

Univerzita Palackého v Olomouci

Přírodovědecká fakulta

Katedra botaniky



**Apomixie v komplexu *Rubus ser. Glandulosi*:
geografické vzorce a důsledky
pro vnitropopulační diverzitu**

Diplomová práce

Bc. Věra Forejtová

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Botanika

Forma studia: Prezenční

Vedoucí práce: doc. RNDr. Bohumil Trávníček, Ph.D.

Konzultant: Mgr. Michal Sochor, Ph.D.

Olomouc 2021

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně pod vedením doc. RNDr. Bohumila Trávníčka, Ph.D. a Mgr. Michala Sochora, Ph.D. a uvedla jsem veškerou použitou literaturu.

V Olomouci dne:

Podpis:

Poděkování

Chtěla bych poděkovat vedoucímu práce doc. RNDr. Bohumilu Trávníčkovi, Ph.D. a konzultantovi Mgr. Michalu Sochorovi, Ph.D. za odborné vedení, pomoc a cenné rady a za množství času a trpělivosti, které této práci věnovali. Také bych chtěla poděkovat RNDr. Michalu Hronešovi, Ph.D. a Mgr. Lucii Koblrové za pomoc při měření na průtokovém cytometru. Svě rodině bych chtěla poděkovat za podporu při psaní této práce a také za pomoc při sběru vzorků.

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora: Bc. Věra Forejtová

Název práce: Apomixe v komplexu *Rubus* ser. *Glandulosi*: geografické vzorce a důsledky pro vnitropopulační diverzitu

Typ práce: diplomová

Pracoviště: Katedra botaniky PřF UP

Vedoucí práce: doc. RNDr. Bohumil Trávníček, Ph.D.

Rok obhajoby: 2021

Abstrakt: Fakultativní apomixe je jev, kdy se v rámci jednoho taxonu vyskytuje sexuální i apomiktický způsob rozmnožování. U některých taxonů se přitom rozšíření obou reprodukčních způsobů liší geograficky. Skupinou, kde byla tato skutečnost zjištěna relativně nedávno, je tetraploidní komplex *Rubus* ser. *Glandulosi*. Předložená práce výrazně rozšiřuje a zpřesňuje poznatky o geografickém rozšíření sexuálního rozmnožování a apomixe u této skupiny, jež byly dosud pro další analýzy nedostačující. Způsob rozmnožování byl stanovován metodou FCSS (*flow cytometry seed screen*) a bylo zjištěno, že hranice mezi areály sexuálů a apomiktů probíhá Českou republikou a jižním Polskem přibližně jihozápadně-severovýchodním směrem, přičemž sexuálové se vyskytovali v jihovýchodní části a apomikti v severozápadní části areálu taxonu. Data byla použita pro modelování ekologických nik s cílem zjistit, zda je výskyt sexuálů a apomiktů dán rozdíly v jejich ekologických nárocích či je způsoben jinými faktory, např. historickou migrací. Model pro sexuály (až na některé oblasti) zhruba odpovídal jejich skutečnému výskytu, model apomiktů většinou neodpovídal realitě. Modely pro poslední glaciální maximum se navzájem značně lišily a byly zřejmě negativně ovlivněny absencí dat z jižní Evropy. Není proto jasné, z kterých oblastí se tyto ostružiníky během holocénu rozšířily do ostatních území současného areálu. Testy podobnosti a identity nik sexuálů a apomiktů ukázaly, že se niky značně překrývají, což nevysvětluje geografickou partenogenezi. Možná hypotéza, jež bude předmětem dalšího studia, zahrnuje migraci sexuálů během holocénu, vznik apomiktů na okraji areálu sexuálů a ustanovení hranice mezi areály obou reprodukčních skupin vlivem kompetice.

Klíčová slova: FCSS, geografická partenogeneze, ostružiník, reprodukce.

Počet stran: 79

Počet příloh: 8

Jazyk: český

Bibliographic identification

Author's first name and surname: Bc. Věra Forejtová

Title of thesis: Apomixis in the complex of *Rubus* ser. *Glandulosi*: geographical patterns and consequences for intrapopulation diversity

Type of thesis: master

Department: Department of Botany, Faculty of Science, Palacky University

Supervisor: doc. RNDr. Bohumil Trávníček, Ph.D.

The year of presentation: 2021

Abstract: Facultative apomixis is the phenomenon when both sexual and apomictic reproduction modes occur in a single taxon. In some taxa, distribution of these reproduction modes differs geographically. This fact was observed quite recently in the tetraploid complex of *Rubus* ser. *Glandulosi*. The submitted thesis considerably extended and clarified knowledge about geographical distribution of sexual and apomictic reproduction in this group, which was yet insufficient for further analyses. Reproduction mode was determined by FCSS (flow cytometry seed screen) and it was found that borderline between areas of sexuals and apomicts is located in the Czech Republic and southern Poland and it has more or less southwest-northeast direction. Sexuals were observed in south-eastern and apomicts in north-western part of the area. Data were used for ecological niche modelling with the aim to find out whether occurrence of sexuals and apomicts is determined by differences in their ecological requirements or other factors, such as their historical migration. Model for sexuals corresponded well with their actual occurrence (except for some areas), model for apomicts did not correspond with reality. Models for last glacial maximum differed from each other and were negatively affected by lack of data from southern Europe. It is not clear from which areas these brambles spread during the Holocene. Tests of niche similarity and identity of sexuals and apomicts revealed high niche overlap which cannot explain geographical parthenogenesis. One possible hypothesis which will be the object of further study includes migration of sexuals during the Holocene, subsequent origin of apomicts on the edge of sexuals' range and formation of a borderline between areas of these reproductive groups by competition.

Keywords: FCSS, geographical parthenogenesis, bramble, reproduction.

