou

fertilitu. Tato skutečnost je označována jako „triploidní blok“ (angl. triploid block; Ramsey, Schemske 1998). Síla triploidního bloku je jedním z hlavních faktorů předpovídajících možný evoluční význam triploidů u jednotlivých rostlinných skupin (Husband 2004).

Mnoho autorů se pokoušelo vysvětlit, jaká je podstata triploidního bloku. Postupně tak bylo publikováno několik teorií zabývajících se jeho mechanismem. První z nich, „model nevyváženého endospermu“ (angl. endosperm imbalance model), vychází z představy, že triploidní blok nastává porušením poměru ploidií pletiv v semeni. Podle Müntzing (1930) by se jednalo o vztah mezi maternálními pletivy, endospermem a embryem, Watkins (1932) se domníval, že klíčovou roli hrají endosperm a embryo. V současnosti je nejčastěji prosazován „model genomového imprintingu“ (angl. genomic imprinting model), který se zdá být přesnější. Na rozdíl od předchozího modelu tvrdí, že životaschopnost potomků závisí už na poměru, v jakém se maternální a paternální genom podílí na vzniku endospermu semene (Lin 1984; Burton, Husband 2000).

Genomový *imprinting* je jev, který je známý i například u savců. Projevuje se tím, že některé geny plní ve vývoji embrya nestejné funkce v závislosti na tom, jestli pochází z pohlavních buněk otce či matky. Charakter potomstva tedy záleží na tom, čí geny se exprimují. Genomový *imprinting* je zajišťován metylací příslušné DNA při gametogenezi nebo v raném embryonálním vývoji (Haig, Westoby 1991; Flegr 2009). U většiny krytosemenných rostlin je poměr rodičovských genomů ve vyvíjejícím se endospermu 2 : 1 (během dvojitého oplození dochází ke vzniku endospermu splynutím diploidního jádra centrální buňky zárodečného vaku a jedné z haploidních spermatid) a jakákoliv odchylka od tohoto poměru může mít vliv na vývoj embrya a na následná vývojová stádia v životním cyklu. Zdá se, že pokud je tedy poměr odlišný, vývoj endospermu závisí na parentální identitě převažujícího genomu. Vyšší zastoupení mateřského genomu vede to k potlačení vývinu endospermu, naopak převládá-li paternální genom, vede to k nadbytečnému rozvoji endospermu (Köhler et al. 2010). U většiny krytosemenných může směr křížení mez di- a tetraploidy vést k paralelním změnám v ploidii endospermu a poměru maternálního a paternálního genomu. A proto, pokud jsou pozorovány rozdíly mezi reciprokými kříženími ($2x \times 4x$ a $4x \times 2x$), není možné odlišit, zda jsou způsobené ploidií endospermu (tetraploidní nebo pentaploidní) nebo rovnováhou mezi maternálním a paternálním genomem v endospermu (Burton, Husband 2000). Genomový *imprinting* umožňuje vysvětlit neúspěšná křížení jak mezi diploidy a autotetraploidy, tak i mezi příbuznými druhy lišícími se ploidií úrovní.

Z modelu genomového *imprintingu* je odvozen koncept „*endosperm balance number*“ (EBN; Johnston et al. 1980). Díky němu je možné, na základě pravidelností pozorovaných u mnoha křížení mezi různými druhy, vysvětlit, a dokonce i předpovídat výsledky křížení v rámci jedné ploidie nebo mezi ploidiemi. Podle tohoto konceptu vývoj endospermu závisí na rovnováze genetických faktorů, které jsou ve vaječné a spermatické buňce. Empirické odhady EBN jsou pouze orientační a nelze se na ně naprosto spoléhat.

Každý druh má své EBN (nebo efektivní ploidní úroveň), číselné vyjádření kompatibilitnosti založené na chování daného druhu při křížení s jinými druhy s již známým EBN (Levin 2002). Hodnoty EBN nemusí být nutně shodné s ploidní úrovní. Například diploidní druhy mohou mít hodnoty 1 nebo 2. Pokud není známo ani jedno z čísel, diploidnímu druhu je přidělena hodnota 2 a stává se standardem pro skupinu druhů. Aby bylo křížení úspěšné, musí mít jedinci stejné EBN. Tím je zajištěno, že bude v endospermu správný poměr maternálního a paternálního genomu (2:1). Pokud se počet chromozomů u taxonu zdvojnásobí, bude tomu tak i u EBN. Podobně neredukovaná gameta má EBN, které je oproti redukované gametě dvojnásobné. To je důvod, proč při spojení $2n$ gamety s n gametou selhává tvorba triploidních potomků a dochází k aborci semen. Nepoměr EBN tak funguje i jako vnitřní post-zygotická bariéra (Burton, Husband 2000). Ke kompletnímu triploidnímu bloku dochází jen u některých kombinací $2x \times 4x$ křížení (Ramsey, Schemske 1998).

Na počátku této teorie byly studie prováděny především na rodu *Solanum*, jako na jedné z důležitých kulturních plodin. Dnes už jsou však stanovena EBN pro mnoho dalších rodů, jako je například *Avena*, *Trifolium*, *Datura*, *Impatiens* a *Lycopersicon*. Druhy se shodnou ploidní úrovní mohou mít odlišná EBN. Při mezidruhovém křížení závisí úspěšnost vývoje endospermu na rozdílnosti ploidní úrovně (a údajné EBN hodnotě) mezi druhy. Čím větší jsou rozdíly, tím dříve dojde k selhání vývoje semen. Při reciprokých kříženích mezi různou ploidní úrovní typicky semena dosáhnou pozdějšího vývojového stádia, pokud rodič, od kterého vajíčko pocházelo, bylo nižší ploidní úrovně (Levin 2002).

2.3. POROVNÁNÍ ZDATNOSTI TRIPLOIDŮ A JEJICH RODIČŮ

Osud hybridů v přirozených hybridních zónách, a tím i jejich evoluční potenciál, je závislý na mnoha faktorech, z nichž tím asi nejdůležitějším je *fitness* hybridů ve srovnání s jejich rodičovskými druhy. Vyšší *fitness* hybridů podporuje jejich možný mikroevoluční význam (Ståhlberg 2009), pokud jsou naopak hybridy méně zdatní než rodičovský druh, role hybridizace v adaptivní evoluci může být minimální.

Mnohá pozorování v přirozených cytotypově smíšených populacích diploidů a tetraploidů ukazují, že triploidní jedinci mohou vznikat častěji, než se předpokládalo (Husband 2004). Ve velké míře to však závisí na genetické výbavě hybridů a křížitelnosti jejich rodičů. Například Ramsey a Schemske (2002) zaznamenali životaschopná triploidní semena v 11 z 36 vzájemných křížení di- a tetraploidů, z toho deset při křížení $4x \times 2x$, kdy jako mateřská rostlina figuroval tetraploid a diploid byl donorem pylu.

Triploidní hybridi se od svých diploidních a tetraploidních předků, podobně jako jiní polyploidi, mohou lišit v mnoha vlastnostech, například ve viabilitě, klíčivosti, tvorbě biomasy, morfologii či ekologii (Levin 1983). Burton a Husband (2000) provedli srovnání těchto charakteristik u tří cytotypů druhu *Chamerion angustifolium*. V klíčivosti a životaschopnosti měli triploidi oproti diploidům a tetraploidům velmi nízké hodnoty, životními fázemi procházeli přibližně ve stejnou dobu jako jejich rodiče a tvořili přibližně stejné množství nadzemní biomasy jako tetraploidní rostliny (oba měli vyšší množství než diploidi). Jiná pozorování v přirozených smíšených populacích di- a tetraploidů u zástupců rodu *Dactylorhiza* (Aagaard et al. 2005; Ståhlberg 2009) značí, že i když triploidní hybridi rostou ve stejné vzdálenosti od obou rodičovských cytotypů, jsou v některých případech více podobní tetraploidním rodičům, nejen v celkové morfologii, ale i například ve stanovištních nárocích. Tato podobnost však nemusí být překvapivá, protože tetraploidní rodič předává triploidním potomkům dvojnásobné množství genetické informace než rodič diploidní.