Number of pages: 79

Number of appendices: 8

Language: Czech

Obsah

1. Úvod	8
1.1. Rozmnožování a geografická partenogeneze u krytosemenných rostlin.....	8
1.1.1. Apomixe a současné poznatky o geografické partenogenezi v rodu <i>Rubus</i> a v <i>R. ser. Glandulosi</i>	9
1.2. Ekologické modely	11
1.2.1. Modelování ekologických nik.....	12
2. Cíle práce	16
3. Materiál a metody	17
3.1. Analýza vzorků pomocí průtokové cytometrie.....	17
3.1.1. Rostlinný materiál	17
3.1.2. Příprava a analýza vzorku.....	17
3.2. Modelování ekologických nik a testy překryvu nik.....	18
4. Výsledky	21
4.1. Analýza vzorků pomocí průtokové cytometrie.....	21
4.2. Geografická partenogeneze	23
4.3. Modelování ekologických nik a testy překryvu nik.....	24
5. Diskuse	28
5.1. Analýza semen metodou FCSS a variabilita v ploidii embrya a endospermu u jednotlivých způsobů reprodukce	28
5.2. Geografická partenogeneze	32
5.2.1. Příčiny geografické partenogeneze.....	33
5.3. Modelování ekologických nik	37
5.3.1. Současné modely a niky sexuálů a apomiktů.....	37
5.3.2. Modely pro období posledního glaciálního maxima (LGM)	39
5.4. Reprodukční a genetická diverzita uvnitř a mezi populacemi	41
6. Závěr	45
7. Literatura	46
8. Přílohy	55
Příloha 1	55
Příloha 2	57
Příloha 3	58
Příloha 4	60
Příloha 5	61
Příloha 6	62
Příloha 7	63

1. Úvod

1.1. Rozmnožování a geografická partenogeneze u krytosemenných rostlin

Rozmnožování je nutnou podmínkou existence každého druhu, protože umožňuje jeho dlouhodobé zachování a šíření do nového prostředí. Lze rozlišit dva hlavní typy rozmnožování: pohlavní (sexuální) a nepohlavní (asexuální). Při sexuálním rozmnožování dochází k rekombinaci a segregaci alel obou rodičů, díky čemuž vzniká obvykle značně geneticky variabilní potomstvo. Při nepohlavním (asexuálním) rozmnožování naopak vzniká potomstvo geneticky uniformní, shodné se svým rodičem (variabilita je zajištěna zejména náhodnými mutacemi). Jedním z typů nepohlavního rozmnožování je apomixe (agamospermie; tyto pojmy se obvykle používají jako synonymum). Podobně jako u sexuálního rozmnožování, i při apomixi dochází k tvorbě semen, nicméně embryo sexuálních semen vzniká oplozením vaječné buňky s redukovaným počtem chromozomů, zatímco embryo apomiktických semen vzniká z neredukované vaječné buňky a k oplození nedochází (Asker & Jerling 1992).

S apomixí se setkáme u 31 ze 63 řádů krytosemenných rostlin (Carman *et al.* 2011), především v čeledích Asteraceae Bercht. & J. Presl, Rosaceae Juss. či Poaceae Barnhart – celkem 75 % apomiktických druhů patří do jedné z těchto čeledí (Bicknell & Koltunow 2004). Apomixe se vyskytuje pouze u 223 rodů krytosemenných rostlin z celkového počtu cca 14 000 a navíc žádný z rodů, v nichž se apomixe vyskytuje, není výhradně apomiktický (Stebbins 1950).

Skutečnost, že je apomixe celkově méně častá než sexuální rozmnožování, vysvětluje několik hypotéz. Vysoká variabilita potomstva zvýhodňuje sexuální rozmnožování v prostředí s vysokým biotickým stresem (Levin 1975), umožňuje osídlit rozdílné niky a také brání akumulaci škodlivých mutací (Muller 1964). U apomixe je teoreticky vyšší riziko akumulace škodlivých mutací (Muller 1964), nižší genetická diverzita potomstva a s tím související omezená schopnost adaptace k prostředí (Hörandl 2006), což může být značná nevýhoda. Z těchto důvodů byl apomixi (resp. nepohlavnímu rozmnožování celkově) tradičně připisován nízký evoluční potenciál a byla považována za slepou uličku evoluce (Stebbins 1950).

Na druhou stranu, apomixe umožňuje založit populaci díky jednomu jedinci (Stebbins 1950; Baker 1967), snižuje závislost na opylovačích (u převážně apomiktických taxonů je obvykle možné samoopylení, pokud je opylení nutné pro tvorbu endospermu – pseudogamie, popř. opylení není vůbec vyžadováno – autonomní apomixe), udržuje vysokou heterozygotnost (Hörandl 2010) a umožňuje rozmnožování semeny i při lichém počtu chromozomových sad (Hojsgaard *et al.* 2014). Tyto výhody mohou mít význam zejména v prostředí, kde může být nedostatek potenciálních partnerů i opylovačů, např. na okraji areálu taxonu. Oba typy rozmnožování mají své výhody a nevýhody a díky tomu se mohou uplatnit v odlišných podmínkách prostředí.

U naprosté většiny skupin schopných se rozmnožovat apomikticky se (i když často jen v omezené míře) vyskytuje i sexuální rozmnožování; obligátní apomikti (rozmnožující se výhradně apomixí)

proto téměř neexistují (Asker & Jerling 1992), jednou z mála výjimek je např. *Miconia albicans* (Sw.) Steud. z čeledi Melastomataceae Juss. (Caetano *et al.* 2013). U fakultativních apomiktů, u nichž je sexuální rozmnožování v určité míře kombinováno s apomixí, je mezi oběma způsoby rozmnožování jistá rovnováha, kterou ovlivňují různé faktory. Skupiny, u nichž existuje zároveň sexuální rozmnožování a apomixe, tak představují ideální modely pro studium rozdílů v evolučním potenciálu obou reprodukčních způsobů a možných rozdílů v ekologických nárocích sexuálních a apomiktických linií.

Naprostá většina apomiktů mezi krytosemennými je polyploidní, zatímco sexuální linie jsou často diploidní. Rod *Boechera* Á. Löve & D. Löve je nejznámějším a nejvíce prozkoumaným taxonem, v němž se vyskytují diploidní apomiktické linie; u jiných taxonů se diploidní apomikti vyskytují jen velmi vzácně. Diploidní apomikt byl zjištěn u druhu *Hieracium aurantiacum* L. (Bicknell 1997) a apomixe u diploidů je možná i u druhu *Paspalum rufum* Nees (Siena *et al.* 2008). Sexuální rozmnožování a apomixe v jediné úrovni ploidie se vyskytují jen u několika taxonů krytosemenných rostlin, např. u tetraploidních ostružiníků *Rubus* ser. *Glandulosi* (Wimm. & Grab.) Focke (Šarhanová *et al.* 2012), u druhu *Ranunculus kuepferi* Greuter & Burdet, kde u diploidů převažuje obligátní sexuální rozmnožování nad fakultativní apomixí, zatímco tetraploidní linie jsou fakultativní až téměř obligátní apomikti (Schinkel *et al.* 2016), a u již zmíněného rodu *Boechera*, v němž se vyskytují diploidní sexuální i apomiktické linie (ale kromě nich i triploidní apomikti; Brukhin *et al.* 2019).