Nezbytnou složkou biologické zdatnosti každého organismu je především fertilita, mezi jejíž hlavní součásti patří životaschopnost pylu a produkce a viabilita semen. U některých rostlin jsou triploidní hybridi považováni za sterilní, například u *Arrhenatherum elatius* (Petit et al. 1997) nebo u rodu *Empetrum* (Suda et al. 2004). Protože však byly obě studie založeny jen na pozorování v terénu, nemusel být sběr dat dostatečný k odhalení extrémně nízkých hodnot triploidní fertility. Abychom získali spolehlivější výsledky, je potřeba provést podrobné reciproké opylovací experimenty. Například u rodu *Centaurea* (Koutecký et al. 2011) opylení odhalila opravdu nízký potenciál frekvence vzniku triploidů. Také byla pozorována velmi nízká hladina plodnosti, a triploidní jedinci byli nacházeni jen vzácně. Velmi nízká fertilita, a navíc i aborty semen způsobené chybným vývojem endospermu, byla zaznamenána u druhu *Ranunculus adoneus* (Baack 2005). Ramsey a Schemske (1998) vypracovali podrobnou studii, ve které shrnuli dostupné literární údaje a analyzovali skutečné množství veškerého potomstva triploidních rostlin v těchto typech křížení: $2x \times 3x$, $3x \times 2x$, $3x \times 3x$, samoopylení $3x$, $3x \times 4x$ a $4x \times 3x$, tedy taková, kdy je

alespoň jeden z rodičů triploidní ploidní úrovně. Tetraploidní potomstvo bylo pozorováno v prvních čtyřech typech křížení s průměrným 6,3% zastoupením. Průzkum odhalil, že bylo o něco častější v některých $3x \times 4x$ (31,6 %) a $4x \times 3x$ (61,1 %) kříženích. Průměrná frekvence triploidů přes všechny typy křížení byla 3,7 %. V kříženích triploidů (tj. $3x \times 3x$ a samoopylení $3x$), ve kterých by bylo možné očekávat většinovou tvorbu triploidního potomstva, byla ale průměrná frekvence triploidů méně než 10 %. U přibližně poloviny (50,8 %) veškerého potomstva (převážně triploidního) byla identifikována aneuploidie. Velmi podobná práce na *Hieracium echinoides* (Peckert, Chrtěk 2006) ukázala, že se opět v průměru tvořilo více tetraploidního potomstva, nejvíce v křížení $3x \times 2x$ a $3x \times 3x$. Nejvíce triploidního potomstva vzniklo při křížení $2x \times 4x$ (96 %) a $4x \times 3x$ (80 %). Pozoruhodné bylo, že z křížení dvou triploidů nevznikl žádný jedinec triploidní úrovně a že karyologické analýzy neodhalily aneuploidii ani v jednom z typů křížení. Obě práce ukázaly, že se mohou triploidi vyskytovat ve vyšší frekvenci a s vyšší fertilitou, a mohou tak podporovat opakovanou tvorbu polyploidů. Kromě diploidních, triploidních a tetraploidních jedinců se v obou studiích navíc vyskytli i jedinci s pentaploidní a hexaploidní úrovní, pentaploidi především v $3x \times 4x$ a hexaploidi v $3x \times 3x$ křížení.

Z výsledků experimentálních křížení je patrné, že se triploidi v populacích sami sexuálně neudrží (netvoří dostatečné množství triploidního potomstva). Primárním prostředkem tvorby triploidů je tak jejich vznik *de novo* pomocí fúze neredukovaných a redukovaných gamet v diploidních populacích, či křížení mezi di- a tetraploidy. Početní nevýhodu mohou překonávat i třeba prostřednictvím apomixie, která umožňuje tvorbu triploidních semen bez jakýchkoliv reprodukčních obtíží. Apomixie je známá například u rodu *Taraxacum* (Meirmans et al. 2003) nebo u *Arnica cordifolia* (Kao, Parker 2010).

3. ROLE TRIPLOIDŮ V CYTOTYPOVĚ SMÍŠENÝCH POPULACÍCH

Triploidní hybridy jsou ve starších pracích považováni za slepé vývojové větve, které po svém vzniku nemohou nijak ovlivnit evoluci rodičovských linií a záhy z populace mizí (Levin 2002). Během posledních desetiletí se však prokazuje, že triploidi mohou hrát důležitou roli hned v několika mikroevolučních procesech (Husband 2004).

3.1. TRIPLOIDNÍ MOST

Vznik neopolyploidních rostlin v diploidní populaci svých rodičů je závislý především na tvorbě neredukovaných gamet. Neredukované gamety vznikají vlivem chyb v průběhu meiotického dělení souvisejících například s omezenou funkčností dělicího vřeténka. Průměrná frekvence, s jakou vznikají neredukované gamety v přirozených populacích krytosemenných rostlin, je odhadována na 0,56 %. Zdá se, že poměrné zastoupení neredukovaných gamet mezi pylovými zrny a vaječnými buňkami se obecně příliš neliší (Ramsey, Schemske 1998). Frekvence neredukovaných gamet se však často liší mezi druhy, různými populacemi téhož druhu a dokonce i mezi jednotlivými jedinci v populaci. Schopnost produkovat vyšší množství neredukovaných gamet je také zpravidla dědičná (Levin 2002). Experimentálně bylo rovněž prokázáno, že rostliny mohou dočasně zvýšit množství neredukovaných gamet, které tvoří, ve stresových podmínkách, jako je například působení nízkých teplot, rychlé střídání teplot, omezené množství vody, nízký obsah živin v substrátu, nebo napadení rostliny patogenem (Ramsey, Schemske 1998).

S ohledem na nízkou frekvenci neredukovaných gamet se zdá jen velmi nepravděpodobné, aby v diploidní rodičovské populaci vznikl tetraploid přímým splynutím neredukovaného pylového zrna s neredukovanou vaječnou buňkou. Neredukovaná gameta však může splynutím s běžnou redukovanou pohlavní buňkou vést ke vzniku triploidního jedince. Triploidní hybridy mohou následně prostřednictvím zpětného křížení s diploidními rodiči, vzájemnými přenosy pylu mezi sebou nebo samoopylením umožnit vznik tetraploidního potomstva. Tento dvoustupňový proces zahrnující triploidní mezičlánek bývá nazýván „triploidní most“ (angl. triploid bridge; Husband 2004), nebo méně často unilaterální polyploidizace (Levin 2002). Triploidní most se může účastnit vzniku autopolyploidů i alopolyploidů. Tím, že je zapotřebí jen jedné neredukované gamety, by mohl triploidní most velmi efektivně zvyšovat pravděpodobnost vzniku tetraploidů.

Jakousi Achillovou patou triploidního mostu je však často omezená životaschopnost a fertilita u triploidních rostlin (Levin 2002). U mnoha druhů dokonce triploidní semena

abortují ještě během svého vývoje (viz kap. 2.2.). V některých případech jsou však triploidní jedinci vitální a alespoň částečně fertillní (viz kap. 2.). Triploidi kvůli lichému počtu chromozómových sad produkují během meiotického dělení gamety se značně proměnlivým počtem chromozómů. Převážná většina gamet je aneuploidních, tvoří se ale i menší množství gamet euploidních (tj. s kompletními sadami chromozómů; Ramsey, Schemske 1998). Triploidní jedinci mohou produkovat tři různé typy euploidních gamet: haploidní ($n = x$), diploidní ($n = 2x$) a neredukované ($n = 3x$), jak bylo experimentálně ověřeno například u *Chamerion angustifolium* (Burton, Husband 2001) nebo *Hieracium echinoides* (Peckert, Chrtek 2006). Vznik tetraploida v diploidní populaci s několika triploidními rostlinami je nejpravděpodobnější splynutím neredukované ($n = 3x$) gamety triploida s redukovanou ($n = x$) gametou diploida. Tetraploidní semena však mohou vznikat i vzájemným splyváním diploidních gamet pocházejících z triploidů nebo diploidů, případně fúzí haploidních a neredukovaných gamet pocházejících z triploidních rodičů. Ramsey a Schemske (1998) shrnuli výsledky opylovacích experimentů, ze kterých bylo patrné, že křížení triploidů mezi sebou a triploidů s diploidy se liší mírou produkce tetraploidního potomstva. V mnoha případech byl značný rozdíl i mezi reciprokými kříženími rodičů daných ploidních úrovní. Tetraploidi nejčastěji vznikali samosprášením triploidů (průměrně 13,9 % potomstva) a opylením triploidní rostliny pylem z diploida (průměrně 9,8 %). Průměrný výskyt tetraploidních semen ze všech křížení, kterých se účastnily triploidní rostliny, stanovili autoři na 6,3 %. Jedná se však o hodnoty stanovené experimentálními přenosy pyly mezi jedinci kultivovanými v experimentálních podmínkách, frekvence vzniku tetraploidů v přirozených rostlinných populacích by mohla být odlišná. Detailní pozorování výskytu tetraploidních semen na volně opylených diploidních a triploidních rostlinách v přirozených cytotypově smíšených populacích však doposud nejsou k dispozici.

Tetraploidní jedinci nově vzniklí v populaci mohou křížením s triploidy dále zvyšovat frekvenci tvorby tetraploidů. V experimentálních kříženích mezi triploidy a tetraploidy byla pozorována značná produkce tetraploidních semen, v průměru obou směrů křížení se jednalo o 40 % potomstva (Ramsey, Schemske 1998).

Ramsey a Schemske (1998) vytvořili model vzniku auto- a alopolyploidů, ve kterém stanovili hodnoty všech potřebných parametrů na základě rešerše literatury týkající se pokusných křížení mezi rostlinami lišícími se ploidní úrovní. Triploidní most se podílel na celkové tvorbě autotetraploidů 69,7 % při zpětném křížení a 34,9 % při cizosprášení.

Naproti tomu u alotetraploidů se triploidní most podílel na celkové frekvenci tvorby jen 1 % při samoopylení a 29,5 % při zpětném křížení.

S ohledem na spektrum euploidních gamet produkovaných triploidními rostlinami (tj. $n = x, 2x, 3x$) by ze vzájemných křížení mezi nimi mohli vznikat kromě tetraploidů i diploidi a dva další polyploidní cytotypy: pentaploidi a hexaploidi. Vznik rostlin pentaploidního a hexaploidního cytotypu mechanismem triploidního mostu byl zdokumentován například u *Hieracium echinoides* (Peckert, Chrtěk 2006), kdy hexaploidní jedinci, kteří vznikají spojením dvou neredukovaných ($n = 3x$) gamet triploidů, tvořili v průměru 33 % semen z křížení mezi triploidy a 8 % semen vznikajících samoopylením triploida. Hexaploidní potomstvo bylo zaznamenáno také při křížení druhů *Vaccinium corymbosum* × *V. elliotti* (samoopylením: 66,7 %; $3x \times 3x$: 50 %), *Nicotiana rustica* × *N. paniculata* ($3x \times 3x$: 81,1 %). A pentaploidní rostliny například ještě u těchto druhů: *Euphorbia pulcherrima* ($3x \times 4x$: 50 %), *Gladiolus* spp. ($3x \times 4x$: 33 %), *Dactylis glomerata* ($3x \times 2x$: 14,3 %), *Triticum durum* × *Aegilops longissima* ($3x \times 4x$: 16,9 %), *Tritium turgidum* × *monococcum* (samoopylení $3x$: 12,2 %), *Nicotiana rustica* × *N. paniculata* ($3x \times 4x$: 44,9 %), *Petunia* spp. ($3x \times 4x$: 7,1 %) (Ramsey, Schemske 1998).

3.2. NEVÝHODA MALÝCH ČÍSEL

Nové tetraploidní rostliny se v diploidních rodičovských populacích vyskytují obvykle s velmi nízkou pravděpodobností (Levin 2002). Lze tedy předpokládat, že bude počáteční množství tetraploidních jedinců jen zlomkem celkové velikosti populace. Další existence tetraploidů v cytotypově smíšené populaci závisí na jejich schopnosti přenést se do následujících generací a na dalším navyšování jejich četnosti. V rámci cytotypově smíšené populace dochází k přenosu pylu mezi diploidy a tetraploidy, který ale často vede k aborci semen nebo ke vzniku triploidních hybridů s omezenou životaschopností a fertilitou (Ramsey, Schemske 1998). Tetraploidní potomstvo tak vzniká pouze z křížení mezi tetraploidními rostlinami, což je ale vzhledem k nízkému počtu tetraploidů v populaci velmi nepravděpodobné. V každé generaci tedy bývá většina vaječných buněk tetraploidních rostlin oplozena pylem diploidních rostlin, což je neefektivní a počet tetraploidních semen je proto velmi limitovaný. Při následující obnově populace z těchto semen se může stát, že tetraploidní cytotyp z populace úplně vymizí.

Pravděpodobnost, s jakou bude cytotyp oplozen gametou odpovídající ploidní úrovni, je přímo závislá na jeho relativní četnosti v populaci. Převládající cytotyp nebude

na neefektivní přenosy pylu příliš doplácet, naopak cytotyp s nízkým početním zastoupením bude existenčně ohrožen. Jedná se tedy o frekvenčně závislou selekci. Tento proces, označovaný jako „nevýhoda malých čísel“ (angl. minority cytotype exclusion), je považován za jeden z hlavních mechanismů bránících uchycení nových polyploidních linií (Husband 2000). Platnost tohoto principu byla opakovaně experimentálně ověřena (Levin 2002). Kupříkladu v cytotypově smíšených populacích druhu *Chamerion angustifolium* klesal počet semen diploidních rostlin spolu s tím, jak se snižovalo poměrné zastoupení diploidů ve srovnání s tetraploidy (Husband 2000). Levin (1975) publikoval matematický model, ve kterém se pokusil zhodnotit působení nevýhody malých čísel v cytotypově smíšené populaci. Pokud se cytotypy lišily svým poměrným zastoupením v populaci, početnější z nich vždy po několika generacích v populaci zcela převládl. V případech, kdy byl počet jedinců obou cytotypů shodný, dospěla populace do nestabilní rovnováhy a jakékoliv následné vychýlení rovněž vedlo k vyloučení jednoho z cytotypů. Za takových podmínek je uchycení neotetraploidů v diploidních rodičovských populacích nemožné.

Levinův původní model však byl příliš jednoduchý a nezohledňoval další faktory a procesy, které mohou v přirozených populacích zvyšovat pravděpodobnost efektivního přenosu pylu. Nejsnazší cestou je autogamie, při které splývají gamety pocházející z téhož jedince. Schopnost samosprášení může umožnit vznik tetraploidního potomstva i v případě, kdy je v diploidní populaci jen jeden jediný tetraploidní jedinec. Začlenění autogamie do výše zmíněného modelu značně prodloužilo dobu setrvání obou cytotypů. Při původní počáteční frekvenci výskytu cytotypů prodloužilo 40 % autogamické reprodukce dobu jejich koexistence ze čtyř na deset generací (Levin 1975). Tento způsob rozmnožování má však i určitá omezení a po několika generacích opakovaného samosprášení se může projevit snížení životaschopnosti nebo plodnosti potomstva (tzv. inbrední deprese; Briggs, Walters 2001).

Přenos pylu mezi různými jedinci v populaci nikdy není úplně náhodný, ale s větší pravděpodobností k němu dochází mezi bližšími jedinci. Pokud jsou tedy diploidní a tetraploidní rostliny alespoň částečně prostorově odděleny, míra efektivních opylení bude vyšší. Prostorová segregace cytotypů byla ve smíšených populacích velmi často pozorována, například u druhů *Ranunculus adoneus* (Baack 2004), *Allium oleraceum* (Šafářová, Duchoslav 2010) nebo *Hieracium echioides* (Trávníček et al. 2011). Reprodukční interakce mezi diploidy a tetraploidy mohou být také omezeny, pokud se cytotypy alespoň částečně liší dobou kvetení. Rozdíly ve fenologii cytotypů byly opakovaně pozorovány u některých druhů (Levin 1983). U *Heuchera grossulariifolia* a *Chamerion angustifolium* mají diploidní rostliny

oproti tetraploidním menší květy (Segraves, Thompson 1999; Kennedy et al. 2006). Pokud by byly tetraploidní květy shledány opylujícím hmyzem jako atraktivnější, mohly by být častěji navštěvovány a šance tetraploidních rostlin na opylení kompatibilní gametou by vzrostla. Studium tří cytotypově smíšených populací druhu *Chamerion angustifolium* odhalilo, že opylovači skutečně preferují květy tetraploidních rostlin a že v 83 % případů dosedne hmyz po návštěvě tetraploidního květu na květ rostliny stejné ploidní úrovně (Kennedy et al. 2006). U *Heuchera grossulariifolia* bylo pozorováno, že šest z patnácti běžných opylovačů navštěvovalo přednostně rostliny jednoho z cytotypů (Segraves, Thompson 1999).

Neredukované gamety diploidů mohou na tetraploidních rostlinách zprostředkovat efektivní oplození, a pokud je míra jejich produkce dostatečná, zvyšují i pravděpodobnost uchycení tetraploidů (Felber 1991). I v případě selhání pohlavní reprodukce však může početnost tetraploida v populaci narůstat pomocí vegetativního rozmnožování, tvorbou apomiktického potomstva nebo díky vyšší konkurenceschopnosti tetraploidů v porovnání s diploidy (Levin 2002). V malých přirozených populacích může navíc docházet k náhodným početním fluktuacím, což také mnohdy přispívá k obrácení nevýhody ve prospěch minoritního cytotypu (Fowler a Levin, 1984).

Triploidní hybridy hrají v procesu nevýhody malých čísel dvojí roli. Jejich vznik je důsledkem reprodukčních interakcí mezi diploidy a tetraploidy. Protože počet pohlavních buněk v květu není zpravidla neomezený, každá vzniklá neefektivní triploidní zygota sníží počet vaječných buněk rostliny mateřského cytotypu, které by ještě mohly být oplozeny kompatibilní gametou (Husband 2000). Svým vznikem tak triploidní hybridy vlastně „znehodnocují“ vajíčka mateřské rostliny. Na druhou stranu však triploidní rostliny některých populací bývají často životaschopné a alespoň částečně fertily (viz kap. 2), takže se mohou účastnit úspěšných reprodukčních interakcí spolu s diploidy a tetraploidy. Efekt nevýhody malých čísel mohou triploidní hybridy omezovat dvěma způsoby. Prvním je možnost zvýšit frekvenci vzniku tetraploidů v diploidní populaci prostřednictvím triploidního mostu (viz kap. 3.1.), což následně zvyšuje pravděpodobnost efektivních přenosů pylu mezi nimi. Druhý způsob vyplývá ze skutečnosti, že jsou triploidní rostliny alespoň v omezené míře schopné produkovat kompatibilní diploidní gamety ($n = 2x$, viz kap. 2.) a zpětným křížením triploidů se svými tetraploidními rodiči tak může zčásti vznikat tetraploidní potomstvo. Hojný výskyt triploidů v populaci může oběma způsoby značně zvyšovat šanci, že se nově vzniklí tetraploidy uchytí.