U mnoha taxonů se sexuálně a apomikticky se rozmnožující linie liší svým geografickým rozšířením, což se označuje pojmem geografická partenogeneze. Tento jev byl poprvé popsán v roce 1928 (Vandel 1928) a od té doby byl zjištěn u všech hlavních skupin eukaryot (Tilquin & Kokko 2016). Pro geografickou partenogenezi jsou charakteristické především tyto vztahy: apomikti mají obvykle rozsáhlejší areál než blízké příbuzné sexuální linie, vyskytují se (ve srovnání se sexuálními) ve vyšších nadmořských výškách a zeměpisných šířkách a také se často vyskytují v oblastech v minulosti pokrytých ledovcem (Hörandl 2009). Geografická partenogeneze byla zjištěna např. u taxonů *Antennaria rosea* agg. (Bayer 1990), *Hieracium alpinum* agg. (Mráz *et al.* 2009), *Paspalum simplex* Morong (Urbani *et al.* 2002), *Taraxacum* sect. *Taraxacum* (van Dijk *et al.* 2003b), u rodu *Chondrilla* L. (van Dijk *et al.* 2003b) a u *Ranunculus auricomus* agg. (Hörandl & Paun 2007). U těchto taxonů zpravidla platí, že sexuální linie jsou diploidní a apomikti polyploidní. Geografická partenogeneze byla již dříve známá také u ostružiníků *Rubus* subg. *Rubus* (Asker & Jerling 1992) a v poměrně nedávné době byla zjištěna také u již zmíněných ostružiníků *R.* ser. *Glandulosi* z tohoto podrodu (Šarhanová *et al.* 2012; Forejtová 2019).

1.1.1. Apomixe a současné poznatky o geografické partenogenezi v rodu *Rubus* a v *R.* ser. *Glandulosi*

Rod ostružiník (*Rubus* L.) je taxonomicky velmi komplikovaný kvůli velkému počtu druhů (min. 136 druhů v české flóře; Danihelka *et al.* 2012; Velebil *et al.* 2016; Trávníček *et al.* 2018), značné

fenotypové variabilitě v závislosti na podmínkách prostředí (např. slunné či stinné stanoviště) a existenci množství taxonomicky neklasifikovatelných lokálních typů (Holub 1995), jejichž vznik přímo souvisí s apomixí. U ostružiníků převažuje aposporie, což je typ gametofytické apomixe, kdy neredukovaný zárodečný vak vzniká ze somatické buňky vajíčka (Asker & Jerling 1992). Z hlediska vývoje endospermu se jedná o pseudogamii, při níž je pro tvorbu endospermu vyžadováno oplození centrální buňky zárodečného vaku (Asker & Jerling 1992).

V podrodu *Rubus* se většina taxonů rozmnožuje převážně apomikticky, ale komplex tetraploidních ostružiníků ze série *Glandulosi* (tzv. žláznaté ostružiníky) je v tomto podrodu jednou z výjimek. Jedná se o poléhavé či plazivé ostružiníky zpravidla s trojčetnými listy (Holub 1995). Vyskytují se zpravidla v lesních biotopech, zejména smrkových kulturách, suťových lesích, bylinné vegetaci lesních pasek a ostružiníkových křovinách, křovinách a pionýrských lesících lesních pasek a ve vytrvalé nitrofilní bylinné vegetaci mezických stanovišť; hojně by se měly vyskytovat i v bučinách a dubohabřinách (Pladias – databáze české flóry a vegetace 2021), nicméně mnohem častěji než v těchto (polo)přirozených lesích s obvykle bohatým bylinným patrem se vyskytují ve smíšených lesích se zastoupením smrku, což může být dáno jejich slabou konkurenceschopností i vůči bylinám (B. Trávníček, osobní sdělení).

Od většiny taxonů podrodu *Rubus* se ostružiníky ser. *Glandulosi* liší převahou sexuálního rozmnožování nad apomixí, přičemž sexuální a apomiktický způsob rozmnožování se u tohoto taxonu vyskytují v jedné úrovni ploidie. Díky převažujícímu sexuálnímu rozmnožování se ostružiníky ser. *Glandulosi* velmi často kříží s jinými ostružiníky, např. ze ser. *Discolores* (P.J. Müll.) Focke (Šarhanová *et al.* 2012). Genotyp vzniklý křížením se poté může stabilizovat apomixí, čímž vznikají často pouze lokálně rozšířené biotypy, jež nelze taxonomicky klasifikovat.

Převážně sexuální biotypy *R. ser. Glandulosi* jsou morfologicky značně rozmanité a někdy se zčásti v literatuře označují souborně jako *R. hirtus* agg. (Holub 1995). Areál tohoto taxonu zahrnuje střední Evropu, Balkánský poloostrov a Apeninský poloostrov a na západ zasahuje až do Pyrenejí (Kurtto *et al.* 2010). Série *Glandulosi* dále zahrnuje i několik morfologicky stabilizovaných druhů (mikrospecií), které se rozmnožují převážně apomikticky. Některé z nich se vyskytují např. v česko-německém a česko-polském příhraničí, např. *R. barberi* H.E. Weber, *R. guentheri* Weihe, *R. lividus* G. Braun; jiné např. v Belgii a okolních státech, např. *R. ignoratus* H.E. Weber, *R. iuvenis* A. Beek, *R. oreades* P.J. Müll. & Wirtg. (Kurtto *et al.* 2010).

V předchozích pracích (Šarhanová *et al.* 2012; Forejtová 2019) byla k určení způsobu rozmnožování u ser. *Glandulosi* využita průtoková cytometrie (FCM, *flow cytometry*). Jde o moderní metodu, která umožňuje rychle a přesně stanovit ploidii a obsah DNA v jádře, lze ji využít pro třídění částic, výzkum buněčného cyklu apod. (Suda 2005). K určení způsobu rozmnožování u rostlin se využívá metoda FCSS (*flow cytometry seed screen*), jež umožňuje odhadnout ploidie embrya a endospermu semene z dat o relativní fluorescenci jejich jader ve srovnání se standardem a následně odvodit reprodukční způsob vzniku semen (Matzk *et al.* 2000).

Dle výsledků těchto prací u ser. *Glandulosi* existují čtyři reprodukční způsoby vzniku semen: převažující sexuální rozmnožování, kdy embryo vzniká z redukované oplozené vaječné buňky, apomixe, při níž embryo vzniká z neredukované neoplozené vaječné buňky, a vzácněji se vyskytující dvě odchylky. Bylo zjištěno, že jedinci tvořící převážně apomiktická semena se v rámci střední Evropy vyskytovali v jižních Čechách a kolem hranice České republiky s Německem a Polskem (zde se častěji jednalo o stabilizované apomiktické mikrospecie), zatímco ve zbylých studovaných oblastech se vyskytovaly sexuálně se rozmnožující linie (Šarhanová *et al.* 2012; Forejtová 2019), jež lze alespoň zčásti zařadit do skupiny *R. hirtus* agg.