Význam triploidních hybridů v omezování frekvenčně závislé selekce proti početně méně zastoupenému tetraploidnímu cytotypu je možné zhodnotit prostřednictvím publikovaných modelů. Felber a Bever (1997) vytvořili model koexistence diploidního a tetraploidního cytotypu, do kterého začlenili vznik triploidních hybridů a jejich následné reprodukční interakce. Jejich studie poukázala na skutečnost, že zdatnost a plodnost triploidních hybridů může mít za určitých podmínek rozhodující vliv na stabilitu koexistence diploidů a tetraploidů v populaci. Určitým omezením tohoto modelu je předpoklad, že triploidi tvoří pouze haploidní a diploidní gamety. V experimentálních kříženích přitom triploidní rostliny produkovaly v nezanedbatelném množství i gamety triploidní (Ramsey, Schemske 1998), které splynutím s redukovanými gametami diploidů přispívají ke vzniku tetraploidního potomstva. Husband (2004) po několikaletém studiu smíšených populací druhu *Chamerion angustifolium* vytvořil model koexistence di-, tri- a tetraploidního cytotypu. Parametry modelu byly zvoleny na základě pozorování v terénu i experimentálních dat. I v případě velmi omezené *fitness* (10× nižší než u diploidů) mohou triploidi významně přispívat ke koexistenci rodičovských cytotypů, nebo dokonce umožnit převládnutí tetraploidů. Ukázalo se, že v tomto směru má největší efekt zvýšená míra neredukovaných gamet triploidů ($n = 3x$).

3.3. GENOVÝ TOK

Genový tok je velmi důležitým evolučním činitelem. Jeho nejdůležitějším parametrem je migrace, která určuje, jak jsou mezi sebou vzdálena místa, kde se určitý jedinec narodil a kde se narodí jeho potomci. Můžeme jej rozlišovat dle toho, v jaké životní fázi probíhá. Gametický genový tok je takový, v němž jsou migrujícími částicemi pyl nebo spermie, velkou měrou se podílí na polyploidizaci. Zygotický genový tok probíhá prostřednictvím semen nebo dospělých jedinců. (Hedrick 2005). U větrosprašných rostlin je v průměru genový tok intenzivnější než u rostlin opylovaných živočichy nebo u rostlin autogamních, ty mají nejnižší hodnotu genového toku (Govindaraju 1988). V závislosti na intenzitě svého působení, na struktuře populace příslušného druhu či v závislosti na vlastnostech migrantů může dokonce evoluci druhu urychlovat nebo ji naopak výrazně zpomalovat (Hedrick 2005; Flegr 2009).

Polyploidní speciace bývá charakterizována bezprostřední tvorbou reprodukční izolace mezi rodičovským a odvozeným druhem. Je ale známo, že tato reprodukční bariéra není úplná (Levin 2002). V přírodě může docházet k prostorovému kontaktu populací rostlin lišících se svou ploidní úrovní. Vznikají tak tzv. kontaktní zóny, které jsou vlastně zvláštním typem

hybridních zón vyznačujících se do značné míry omezenou mírou genového toku. V kontaktních zónách cytotypů můžeme rozlišit dva typy hybridů, kteří se účastní přenosu genů napříč ploidními úrovněmi: hybridy typu I a hybridy typu II (Petit et al. 1999). Na modelu smíšené populace diploidů a tetraploidů dochází ke genovému toku takto:

Nejsnáze a patrně i nejčastěji je genetický materiál přenášen od diploidů k tetraploidům prostřednictvím neredukovaných gamet. Splynutím neredukované gamety diploida a redukované gamety tetraploida vzniká tetraploidní hybrid typu II (angl. Type II hybrid). Tento kříženec kombinuje obvykle dvě sady chromozómů pocházející z diploidního rodiče se dvěma sadami chromozómů od tetraploida. Pro hybridy typu II je typické, že mají stejnou ploidní úroveň jako jeden z jeho rodičů, v tomto případě tetraploid. Protože mají sudý počet chromozómových sad, jejich zdatnost je ve srovnání s rodiči stejná, nebo dokonce vyšší (např. vlivem heterózního efektu). Přenos genetické informace prostřednictvím hybridů typu II je pouze jednosměrný ($2x \rightarrow 4x$).

Splynutím redukované gamety diploida s redukovanou gametou tetraploida vznikají triploidní hybridy. Triploidi jsou příkladem hybridů typu I, pro které je typické, že mají intermediární ploidní úroveň mezi rodiči. Hybridy typu I bývají často právě kvůli vlastnictví lichého počtu chromozómových sad neživotaschopní nebo sterilní (viz kap. 2.). V menší míře však produkují životaschopné euploidní gamety a zpětným křížením s diploidními nebo tetraploidními rodiči, přenosy pylu mezi triploidy, případně samosprášením triploidů mohou dát vzniknout i potomstvu diploidního či tetraploidního cytotypu (Ramsey, Schemske 1998). Většina gamet produkovaných triploidy je aneuploidní, takže vzniklí di- a tetraploidní potomci mohou kombinovat různé počty chromozómů náležících diploidnímu a tetraploidnímu genomu. V průběhu meiózy může navíc dojít ke „crossing-over“ a mohou vznikat rekombinované chromozómy. Pouze hybridy typu I (angl. Type I hybrid) mohou zprostředkovávat tok genů oběma směry ($2x \rightarrow 4x$ i $4x \rightarrow 2x$). U druhů, kde vlivem silného působení triploidního bloku ke vzniku hybridů typu I nedochází (viz kap. 2.2), probíhá tok genů vždy jen jedním směrem, z diploidů do polyploidů.

Přestože jsou mechanismy genového toku dobře známy a předpokládá se, že k němu v přírodě dochází, nejsou prozatím žádné studie, které by se zabývaly jeho přesnou kvantifikací. K dispozici jsou jen nepřímé odhady genového toku na základě míry genetické diference populací cytotypů nebo sdílením specifických genetických markerů. Ve skandinávských populacích *Dactylorhiza maculata* s. l. se například zjistilo pomocí molekulárního markeru ITS (ribozomální DNA), že diploidi a tetraploidi ve smíšených

populacích si nejsou geneticky podobnější než diploidi a tetraploidi z cytotypově uniformních populací, genový tok tak patrně není příliš intenzivní (Ståhlberg 2009).

Protože oba způsoby genového toku sledují směr $2x \rightarrow 4x$, zdá předpokládá se, že by mohl být tok genů z diploidů do tetraploidů vyšší než v opačném směru. V populacích *Dactylorhiza maculata* s. l. naznačila analýza chloroplastových markerů, že je tok genů intenzivnější z diploidů do tetraploidů. Jaderné markery ale potvrdily, že k přenosům genetické informace může vzácně docházet i v opačném směru (Ståhlberg 2009). Byly zdokumentovány situace, kdy se mezi tetraploidy vyskytovaly chloroplastové haplotypy jinak typické pro diploidní linie, např. u *Heuchera grossulariifolia* (Segraves, Thompson 1999) nebo u *Plantago media* (Van Dijk, Bakx-Schotman 1997). V převážně diploidní populaci *Dactylis glomerata* byli pozorováni triploidi produkující velký počet neredukovaných vaječných buněk, jejichž oplození vedlo ke vzniku významného podílu tetraploidů (Zohary, Nur 1959). Protože je tento způsob toku genů spjat s nezávislým vznikem polyploidní linie z mateřského diploidního taxonu, bývá často nazýván „multiple origins“ (Soltis, Soltis 1999). V rámci polyploidního taxonu tak mohou koexistovat linie, které vznikly nezávisle z různých populací, v různých částech areálu diploidního rodiče, a „multiple origins“ tak obecně pomáhá zvyšovat genetickou diverzitu a potažmo snad i evoluční úspěch polyploidů.

4. MODELOVÁ ROSTLINA: *TRIPLEUROSPERMUM INODORUM*

4.1. BIOLOGICKÉ VLASTNOSTI A EKOLOGIE

Druh *Tripleurospermum inodorum* (L.) SCHULTZ BIP. (syn. *Matricaria perforata* MÉRAT) je v současnosti řazen do čel. *Asteraceae*, km. *Anthemideae*, podkm. *Matricariinae*, r. *Tripleurospermum* (Kubát 2005).

Do rodu *Tripleurospermum* (L.) SCHULTZ. BIP. je řazeno v závislosti na taxonomickém pojetí 35 až 38 jednoletých až dvouletých bylin, jejichž společným vývojovým centrem je Kavkaz a západní Asie (Kay 1969; Applequist 2002). Morfologické vymezení a ekologie jednotlivých druhů jsou dnes zpravidla již dobře známé, ale jejich nomenklatura prošla během několika posledních desetiletí mnoha změnami a i dnes se její pojetí mezi různými autory liší. Historický vývoj taxonomie a nomenklatury tohoto rodu je velmi komplikovaný, dříve byli jeho zástupci často řazeni do rodu *Matricaria* L. v širším pojetí (Kay 1976; Applequist 2002). Jedním z charakteristických rozdílů mezi rody *Tripleurospermum* a *Matricaria* je přítomnost blanitého lemu. Zatímco u *Matricaria* se tento lem nachází pouze na vrcholech některých nažek, u *Tripleurospermum* jej lze nalézt na všech nažkách (Kubát 2005). Taxonomii uvnitř skupiny může také komplikovat relativně běžná hybridizace (na diploidní a o něco méně i na tetraploidní úrovni) stírající rozdíly mezi druhy. Její intenzita závisí především na míře překryvu areálů jednotlivých druhů a na jejich ploidní úrovni (Kay 1969).