Z velké části areálu tetraploidních ostružiníků ser. *Glandulosi* však data dosud chybějí, což neumožňuje detailněji charakterizovat vzájemné rozšíření sexuálů a apomiktů. Není také vůbec známo, co odlišnou distribuci sexuálů a apomiktů způsobuje, tedy zda se sexuálové a apomikti liší svými ekologickými nároky, a jsou proto zvýhodňováni v odlišných podmínkách prostředí, nebo zda je tento fenomén dán např. hybridním původem apomiktů či historickými faktory souvisejícími s pleistocenním zaledněním. Na tuto otázku by mohlo přinést odpověď modelování ekologických nik.

1.2. Ekologické modely

Ekologické modelování je užitečným nástrojem v ekologii, používá se v ekologickém výzkumu i v environmentálním managementu (např. modelování environmentální degradace a s tím souvisejících změn klimatu; Petschel-Held *et al.* 1999). Ekologické modelování se od svých počátků v 70. letech minulého století stále rychleji rozvíjí, zejména díky rozvoji počítačové techniky a nárůstu poznatků o vztazích v ekosystémech. Dnes již existují modely pro téměř všechny typy ekosystémů a ekologických problémů. Články zaměřené na ekologické modelování publikuje od roku 1975 specializovaný časopis *Ecological Modelling* (Jørgensen 2009).

V počátcích ekologického modelování se rozlišovaly jen tři typy modelů: biogeochemické a bioenergetické dynamické modely a modely populační dynamiky. Dnes existuje 11 typů modelů; nejpoužívanějšími typy jsou biogeochemické modely, modely populační dynamiky a modely prostorového rozšíření, dalšími méně častými typy jsou modely strukturálně dynamické, stochastické, statické, *fuzzy* modely aj. (Jørgensen 2008).

Ekologické modely se snaží popsat nebo simulovat ekologické jevy a umožňují tím zkoumat vlastnosti ekosystému a testovat statistické hypotézy. Je však nutné mít na paměti, že modely do značné míry zjednodušují realitu, a proto nezahrnují všechny faktory, které studovaný problém ovlivňují, ale zaměřují se především na ty jevy, které mohou mít významnou roli (Jørgensen & Bendoricchio 2001).

Ekologické modely obecně mají pět složek: vynucovací funkce ovlivňují stav ekosystému (např. změny klimatu); stavové proměnné popisují stav ekosystému (např. koncentrace fytoplanktonu v modelech eutrofizace). Matematické rovnice popisují procesy v ekosystému a udávají vztahy mezi vynucovacími funkcemi a stavovými proměnnými. Další složkou modelu jsou parametry

(koeficienty), které jsou pro daný model konstantní, což zpravidla neodpovídá reálné situaci v ekosystému. Poslední složkou ekologických modelů jsou univerzální konstanty; např. atomová hmotnost (Jørgensen & Bendoricchio 2001).

Tvorba modelu se skládá z několika kroků. Nejdříve je nutné definovat problém a vymežit ho časově a prostorově. Za využití reálných dat se ze stavových proměnných vytvoří koncepční diagram a matice sousedství, jež znázorňuje, které stavové proměnné spolu mohou souviset. Podle toho lze rozhodnout, které stavové proměnné, vynucovací funkce a procesy jsou pro daný problém důležité a budou proto do modelu zahrnuty (Jørgensen & Bendoricchio 2001).

Následuje formulování ekosystémových procesů pomocí matematických rovnic – samotná tvorba matematického modelu a s tím související definování parametrů. Parametry jsou konstanty a jejich hodnoty jsou definovány na základě měření, získány z literatury nebo odhadem pomocí kalibrace modelu (Soetaert & Herman 2009). Vyšší množství parametrů může zvyšovat komplexnost modelu a jeho nejistotu (Jørgensen & Bendoricchio 2001).

Dalším krokem je ověření (verifikace), při níž se posuzuje, zda se model chová dle očekávání a zda je dlouhodobě stabilní. Analýza senzitivity zjišťuje senzitivitu ke stavovým proměnným u jednotlivých parametrů, vynucovacích funkcí a dalších složek modelu a umožňuje tak nalézt složky modelu s nejvyšší senzitivitou. Analýza senzitivity se provádí změnou jednotlivých složek modelu a zjišťováním, jak na změnu reagují stavové proměnné. Díky tomu lze zjistit, které proměnné mají největší vliv na celý systém (Jørgensen & Bendoricchio 2001).

Následujícím krokem může být kalibrace, kdy dochází ke změně odhadu parametrů tak, aby se skutečná a namodelovaná data co nejvíce shodovala; v některých typech modelů však není kalibrace nutná. Někdy je ještě potřeba provést druhou analýzu senzitivity a opětovnou kalibraci (Jørgensen & Bendoricchio 2001). Validace testuje spolehlivost modelu – zda model odpovídá reálným datům a chová se dle očekávání (Soetaert & Herman 2009). Model musí zhruba odpovídat reálnému vztahu příčiny a důsledku (strukturální validita) a předpokládané chování ekosystému musí zhruba odpovídat skutečným datům (prediktivní validita) (Jørgensen & Bendoricchio 2001). Pokud chování modelu a jeho výsledky nevyhovují, lze postup opakovat a model znovu formulovat (Soetaert & Herman 2009).

1.2.1. Modelování ekologických nik

Vztah organismů a prostředí určuje rozšíření jednotlivých druhů (resp. taxonů) a je proto důležitým tématem v současném ekologickém výzkumu. Modely ekologických nik jsou prediktivní modely, které umožňují zjistit ekologické nároky a potenciální geografické rozšíření konkrétních druhů, k čemuž využívají známé lokality jejich výskytu a podmínky prostředí v těchto lokalitách (Roubicek *et al.* 2010). Výsledkem modelu je mapa rozdělená na pixely, přičemž v každém pixelu je vypočítána relativní vhodnost prostředí pro daný druh. Modely ekologických nik přitom dokážou predikovat relativní vhodnost prostředí jak v oblastech, kde se druh vyskytuje, tak i v oblastech, kde jeho výskyt

dosud nebyl zaznamenán (Warren & Seifert 2011). Mají využití v ekologii, systematice a konzervačním plánování; umožňují lépe porozumět biogeografii a s tím přímo souvisejícím šíření druhů a bariérám bránícím šíření, předpovědět existenci dosud neobjevených populací a druhů, předpovědět následky environmentálních změn a ztrát habitatu, předpovědět invazní potenciál druhů, najít lokality vhodné pro reintrodukcii druhů aj. (Peterson 2006).

Model vychází z dvojích dat; zaprvé z dat o výskytu druhu ve formě jejich zeměpisných souřadnic a zadruhé z ekologických podmínek těchto stanovišť, jež mohou být reprezentovány klimatickými podmínkami, nadmořskou výškou, půdním typem, vegetačním typem apod. (Philips *et al.* 2006). Ekologické podmínky ovlivňují rozšíření druhu přímo či nepřímo. Klimatické podmínky (především teplota) patří mezi nejdůležitější ekologické podmínky, které ovlivňují rozšíření daného druhu, protože mají na rostlinný organismus a jeho fyziologii přímý vliv; v případě živočichů je vliv alespoň částečně nepřímý (Hirzel & Le Lay 2008). Pro charakterizaci „současných“ klimatických podmínek se nejčastěji používají data za období 30 let (1961–1990) nebo 50 let (1951–2000) (Roubicek *et al.* 2010). Existuje několik globálních databází klimatických dat. Často používaná je databáze Worldclim (Fick & Hijmans 2017; <https://www.worldclim.org/>), jež je založená na datech převážně z období 1951–2000 a jednou z jejích výhod je vysoké prostorové rozlišení na úrovni 1 km, resp. 30 úhlových vteřin (Fick & Hijmans 2017). Databáze Worldclim obsahuje 19 bioklimatických proměnných, např. sezónnost teploty a srážek a jejich průměrné, minimální a maximální hodnoty za určité období (<https://www.worldclim.org/>). Mezi další databáze bioklimatických dat patří např. Daymet (zahrnující jen Severní Ameriku; Thornton *et al.* 1997; <https://daymet.ornl.gov/>) a ENVIREM (Title & Bemmels 2018a; Title & Bemmels 2018b). Výhodou bioklimatických proměnných je, že odrážejí skutečné rozšíření druhu lépe než pouhé měsíční či roční průměry hodnot teploty a srážek (Hirzel & Le Lay 2008). Mezi faktory, které ovlivňují rozšíření druhu nepřímo, patří např. topografické podmínky (např. svažitost terénu), jež korelují s teplotou a srážkami, ale např. i s vodním a půdním režimem a rozmanitostí krajiny (Hirzel & Le Lay 2008).

Pro tvorbu modelu existuje mnoho matematických a statistických metod (algoritmů). Neexistuje totiž jeden univerzální, „nejlepší“ algoritmus, který by byl vhodný za všech okolností, vždy je vhodné nejprve testovat schopnost predikce algoritmu za konkrétních podmínek (Qiao *et al.* 2015). Jedním z nejpoužívanějších a v mnoha ohledech nevhodnějších algoritmů je Maxent (Philips *et al.* 2006). Druhou velmi používanou metodou je GARP (*Genetic Algorithm for Rule-set Prediction*), mezi ostatní metody patří např. Marble, BIOCLIM a GLM (*Generalized Linear Models*); různé metody se liší mj. tím, jaká data (přítomnost; pseudo-nepřítomnost, tj. absenci dat o možné přítomnosti druhu v dané oblasti; či prokázanou nepřítomnost druhu) využívají pro tvorbu modelu (Qiao *et al.* 2015).

Algoritmus Maxent predikuje potenciální rozšíření druhu na základě dat o jeho přítomnosti a pseudo-nepřítomnosti (nikoli nepřítomnosti; data o nepřítomnosti jsou navíc často nedostupná). Model je založený na maximální entropii a zaručuje tak optimální pravděpodobnostní distribuci. Oblasti s vhodnými a nevhodnými ekologickými podmínkami pro zkoumaný druh rozlišuje lépe než

metoda GARP. Mezi výhody této metody patří, že při tvorbě modelu lze využít kontinuální i kategoriální proměnné a lze i zohlednit vztahy mezi nimi. Výhodou je i to, že pravděpodobnostní distribuce je relativně jednoduše a stručně matematicky definována (Philips *et al.* 2006). Maxent je jedním z algoritmů nejméně citlivých na velikost vzorku a i při menší velikosti vzorku má dobrou schopnost predikce (Wisniewski *et al.* 2008).

Metoda GARP patří rovněž mezi často používané metody. Existují dvě její varianty: DK-GARP, jež je využívána k modelování dat např. z herbářových a muzejních databází, a OM-GARP, což je novější varianta s upravenými algoritmy (Elith *et al.* 2006). Metoda využívá dvojí data o výskytu daného druhu: data o přítomnosti a o pseudo-nepřítomnosti druhu, tzv. pozadí (náhodně vybrané body z geografického prostoru; Stockwell & Peters 1999). Metoda OM-GARP má při srovnání s jinými metodami jednu z nejlepších performancí při menší velikosti vzorku (Wisniewski *et al.* 2008).

Obecně výsledek modelu a jeho přesnost závisí na mnoha faktorech. Důležitý je výběr algoritmu vhodného za daných okolností (Elith *et al.* 2006; Qiao *et al.* 2015). Zásadní vliv na přesnost modelu má množství záznamů o výskytu zkoumaného druhu – se zmenšováním vzorku se obecně snižuje přesnost modelu a narůstá variabilita mezi různými použitými metodami; různé metody jsou totiž různě citlivé na velikost vzorku (Wisniewski *et al.* 2008). Přesnost modelu snižuje také zkreslení ve sběru vzorků – např. pokud jsou velké rozdíly v počtu vzorků jednotlivých druhů; vzorky jsou častěji sbírány v určitém prostředí, např. poblíž měst nebo silnic, přestože se zkoumané druhy vyskytují i dále od infrastruktury; počet vzorků nekoresponduje s velikostí areálu jednotlivých druhů apod. (Hijmans *et al.* 2000). Pokud je sběr vzorků zkreslený, nedá se rozlišit, zda daný druh preferuje ty lokality, na nichž byly vzorky sebrány, či zda bylo těmto lokalitám při sběru vzorků věnováno větší úsilí; úsilí při sběru vzorků a tím způsobené zkreslení však lze při tvorbě modelu zohlednit pomocí různých metod (Merow *et al.* 2013). Pro model je dále důležitá i komplexnost environmentálních dat (Peterson & Cohoon 1999), ta je zásadní např. pro schopnost predikce invazního potenciálu druhu (Peterson & Nakazawa 2008). Výsledek modelu lze ovlivnit i výběrem pozadí (oblasti, z níž budou náhodně vybrány body pseudo-nepřítomnosti), v případě, že již máme prvotní představu o rozšíření daného druhu (Merow *et al.* 2013).