Heřmánkovec nevonný – *Tripleurospermum inodorum* (L.) SCHULTZ BIP. je poměrně hojná jednoletá, ozimá nebo vzácně dvouletá, plevelná rostlina s rozsáhlým areálem rozšíření. Přírodně se tento druh vyskytuje zřejmě v Evropě a západní Asii, zavlečen však byl i do většiny ostatních temperátních oblastí světa. *T. inodorum* byl zaznamenán například na východní Sibiři, Novém Zélandu a v Severní Americe. V Kanadě je dnes široce rozšířený a v USA se stále šíří (Kay 1969).

Druh *T. inodorum* je známý především z druhotných stanovišť vytvořených lidskou činností. Přírodní charakter mají snad jen populace rostoucí na západoasijských slaniscích (Kay 1969). Je však možné, že další původní biotopy byly historické a dnes nemají žádné analogie. V České republice se často vyskytuje na synantropních stanovištích v raných fázích sukcese, jako jsou například pole, úhory, rumišťe, okraje cest, šterkové násypy železničních tratí, odvaly lomů, výsypky, navážky, haldy, šterkovny a hliníky, též v jednoleté vegetaci písčín, na různých avšak vždy dusíkem bohatých substrátech včetně těch zasolených. Lze jej

pozorovat obecně od nížin až do podhůří, v České republice je ojediněle zavlékán až do nejvyšších poloh (max. Krkonoše, Luční bouda, ca 1415 m n. m.; Hrubý Jeseník, Malá Morávka, ca 1120 m n. m.) (Kubát et al. 2002; Kubát 2005). Ve všech výše uvedených oblastech světového rozšíření obsazuje stejné niky a je vysoce pravděpodobné, že do nich byl zavlečen jako plevel zemědělských plodin (Kay 1994).

Popis druhu (podle Kay 1994; Kubát et al. 2002; Kubát 2005): lodyhy dorůstají výšky (10-)30-80(-100) cm, v dospělosti jsou lysé, ve spodní části často načervenalé a svým vzrůstem a mírou větvení odráží především charakter osídlených stanovišť. Na polích jsou obvykle lodyhy zpočátku vzpřímené, jen v horní části chocholičnatě se větvící. Později, po sklizni úrody, mohou stejné rostliny tvořit několik poléhavých větví od báze stonku. Naopak rostliny otevřených prostranství jsou obvykle již od počátku do různé míry větvené od báze stonku, s několika poléhavými nebo vzpřímenými větvemi. Z bázi starších stonků se mohou tvořit adventivní kořeny, jimiž se ale rostliny vegetativně nemnoží. Právě kořeny jsou bohatě větvené, sahající někdy až 1 m hluboko.

Listy přízemní listové růžice jsou v obrysu eliptické, rovné na bázi a na vrcholu zaoblené, 4-8(-15) cm dlouhé a 1,5-5(-10) cm široké, nepravidelně zpeřené do jemných úkrojků třetího (druhého) řádu 8-15(-30) mm dlouhých a 0,5-0,7(-1,2) mm širokých. Lodyžní listy mají stejný tvar, jsou přisedlé a vyrůstají ve střídavém postavení.

Počet úborů na rostlině je obvykle značně variabilní, obvykle se pohybuje v rozmezí 15-200, na jedinci však může být i 1200 úborů. Úbor lemují nejčastěji 21-22 samičích jazykovitých květů s bílými ligulami o velikosti 10-18 × 2,5-4,0 mm, terč je tvořen přibližně 4,5 mm dlouhými oboupohlavnými trubkovitými květy s 2,5 mm dlouhou žlutou zvonkovitou korunou rozšiřující se do pěti drobných laloků. Zralé květní lůžko je kónické s vypouklými stranami, ze spodní strany jej kryjí protáhlé a úzce trojúhelníkovité zákrovní listeny s tenkým bezbarvým až tmavě hnědým lemem. V době zralosti se projevuje sporofytická bariéra proti samooplození, která je řízena dvěma dominantními alelami multi-alelického systému (Kay 1965). Vzhledem k vyšší hmotnosti pylových zrn a jejich lepkavosti jsou květy pravděpodobně entomogamní, dle četných záznamů z Velké Británie jsou nejspíš opylovány hmyzem ze skupiny *Diptera* (Kay 1969).

Plodem jsou cca 1,2-2,2 mm dlouhé a 0,5-1,1 mm široké nažky se třemi světlými žebry na břišní (ventrální) straně, které od sebe dělí vzdálenosti nejméně $\frac{1}{3}$ jejich délky. Mezery mezi žebry a střední část hřbetní (dorzální) strany nažky jsou černohnědé

s nepravidelně příčně bradavičnatě zvlněným povrchem. Na hřbetní straně nažky bývají v blízkosti vrcholu zanořené pryskyřičné kanálky. K vrcholu hřbetní strany nažky je připojen krátký střečovitý chmýr, který svou barvou a strukturou připomíná žebra. Předpokládá se, že se šíří endo- nebo epizoochoricky, o něco méně i prostřednictvím hmyzu. Detailní morfologie semen je v rodě *Tripleurospermum* významným rozlišovacím znakem mezi jednotlivými druhy (Kay 1976). Produkce semen v pokusech závisela na celkové hmotnosti sušiny rostlin, čím více vytvořila rostlina biomasy, tím méně semen vyprodukovala (Lutman 2002). Průměrná váha semene je proměnlivá. Nažky mohou v půdě přežít v půdě nejméně 10 let, v závislosti na typu půdy a hloubce, ve které se nachází. Klíčení semen je epigeické, a proto potřebují dostatečně vysoké hodnoty teplot a slunečního záření (Kay 1994).

Podobně jako jiné jednoleté plevely kulturních plodin jsou jedinci fenotypově plastiční a extrémně variabilní ve velikosti i habitu (Kay 1994). Vzhled rostliny, zejména větvení a směr růstu, se však může lišit i s ohledem na její ploidní úroveň (Kay 1969).

4.2. CYTOTYPOVÁ DIVERZITA A JEJÍ PŮVOD

U druhu *Tripleurospermum inodorum* byly rozlišeny tři cytotypy: diploidní, triploidní a tetraploidní (Kay 1994).

Kay (1969) navrhl, že **diploidní** ($2n = 2x = 18$) cytotyp *T. inodorum* mohl vzniknout jedním ze tří způsobů: z příbuzného diploidního taxonu *T. maritimum*, z diploidních druhů ve vývojovém centru rodu (Kavkaz, střední Asie) nebo ze společného předka *T. maritimum* a *T. inodorum*.

První možnost je podpořena skutečností, že se diploidní rostliny *T. inodorum* mohou křížit s *T. maritimum* (Kay 1965), se kterým rostou sympatricky ve značné části přirozeného areálu výskytu, např. na pobřeží západní a severní Evropy (Kay 1969). S ohledem na mnohé rozdíly mezi druhy a nejstarší nálezy nažek patřících *T. inodorum* již z období pozdního pleistocénu tento způsob vzniku diploidů Kay (1969) nepředpokládá.

Také původ diploidního *T. inodorum* z jiného druhu původem z Kavkazu nebo střední Asie považuje Kay (1969) za ekologicky, geograficky i geneticky nepravděpodobný.

Třetí způsob vzniku je rovněž podpořen možností vzájemného křížení mezi diploidy *T. inodorum* a *T. maritimum* i jejich částečně se překrývajícím geografickým rozšířením. Mezi oběma druhy jsou však ostré ekologické hranice. K oddělení druhů mohlo dojít během časného pleistocénu, kdy diploidní *T. inodorum* nejspíš osidloval přirozená stanoviště, která nemají v dnešní době analogii. Mohlo se například jednat o místa v blízkosti sezónních

napajedel divokých herbivorů, obzvláště ta situovaná v nižších polohách, kde byla v zimě a na jaře půda silně udupána, zatímco v létě relativně nenarušená. Tento typ habitatu mohl být podobný zemědělsky využívané krajině, ve které se dnes druh často vyskytuje (Kay 1969).

Názory autorů na způsob vzniku **tetraploidního** *T. inodorum* ($2n = 4x = 36$) se liší. Obecně mohou tetraploidní linie vznikat dvěma způsoby, polyploidizací v rámci jednoho druhu (autopolyploidie), nebo zdvojením genomu spjatém s mezidruhovou hybridizací (alopolyploidie; viz kap. 1). Jako jedna z možností byl navržen vznik tetraploidů alopolyloidizací mezi severoevropskými populacemi mezi *T. inodorum* a *T. maritimum* (Vaarama 1953), Kay (1969) považuje za velmi nepravděpodobné, že by mohlo dojít ke zdvojení chromozomového počtu u diploidního mezidruhového hybrida. Vzhledem k převládající jednoletosti je totiž nejisté, že by vegetativně přetrvávali do doby, než by došlo ke zdvojnásobení chromozomů. Tato skutečnost však komplikuje možnost vzniku polyploidů obecně, nelze ji tedy použít na odlišení autopolyploidního a alopolyloidního scénáře.

Tetraploidní *T. inodorum* se morfologicky velmi podobá diploidnímu cytotypu, což bývá typické zejména pro autopolyploidii (Levin 2002). Na základě experimentálních dat a porovnání morfologie somatických chromozomů a jejich meiotického chování (Arora, Madhusoodanan 1981) se lze domnívat, že je tetraploidní *T. inodorum* autopolyploidního původu. Kay (1969) studiem plodnosti triploidních hybridů a karyologickými pozorováními časté tvorby trivalentů během meiózy dospěl k závěru, že genomy diploidního a tetraploidního cytotypu jsou do značné míry homologické. Zdůrazňuje však, že se nemusí jednat o důkaz autopolyploidního původu tetraploidů, neboť k obdobným výsledkům dospěl i při křížení nepříbuzných druhů. I v tomto případě Kay (1969) upozorňuje na nízkou pravděpodobnost vzniku polyploidů, protože diploidi i tetraploidi byli ve většině zkoumaných populací neschopní efektivního samoopylení. Autotetraploidi by podle něj, mohli vzniknout pouze za předpokladu, že by se v nějaké malé marginální nebo pionýrské populaci, kde jsou rostliny od sebe poměrně vzdáleny a počet jedinců v populaci rok od roku kolísá, vyskytl diploid schopný značné produkce jinak vzácných neredukovaných gamet (Ramsey, Schemske 1998). Ten by se následně množil autogamicky, za vzniku čteného tetraploidního potomstva, které by potlačilo nevýhodu malých čísel a zbylé diploidní rostliny by vymizely (katastrofická selekce). Na druhou stranu v současnosti už víme, že produkce neredukovaných gamet může být v některých populacích skutečně vysoká a že se u *T. inodorum* vyskytují částečně fertlní triploidní hybridy (viz níže). Nabízí se tedy i zvýšení pravděpodobnosti vzniku tetraploidů prostřednictvím triploidního mostu (viz kap. 3.2.). Další studium této problematiky pomocí

molekulárně biologických a genetických metod je potřeba k odhalení konkrétního způsobu vzniku tetraploidního cytotypu *T. inodorum*.

Přenosem pylu mezi diploidními a tetraploidními rostlinami *T. inodorum* mohou vznikat **triploidní** ($2n = 3x = 27$) hybridy. Ti bývají zpravidla životaschopní, mohou ale trpět částečnou sterilitou, jak experimentálně zjistil Kay (1969). Při meióze v mateřských buňkách pylu převažovaly trivalenty, nedocházelo k rovnoměrnému dělení chromozomů mezi dceřiné buňky a převážná většina výsledných pylových zrn byla sterilní. V některých případech však mohly být i samčí gamety částečně fertily (3-5 %). Když však sloužili triploidy v experimentálních kříženích jako mateřské rostliny, mohli za příznivých podmínek po opylení pylem diploidů nebo tetraploidů produkovat i 10 % vyvinutých nažek. Funkční samičí gamety produkované triploidy byly buď redukované ($n = 12; 13$) nebo neredukované ($n = 26$). Potomstvo triploidů bylo kvůli časté aneuploidii méně životaschopné než jeho rodiče. Přesto na něm mohly dalším křížením příležitostně vzniknout i diploidní nebo tetraploidní hybridy, což svědčí o potenciálu obousměrného genového toku mezi diploidy a tetraploidy (Kay 1965).

Z hlediska déletrvajícího výskytu smíšených populací diploidů s tetraploidy *T. inodorum* je důležitá frekvence tvorby triploidních jedinců, protože cytotyp produkující menší počet květů ve smíšených populacích může produkcí triploidů ztrácet větší podíl potomstva a vymizet tak již během několika následných generací z populace (viz nevýhoda malých čísel, kap. 4). Je tedy pravděpodobné, že smíšené populace $2x$ a $4x$ by mohly být nestabilní, jen přechodného výskytu a cytotyp, který se na dosud neosídleném stanovišti uchytí jako první, pak pravděpodobně rychle potlačí pionýrské rostliny druhého cytotypu (Kay 1969). Dnes je však známa celá řada faktorů, které mohou vliv nevýhody malých čísel do různé míry tlumit (viz kap. 3) a tak tato možnost vyžaduje další studium.

I když jsou si diploidní a tetraploidní rostliny *T. inodorum* morfologicky i ekologicky velmi podobné, je možné mezi oběma cytotypy identifikovat určité odlišnosti. Pokud spolu rostou ve stejných podmínkách, tetraploidy dosahují obvykle vyšší rychlosti růstu i větší velikosti a jejich lodyhy jsou více vzpřímeného vzrůstu než u diploidů (Kay 1969). Při srovnávacích kultivačních experimentech Kay (1965) odhalil, že tetraploidy mají zpravidla pylová zrna dvakrát větší než diploidy, jejich nažky klíčí rychleji a dosahují vyšší klíčivosti než nažky diploidní. Jediný morfologický znak umožňující rozlišení cytotypů při kultivaci byl tvar koncových laloků prvních pravých listů semenáčku, které jsou relativně široké a oblé u tetraploidů, ale úzké a zašpičatělé u diploidů.

4.3. DISTRIBUCE CYTOTYPŮ *T. INODORUM*

Studium geografického rozšíření příbuzných rostlin lišících se ploidní úrovní (tzv. cytogeografie) je prvním krokem umožňujícím odhalení případných rozdílů v jejich biologických vlastnostech a evoluční historii (Levin 2002). I když jsou oba cytotypy morfologicky nerozlišitelné a postrádají nápadnější rozdíly ve svých stanovištních požadavcích, jako je tomu pravděpodobně u *Tripleurospermum inodorum*, jejich distribuce může být ovlivněna dalšími faktory, například historickými a evolučními procesy, změnami klimatických podmínek, lidskou činností, migrací zvířat atd.

Jak již bylo zmíněno, *T. inodorum* se dnes vyskytuje takřka výhradně na sekundárních stanovištích, vytvořených nebo udržovaných lidskou činností. Není proto známo, kde mohl druh přirozeně růst v dobách, kdy vliv člověka na krajinu nebyl tak značný. Možnými kandidáty na přirozená stanoviště, kde se stále ještě *T. inodorum* vyskytuje (jedna z vzácných morfologických variet), jsou slaniska v oblasti spodního toku Volhy a horské svahy Kavkazu. Místní populace jsou však dnes tvořeny výhradně tetraploidním cytotypem (Kay 1969), i když bychom tam očekávali spíše evolučně původnější diploidní cytotyp.

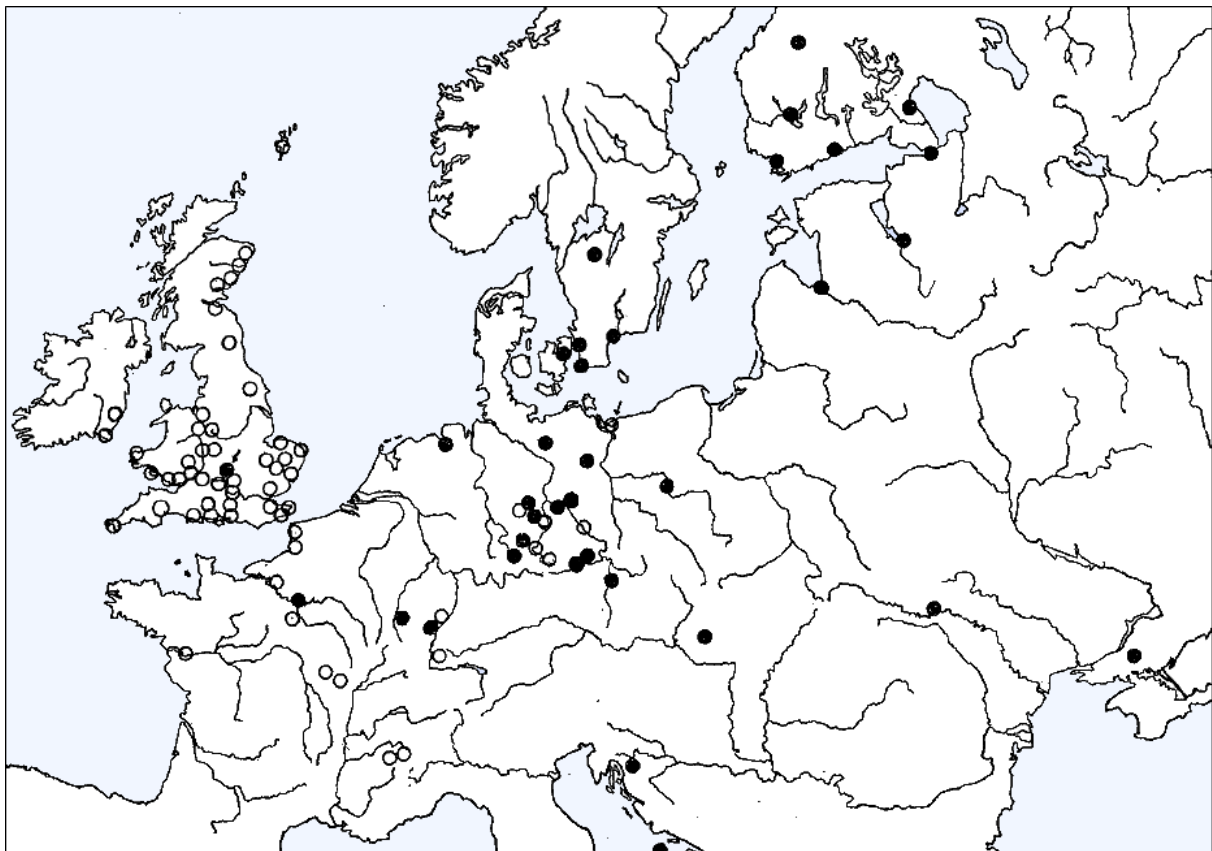
Diploidní cytotyp *T. inodorum* se vyskytuje především v západní a severní Evropě, prakticky výlučně pak na Britských ostrovech (Kay 1969). Zdá se tak, že diploidní cytotyp je adaptován na vlhké přímořské klima. V Británii není jeho rozšíření příliš rovnoměrné. Pokud porovnáme podrobnou distribuční mapu (Kay 1994) s topografickou mapou Britských ostrovů, vidíme, že se mnohem více vyskytuje v nížinných oblastech než v hornatých.