Měřítkem úspěšnosti (performance) modelu může být ROC křivka (*receiver operating characteristic*), kterou lze vyjádřit jedinou hodnotou, plochou pod touto křivkou (AUC – *area under the curve*), což umožňuje jednoduché srovnání úspěšnosti modelů vytvořených různými algoritmy (Maxent, GARP aj.). Náhodná predikce odpovídá AUC = 0,5, maximální hodnota AUC může být 1. Úspěšnost modelu také udává míra vynechání (*omission rate*), což je podíl testovacích lokalit, jež se vyskytnou v pixelech modelu, v nichž nejsou predikovány vhodné podmínky, a proporční predikovaná oblast (*proportional predicted area*), udávající podíl pixelů modelu, v nichž jsou predikovány vhodné podmínky pro daný druh. V grafu jsou tyto proměnné zobrazovány jako funkce své kumulativní prahové hodnoty (Philips *et al.* 2006).

Pokud hodnotíme niky dvou druhů (např. sesterských druhů) či linií stejného druhu, můžeme stanovit jejich překryv např. pomocí metrik D (Schoener 1968) nebo I (Warren *et al.* 2008), jež udávají potenciál těchto dvou druhů nebo linií interagovat spolu v určitém geografickém území a mohou nabývat hodnot od 0 (niky a tím ani potenciální areály druhů se vůbec nepřekrývají) do 1 (niky se zcela překrývají, a proto je potenciální rozšíření obou druhů či linií identické; Warren *et al.* 2021). Pro určení překryvu nik dvou alespoň částečně alopatrických druhů slouží *background test* – test podobnosti (Warren *et al.* 2008), při němž se pro tvorbu modelu nulové distribuce využívají náhodně vybrané body z oblasti, v níž se daný druh či linie vyskytuje; zamítnutí nulové hypotézy znamená, že se niky těchto druhů liší více, než jak by se dalo čekat s ohledem na geografické rozšíření obou druhů (Warren *et al.* 2021). Pro určení překryvu nik sesterských druhů existuje také test identity (*identity test*; Warren *et al.* 2008), jenž určuje, zda jsou identické realizované niky těchto druhů. Model nulové distribuce vychází z opakovaných náhodných přiřazení konkrétních vzorků k jednomu z daných druhů; po každém takovém opakování je vytvořen model a následně se zjišťuje překryv mezi modely (Warren *et al.* 2021).

2. Cíle práce

Cílem této práce je pokračovat (v návaznosti na předchozí bakalářskou práci: Forejtová 2019) v analýze dalších vzorků semen taxonu *Rubus* ser. *Glandulosi* z regionů, v nichž je dosud k dispozici nedostatek dat, metodou průtokové cytometrie (FCSS, *flow cytometry seed screen*) a tím zpřesnit obraz distribuce sexuálně a apomikticky se reprodukcujících populací této skupiny. Dalším cílem je pak využít získaná data k modelování ekologických nik sexuálů a apomiktů s cílem zjistit, zda existují rozdíly v jejich ekologických požadavcích.

3. Materiál a metody

3.1. Analýza vzorků pomocí průtokové cytometrie

3.1.1. Rostlinný materiál

Pro analýzu byla použita semena tetraploidních ostružiníků *Rubus* ser. *Glandulosi* z různých lokalit v České republice, Německu, Polsku, Rakousku, Slovensku, Maďarsku, Slovinsku, Chorvatsku, Itálii, Francii a Nizozemí. Vzorky byly sbírány v dosud neanalyzovaných oblastech (především v těch, kde bylo možné očekávat hranici rozšíření sexuálních a apomiktických linií; Příloha 8). Vzorky sbírali: Michal Sochor, Bohumil Trávníček, Věra Forejtová, Friedrich Sander, Gergely Király, Martin Lepší, Abraham van de Beek, Filippo Prosser, Michal Hroneš, Michael Hohla, Konrad Pagitz, Petr Lepší, Pavol Eliáš jun., András Schmotzer, Jiří Hadinec, Piotr Kosiński, Peter Venema, Rudolf Hlaváček, Vojtěch Žíla a Zoltán Barina. Každý vzorek obsahoval semena pocházející z jednoho jedince. Ke vzorkům byly sebrány herbářové položky, jež jsou uloženy v herbáři Katedry botaniky Univerzity Palackého v Olomouci (OL) nebo v soukromých herbářích uvedených sběratelů.

3.1.2. Příprava a analýza vzorku

Z každého vzorku (jedince) bylo analyzováno 10 zralých, neabortovaných semen, příp. méně kvůli malému počtu použitelných semen. Každé semeno bylo analyzováno samostatně. Semeno bylo nejdříve rozříznuto žiletkou na poloviny či čtvrtiny. Vnitřek semene (embryo a endosperm) byl dále použit pro analýzu, endokarp byl odstraněn. Jako interní standard byl použit malý kousek listu (cca 0,25 cm² či méně) *Pisum sativum* L. 'Ctirad' (2C = 8,76 pg; Greilhuber *et al.* 2007). Embryo a endosperm semene byly spolu se standardem dohromady nasekány v Petriho misce s 0,5 ml LB01 pufru {15 mM Tris [Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan], 2 mM Na₂EDTA (kyselina ethylendiamintetraoctová), 0,5 mM sperminu, 80 mM KCl, 20 mM NaCl, 0,1% Triton X-100 (oktylfenol ethoxylát); Doležel *et al.* 1989} obsahujícího PVP 40 (polyvinylpyrrolidon; 20 g L⁻¹) a 2-merkptoethanol (550 μL L⁻¹), pH = 7,8. Tato suspenze byla poté přefiltrována přes nylonový filtr o velikosti pórů 42 μm do kyvety, aby byly odfiltrovány větší části buněk od analyzovaných jader. K suspenzi bylo dále přidáno 0,7 ml LB01 pufru a 50 μl barviva DAPI (finální koncentrace 4 μg mL⁻¹). Suspenze jader byla po promíchání analyzována průtokovým cytometrem CyFlow ML (Partec, Münster, Německo) s LED zdrojem excitačního UV záření (365 nm, 10 mW). Rychlost průtoku byla nastavena na přibližně 10 jader/s, celkem bylo analyzováno 3 000 jader z každého semene.

Pro embryo, endosperm a standard byly zaznamenány průměrná pozice peaku a variační koeficient (CV, *coefficient of variation*); tyto hodnoty byly určeny programem FloMax (Partec, Münster, Německo). Pokud byl CV > 5, byla data ořezána (tzv. gatování). Průměrný CV embrya byl 4,26, endospermu 3,95 a standardu 3,55. Ploidie embrya byla vypočítána podle vzorce: pozice peaku embrya/pozice peaku standardu/0,045, což je koeficient, jež odpovídá relativní fluorescenci jedné sady

chromozomů ostružiníku vůči hrachu a byl vypočítán díky předchozím měřením vzorků o známé ploidii (M. Sochor, osobní sdělení). Ploidie endospermu byla vypočítána ze vzorce: pozice peaku endospermu \times ploidie embrya/pozice peaku embrya.