Tetraploidní *T. inodorum* se vyskytuje především ve východní, severovýchodní a střední Evropě, vykazuje tak tendence ke kontinentálnímu charakteru rozšíření. Areál tetraploidů se rozprostírá od severního Španělska, severní Itálie a Balkánského poloostrova na jihu, po značnou část Skandinávského poloostrova na sever, kde plynule dosahuje 66° severní zeměpisné šířky. Na východě souvislé rozšíření zasahuje až do evropské části Ruska a na Kavkaz. Také se vyskytuje na západní Sibiři a ve střední Asii (Kay 1969). V některých oblastech západní Evropy je tetraploidní cytotyp méně častý, případně úplně chybí a je nahrazen diploidy. Na Britské ostrovy, osídlené výhradně diploidním cytotypem jsou tetraploidi pouze vzácně zavlékáni (patrně ve směsích semen z kontinentální Evropy). Ojediněle se vyskytující tetraploidní rostliny trpí nedostatkem kompatibilních reprodukčních partnerů, a pokud nejsou schopny samoopylení, rychle z populací mizí (Kay 1969).

Kay (1969, 1994) se pokusil pomocí charakteristik osidlovaných stanovišť vysvětlit, proč se tetraploidi přirozeně na Britských ostrovech nevyskytují. Je pravděpodobné, že na rozšíření tetraploidů *T. inodorum* má vliv kontinentální klima, tedy nižší vlhkost vzduchu, menší množství srážek, nižší rychlostí větru. Ve Středozeří se sice oceanita a kontinentalita příliš neprojevují, druh by zde však mohl být limitován horkými a suchými africkými větry. Severní okraj areálu tetraploidů nápadně odpovídá hranici kultivování zemědělských plodin. Případné ekologické adaptace by pak mohly být vázány na rozdílné genotypy.

V některých oblastech Evropy dochází ke kontaktu diploidních a tetraploidních populací, například v severním a východním Německu, nebo v severní a východní Francii (Kay 1969).

Rozmístění cytotypů v Kanadě se dokonce podobá jejich rozmístění v Evropě, což může být způsobeno buď skutečně rozdílnými klimatickými adaptacemi cytotypů, nebo specifickým výběrem míst, odkud byla semena plodin zároveň se semeny *T. inodorum* sbírána a následně introdukována do Ameriky (Kay 1994). Je možné se domnívat, že by mohl být charakter distribuce cytotypů podobný i v ostatních zmíněných oblastech.



Obr. 1: Distribuce populací diploidního (bílé) a tetraploidního (černě) cytotypu *Tripleurospermum inodorum* v Evropě. Převzato a upraveno z Kay (1969).

I když se diploidi a tetraploidi patrně neliší svými stanovištními požadavky, literární doklady o výskytu smíšených populací diploidů a tetraploidů a tedy přirozeně se vyskytujících triploidů chybí. Na mapě distribuce cytotypů *T. inodorum* v Evropě (obr. 1) lze pozorovat jasnou parapatrickou hranici mezi diploidy na západě a tetraploidy na východě. Na jemnější škále by však byl zřejmě patrný mozaikovitý charakter.

5. OTÁZKY KLADENÉ DO NAVAZUJÍCÍ MAGISTERSKÉ PRÁCE

- Liší se triploidní hybridi svou klíčivostí, rychlostí růstu nebo reprodukční zdatností od rodičovských cytotypů?
- Jaká je frekvence vzniku triploidů ve smíšených populacích svých rodičů?
- Jsou diploidní a tetraploidní cytotypy zatíženi při vzájemných kříženích stejnou mírou produkce triploidního potomstva nebo je jeden z nich zvýhodněn?
- S jakou frekvencí vzniká při kříženích zahrnujících triploidní jedince jako jednoho z rodičů životaschopné potomstvo? Jaké je ploidní úrovně?
- Jaká je frekvence neredukovaných gamet ve studovaných populacích?
- Zprostředkovávají opylovači ve smíšených populacích nenáhodné opylení cytotypů?

6. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

AAGAARD, S. M. D., S. M. SÅSTAD, J. GREILHUBER and A. MOEN, 2005. A secondary hybrid zone between diploid *Dactylorhiza incarnata* ssp. *cruenta* and allotetraploid *D. lapponica* (Orchidaceae). *Heredity*. vol. 94, s. 488–496

AICHELE, D. and M. GOLTE-BECHTLE, 1996. *Co tu kvete?* 1. S.l.: Ikar

APPLEQUIST, W. L., 2002. A Reassessment of the Nomenclature of *Matricaria* L. and *Tripleurospermum* Sch. Bip. (Asteraceae). *Taxon*. vol. 51, s. 757–761

ARORA, O. P. and K. J. MADHUSOODANAN, 1981. Nature of tetraploidy in *Matricaria inodora* L. *Cytologia* . vol. 46, s. 773–779

BAACK, E. J., 2004. CYTOTYPE SEGREGATION ON REGIONAL AND MICROGEOGRAPHIC SCALES IN SNOW BUTTERCUPS (RANUNCULUS ADONEUS:RANUNCULACEAE). *American Journal of Botany*. vol. 91, no. 11, s. 1783–1788

BAACK, E. J., 2005. Ecological factors influencing tetraploid establishment in snow buttercups (*Ranunculus adoneus*, Ranunculaceae): minority cytotype exclusion and barriers to triploid formation. *American Journal of Botany* . vol. 92, no. 11, s. 1827–1835

BRIGGS, D. and S. M. WALTERS, 2001. *Proměnlivost rostlin*. 1. S.l.: Univerzita Palackého

BURTON, T. L. and B. C. HUSBAND, 2000. Differences among diploids, tetraploids, and their triploid progeny in *Chamerion angustifolium*: mechanisms of inviability and implications for polyploid evolution. *Evolution* . vol. 54, s. 1182–1191

BURTON, T. L. and B. C. HUSBAND, 2001. Fecundity and offspring ploidy in matings among diploid, triploid and tetraploid *Chamerion angustifolium* (Onagraceae): consequences for tetraploid establishment. *Heredity* . vol. 87, s. 573–82

FELBER, F., 1991. Establishment of a tetraploid cytotype in a diploid population: effect of relative fitness of the cytotypes. *Journal of Evolutionary Biology* . vol. 207, s. 195–207

FELBER, F. and J. D. BEVER, 1997. Effect of triploid fitness on the coexistence of diploids and tetraploids. *Biological Journal of the Linnean Society*. no. 60, s. 95–106

FLEGR, J., 2009. *Evoluční biologie*. 2. S.l.: Academia

GOVINDARAJU, D. R., 1988. Relationship between dispersal ability and levels of gene flow in plants. *Oikos* . vol. 52, no. 1, s. 31–35

HAIG, D. and M. WESTOBY, 1991. Genomic imprinting in endosperm : its effect on seed development in crosses between species , and between different ploidies of the same species , and its implications for the evolution of apomixis. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*. vol. 333, s. 1–13