Podle ploidie embrya a endospermu byl určen způsob rozmnožování, kterým vznikla jednotlivá semena. Způsoby byly následující: redukovaná oplozená vaječná buňka (sexuální rozmnožování), neredukovaná neoplozená vaječná buňka (apomixe) a 2 odchylky – redukovaná neoplozená vaječná buňka a neredukovaná oplozená vaječná buňka. Očekávané ploidie embrya a endospermu a jejich poměry u jednotlivých způsobů rozmnožování znázorňuje Tab. 1. Semena, jež obsahovala jedno embryo a dva endospermy či naopak (tedy dva zárodečné vaky), byla počítána jako dvě semena.

Na základě celkového podílu apomiktických semen byly vzorky (resp. jedinci) klasifikovány do tří kategorií. Jako sexuální byli klasifikováni jedinci s maximálně 10 % apomiktických semen. Jako fakultativně apomiktičtí byli klasifikováni jedinci, kteří měli minimálně 40 % semen apomiktických. Jedinci s více než 10 % a méně než 40 % apomiktických semen byli klasifikováni jako fakultativně sexuální.

Tab. 1. – Očekávané ploidie embrya a endospermu a jejich poměry u jednotlivých způsobů vzniku semen *Rubus* ser. *Glandulosi* (za účasti redukované mikrospory – pylového zrna); red. opl. – redukovaná oplozená vaječná buňka (sexuální rozmnožování), nered. neopl. – neredukovaná neoplozená vaječná buňka (normální apomixe), red. neopl. – redukovaná neoplozená vaječná buňka, nered. opl. – neredukovaná oplozená vaječná buňka.

Vznik semen	Ploidie embrya	Ploidie endospermu	Poměr ploidie embrya a endospermu
red. opl.	4x (n + n)	6x (2n + n)	2:3
nered. neopl.	4x (2n + 0)	10x (4n + n)	2:5
red. neopl.	2x (n + 0)	6x (2n + n)	1:3
nered. opl.	6x (2n + n)	10x (4n + n)	3:5

3.2. Modelování ekologických nik a testy překryvu nik

Pro modelování ekologických nik pro sexuální a fakultativně apomiktické jedince *Rubus* ser. *Glandulosi* byl využit program Maxent 3.4.0 (Philips *et al.* 2006). V tomto programu byly vytvořeny mapy relativní vhodnosti prostředí za současných ekologických podmínek (s cílem zjistit, zda důvodem geografické partenogeneze mohou být rozdíly v ekologických nikách sexuálů a apomiktů) a za podmínek posledního glaciálního maxima (LGM – *last glacial maximum*, cca 22 000 let BP; s cílem zjistit, zda geografická partenogeneze může mít původ v historickém výskytu ostružiníků během LGM a následné migraci do současného areálu). Modely byly vytvořeny na základě bioklimatických a dalších ekologických proměnných a geografických souřadnic známých lokalit sexuálních a apomiktických jedinců.

Ze všech dostupných dat *R. ser. Glandulosi*, tj. z nových dat a dat z prací Šarhanová *et al.* (2012) a Forejtová (2019), byl vybrán maximální počet vzorků tak, aby mezi jejich lokalitami byla minimální vzdálenost 15 km, s cílem vyhnout se potenciálnímu zkreslení modelu způsobenému nahloučením vzorků. Výběr byl proveden zvlášť pro sexuální vzorky, fakultativně apomiktické vzorky a všechny dosud analyzované vzorky bez ohledu na jejich klasifikaci; bylo vybráno 93 sexuálních vzorků (78,15 % všech sexuálních vzorků), 57 fakultativně apomiktických vzorků (72,15 % všech fakultativně apomiktických vzorků) a 142 všech vzorků (67,62 % všech dosud analyzovaných vzorků).

Při tvorbě modelů bylo využito celkem 45 proměnných: 19 bioklimatických proměnných a jedné proměnné vyjadřující nadmořskou výšku z databáze Worldclim ver. 2.1 (Fick & Hijmans 2017; <https://www.worldclim.org/>), 18 bioklimatických proměnných z databáze ENVIREM 1.0 (Title & Bemmels 2018a; Title & Bemmels 2018b), tři proměnných vyjadřujících vegetační pokrývnost z FAO - GeoNetwork (<http://www.fao.org/>), tři proměnných vyjadřujících heterogenitu habitatu z databáze EarthEnv (Tuanmu & Jetz 2015; <http://www.earthenv.org/>) a jedné proměnné vyjadřující pH půdy z Atlas of the Biosphere (<http://nelson.wisc.edu/>). Ve všech těchto případech se jednalo o kontinuální proměnné. Pokud to bylo možné, byla použita data s velikostí zrna 30 úhlových vteřin.

Pro tvorbu modelů odpovídajících současným podmínkám byly použity vrstvy ořezané v programu QGIS 3.4.5 (QGIS Development Team 2018) na tvar obdélníku přesahujícího areál změřených vzorků o cca 100 km, tedy o rozsahu cca 4,368; 24,826; 43,835; 54,339 (v pořadí Z, V, J, S). Byla použita data s velikostí zrna 30 úhlových vteřin. Z celkových 45 proměnných bylo 21 použito v analýze (Příloha 1), zbývající proměnné byly vyloučeny kvůli vysoké korelaci s jinými proměnnými (Pearsonův korelační koeficient $>0,8$; vypočítáno v programu ENMTools 1.0.1; Warren *et al.* 2010). Vysoce korelované proměnné byly postupně náhodně vyřazovány do doby, než zbyly jen navzájem málo korelované proměnné ($<0,8$). Modely byly vytvořeny pro sexuální, apomikty (s cílem zjistit možné rozdíly mezi potenciálním rozšířením sexuálů a apomiktů a které proměnné jsou pro jejich rozšíření nejrelevantnější) a pro analyzované vzorky dohromady bez ohledu na jejich klasifikaci dle způsobu rozmnožování (s cílem zjistit celkové potenciální rozšíření tetraploidních *R. ser. Glandulosi*).