- HEDRICK, P. W., 2005. Gene Flow and Population Structure. In: *Genetics of populations*. 3. S.l.: Jones and Bartlett Publishers, s. 469–524.
- HUSBAND, B., 2000. Constraints on polyploid evolution: a test of the minority cytotype exclusion principle. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* . . S.l.: The Royal Society, vol. 267, no. 1440, s. 217–23
- HUSBAND, B., 2004. The role of triploid hybrids in the evolutionary dynamics of mixed-ploidy populations. *Society* . . S.l.: John Wiley & Sons, vol. 82, no. 4, s. 537–546
- JOHNSTON, S. A., T. P. M. NIJS, S. J. PELOQUIN and R. E. jr. HANNEMAN, 1980. The significance of genic balance to endosperm development in interspecific crosses. *Theoretical and Applied Genetics*. vol. 57, s. 5–9
- KAO, R. H. and I. M. PARKER, 2010. Coexisting Cytotypes of *Arnica cordifolia* : Morphological Differentiation and Local- Scale Distribution. *International Journal of Plant Sciences* . vol. 171, no. 1, s. 81–89
- KAY, Q. O. N., 1965. *Experimental and comparative ecological studies of selected weeds*. S.l. University of Oxford.
- KAY, Q. O. N., 1969. The origin and distribution of diploid and tetraploid *Tripleurospermum inodorum* (L.) Schultz Bip. *Watsonia*. vol. 7, no. 1921, s. 130–141
- KAY, Q. O. N., 1976. *Matricaria* L. and *Chamomilla* S.F Gray. In: T. G. TUTIN, V. H. HEYWOOD, N. A. BURGESS, D. M. MOORE, D. H. VALENTINE, S. M. WALTERS, D. A. WEBB, P. W. BALL, A. O. CHATER, R. A. DEFILIPPS, I. K. FERGUSON and I. B. K. RICHARDSON, eds. *Flora Europaea. Vol. 4, Plantaginaceae to Compositae (and Rubiaceae)*. 1. Cambridge: Cambridge University Press
- KAY, Q. O. N., 1994. *Tripleurospermum inodorum* (L.) Schultz Bip. *Journal of Ecology* . vol. 82, s. 681–697
- KENNEDY, B. F., H. A. SABARA, D. HAYDON and B. C. HUSBAND, 2006. Pollinator-mediated assortative mating in mixed ploidy populations of *Chamerion angustifolium* (Onagraceae). *Oecologia* . vol. 150, s. 398–408
- KÖHLER, C., O. M. SCHEID and A. ERILOVA, 2010. The impact of the triploid block on the origin and evolution of polyploid plants. *Trends in genetics : TIG* . vol. 26, no. 3, s. 142–148
- KOUTECKÝ, P., T. BAĎUROVÁ, M. ŠTECH, J. KOŠNAR and J. KARÁSEK, 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* . vol. 104, s. 93–106
- KUBÁT, K., 2005. *Tripleurospermum* Schultz Bip. – heřmánkovec. In: B. SLAVÍK and J. ŠTĚPÁNKOVÁ, eds. *Květena České republiky*. 7. Praha: Academia, s. 248–250

- KUBÁT, K., L. HROUDA, J. jun. CHRTEK, Z. KAPLAN, J. KIRSCHNER and J. ŠTĚPÁNEK, 2002. *Klíč ke květeně České republiky*. S.l.: Academia
- LEVIN, D. A., 1975. Minority cytotype exclusion in local plant populations. *Taxon* . vol. 24, s. 35–43
- LEVIN, D. A., 1983. Polyploidy and novelty in flowering plants. *American Naturalist* . vol. 122, no. 1, s. 1–25
- LEVIN, D. A., 2002. *The Role of Chromosomal Change in Plant Evolution*. S.l.: s.n.
- LIN, B. Y., 1984. Ploidy barrier to endosperm development in maize. *Genetics* . vol. 107, no. 1, s. 103–115
- LUTMAN, P. J. W., 2002. Estimation of seed production by *Stellaria media*, *Sinapis arvensis* and *Tripleurospermum inodorum* in arable crops. *Weed Research* . vol. 42, no. 5, s. 359–369
- MASTERSON, J., 1994. Stomatal Size in Fossil Plants: Evidence for Polyploidy in Majority of Angiosperms. *Science*. vol. 264, no. 5157, s. 421–424
- MEIRMANS, P. G., E. C. VLOT, J. C. M. DEN NIJS and S. B. J. MENKEN, 2003. Spatial ecological and genetic structure of a mixed population of sexual diploid and apomictic triploid dandelions. *Journal of evolutionary biology* . vol. 16, s. 343–352
- MÜNTZING, A., 1930. Über Chromosomen-Vermehrung in Galeopsis-Kreuzungen und ihre phylogenetische Bedeutung. *Hereditas*. vol. 14, s. 153–172
- OHNO, S., 1970. *Evolution by Gene Duplication*. S.l.: s.n.
- OTTO, S. P. and J. WHITTON, 2000. Polyploid incidence and evolution. *Annual review of genetics* . vol. 34, s. 401–437
- PECKERT, T. and J. CHRTEK, 2006. Mating interactions between coexisting diploid, triploid and tetraploid cytotypes of *Hieracium Echioides* (Asteraceae). *Folia Geobotanica* . vol. 41, no. 3, s. 323–334
- PETIT, C., F. BRETAGNOLLE and F. FELBER, 1999. Evolutionary consequences of diploid-polyploid hybrid zones in wild species. *Trends in ecology & evolution* . vol. 14, no. 8, s. 306–311
- PETIT, C., P. LESBROS, X. GE and J. D. THOMPSON, 1997. Variation in flowering phenology and selfing rate across a contact zone between diploid and tetraploid *Arrhenatherum elatius* (Poaceae). *Heredity* . vol. 79, s. 31–40, [vid. 15. May 2013]. Dostupné z: <http://www.nature.com/hdy/journal/v79/n1/abs/hdy1997120a.html>
- RAMSEY, J. and D. W. SCHEMSKE, 1998. Pathways, Mechanisms, and Rates of Polyploid Formation in Flowering Plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*. vol. 29, s. 467–501

- RAMSEY, J. and D. W. SCHEMSKE, 2002. Neopolyploidy in Flowering Plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* . vol. 33, no. 1, s. 589–639
- SEGRAVES, K. A. and J. N. THOMPSON, 1999. Plant Polyploidy and Pollination: Floral Traits and Insect Visits to Diploid and Tetraploid *Heuchera grossulariifolia*. *Evolution*. vol. 53, s. 1114–1127
- SOLTIS, D. E., V. A. ALBERT, J. LEEBENS-MACK, Ch. D. BELL, A. H. PATERSON, Ch. ZHENG, D. SANKOFF, C. W. DE PAMPHILIS, P. K. WALL and P. SOLTIS, 2009. Polyploidy and angiosperm diversification. *American Journal of Botany* . vol. 96, no. 1, s. 336–348
- SOLTIS, D. E. and P. S. SOLTIS, 1999. Polyploidy: recurrent formation and genome evolution. *Trends in ecology & evolution* . vol. 14, no. 9, s. 348–352
- STÅHLBERG, D., 2009. Habitat differentiation, hybridization and gene flow patterns in mixed populations of diploid and autotetraploid *Dactylorhiza maculata* s.l. (Orchidaceae). *Evolutionary Ecology* . vol. 23, s. 295–328
- SUDA, J., R. MALCOVÁ, D. ABAZID, M. BANAŠ, F. PROCHÁZKA, O. ŠÍDA and M. ŠTECH, 2004. Cytotype distribution in *Empetrum* (Ericaceae) at various spatial scales in the Czech Republic. *Folia Geobotanica* . vol. 39, s. 161–171
- ŠAFÁŘOVÁ, L. and M. DUCHOSLAV, 2010. Cytotype distribution in mixed populations of polyploid *Allium oleraceum* measured at a microgeographic scale. *Preslia* . vol. 82, s. 107–126
- TRÁVNÍČEK, P., B. KUBÁTOVÁ, V. ČURN, RAUCHOVÁ, KRAJNÍKOVÁ, JERSÁKOVÁ and SUDA, 2011. Remarkable coexistence of multiple cytotypes of the *Gymnadenia conopsea* aggregate (the fragrant orchid): evidence from flow cytometry. *Annals of ...* . s. 1–11
- VAARAMA, A., 1953. Cytotaxonomic studies on northern *Tripleurospermum* forms. *International Botanical Congress*. vol. 1950, s. 279–280
- VAN DIJK, P. and T. BAKX-SCHOTMAN, 1997. Chloroplast DNA phylogeography and cytotype geography in autopolyploid *Plantago media*. *Molecular Ecology* . vol. 6, s. 345–352
- WATKINS, A. E., 1932. Hybrid sterility and incompatibility. *Journal of Genetics*. vol. 25, s. 125–162
- WEISS, H., C. DOBEŠ, G. M. SCHNEEWEISS and J. GREIMLER, 2002. Occurrence of tetraploid and hexaploid cytotypes between and within populations in *Dianthus* sect. *Plumaria* (Caryophyllaceae). *New Phytologist* . vol. 156, s. 85–94
- ZOHARY, D. and U. NUR, 1959. Natural triploids in the orchard grass, *Dactylis glomerata* L., polyploid complex and their significance for gene flow from diploid to tetraploid levels. *Evolution* . vol. 13, no. 3, s. 311–317