Pro tvorbu modelů s projekcí do období LGM byly použity vrstvy širěji ořezané tak, aby zahrnovaly alespoň střední a jižní Evropu. Jednalo se o data o velikosti zrna 2,5 úhlových minut, protože data s velikostí zrna 30 úhlových vteřin nebyla pro období LGM dostupná. Byly vytvořeny dva modely s projekcí na vrstvy CCSM4 (*Community Climate System Model*, verze 4; Gent *et al.* 2011) a dva modely s projekcí na MIROC-ESM (*Model for Interdisciplinary Research on Climate – Earth System Model*; Watanabe *et al.* 2011), navzájem se lišící geografickým rozsahem a souborem použitých proměnných. V prvních dvou CCSM4 a MIROC-ESM modelech (varianta 1) byly použity pouze proměnné z databáze ENVIREM, z nichž proměnné GrowingDegDays0, GrowingDegDays5 a thermicityIndex byly vyřazeny kvůli vysoké korelaci s jinými proměnnými (Pearsonův korelační koeficient $>0,9$; vypočítáno v programu ENMTools 1.0.1; Warren *et al.* 2010). Ve výsledných

modelech bylo použito 13 proměnných (Příloha 1). Tyto modely zahrnovaly celé území Evropy, vrstvy měly rozsah cca -31,292; 47,875; 33,583; 81,542 (v pořadí Z, V, J, S).

V druhých dvou modelech pro LGM (varianta 2) byly použity proměnné ze souborů Worldclim a ENVIREM použité při tvorbě modelů za současných podmínek (Příloha 1; ostatní proměnné použité při tvorbě modelů pro současné podmínky nebyly pro období LGM dostupné), nicméně proměnná bio2 byla vyřazena kvůli výskytu velmi odlišných hodnot v tréninkové a projekční vrstvě. Vrstvy byly ořezány tak, aby zahrnovaly především jižní Evropu (předpokládanou oblast výskytu *R. ser. Glandulosi* během LGM) a střední Evropu (oblast původu vzorků použitých pro tvorbu modelu), rozsah vrstev byl přibližně -12; 47,5; 33,583; 55 (v pořadí Z, V, J, S).

Všechny modely s projekcí do období LGM byly vytvořeny pro vzorky dohromady bez ohledu na jejich klasifikaci, protože dílčí model pro apomikty a sexuály samostatně příliš neodpovídal skutečnému rozšíření, zatímco model zahrnující všechny kategorie vzorků dohromady dobře odpovídal současnému výskytu *R. ser. Glandulosi*. Vrstvy pro současné podmínky byly použity jako tréninkové a vrstvy pro LGM jako projekce. Ve všech modelech pro LGM byly body pozadí (pseudonepřítomnost) vybírány do vzdálenosti 200 km od bodů přítomnosti.

Byly vyzkoušeny různé hodnoty parametrů modelů tak, aby modely co nejlépe odpovídaly skutečným datům o výskytu obou reprodukčních způsobů. Změny nastavení většiny parametrů modelu (s výjimkou parametru *regularization multiplier*) a změny minimální vzdálenosti mezi lokalitami vzorků měly na výsledné modely pouze malý vliv. Ve výsledných modelech pro současné podmínky byl parametr *regularization multiplier* nastaven na hodnotu 6, v modelech pro LGM na hodnotu 2 (varianta 1), resp. 4 (varianta 2).

Ve všech modelech byl povolen parametr *fade by clamping* a většina parametrů byla ponechána ve výchozím nastavení. Modely byly vytvořeny v logistickém formátu, každý výsledný model byl získán zprůměrováním 10 nezávislých opakování. Jako testovací pro výpočet ROC křivky (*receiver operating characteristic*) bylo náhodně vybráno 20 % lokalit vzorků a tyto vzorky byly při testovacím procesu náhodně odstraňovány bez náhrady (metoda *subsample*). Mapy všech modelů byly upraveny v programu QGIS 3.4.5.

V balíku ENMTools (Warren *et al.* 2021) pro R (R Development Core Team 2020) byly provedeny testy překryvu nik mezi sexuály a apomikty – *background* test a test identity s využitím balíku Ecospat (Di Cola *et al.* 2016); použity byly tytéž proměnné jako při tvorbě modelů pro současné podmínky (viz výše) o rozsahu vrstev cca 2; 28; 42; 55 (v pořadí Z, V, J, S). Bylo použito pozadí zahrnující území v okruhu 200 km kolem každé lokality, v němž bylo náhodně vybráno 1 000 bodů, jako hranice pro vyloučení příliš nízkých hodnot druhové a environmentální denzity byl nastaven 5% kvantil a počet pseudoreplikací byl nastaven na 999. Míra překryvu nik byla určena metrikami D (Schoener 1968) a I (Warren *et al.* 2008).

4. Výsledky

4.1. Analýza vzorků pomocí průtokové cytometrie

Semena *Rubus ser. Glandulosi* byla analyzována metodou průtokové cytometrie (FCSS). Výjimečně byla zjištěna semena bez embrya či bez endospermu, taková semena byla z analýzy vyřazena. Celkem bylo analyzováno 1 467 semen ze 155 vzorků (jedinců).

Sexuální semena (redukováná oplozená vaječná buňka) tvořila 64,76 % semen, apomiktická semena (neredukovaná neoplozená vaječná buňka) tvořila 28,97 % semen. V menší míře byly zjištěny odchylky: neredukovaná oplozená vaječná buňka (3,00 % semen) a redukováná neoplozená vaječná buňka (3,27 % semen) (Obr. 1). Semena vzniklá z redukováné vaječné buňky tvořila celkem 68,03 %, z toho 95,19 % bylo oplozených (sexuální rozmnožování). Semena vzniklá z neoplozené vaječné buňky tvořila 32,24 % semen, z toho u 89,85 % byla vaječná buňka neredukovaná (apomixe).

U sexuálních semen tvořila 97,58 % semena s tetraploidním embryem. Z toho u naprosté většiny (98,60 %) byla ploidie endospermu 6x (příklad FCSS histogramu – Příloha 2b), 1,29 % semen s tetraploidním embryem mělo endosperm s ploidii 5x nebo 7x (což bylo většinou pravděpodobně způsobeno jen nepřesností v měření a následném zaokrouhlení). Několik semen z různých vzorků obsahovalo 8x endosperm, ale kromě jednoho semene (vzorek MS 198/20, v němž byla všechna ostatní semena sexuální), u něhož lze předpokládat sexuální vznik, byla tato semena vyřazena, protože u nich nelze s jistotou rozhodnout o způsobu jejich vzniku (sexuální či apomiktický). Čtyři semena (0,42 % všech sexuálních semen) měla embryo 5x, z nich dvě semena měla endosperm s ploidii 7x a dvě s ploidii 8x. Celkem 19 semen (většinou ze vzorků MS 78/13 a Pelec, které zřejmě pocházely z hexaploidních mateřských jedinců) mělo 6x embryo a 9x endosperm.

Všechna apomiktická semena měla tetraploidní embryo. Ploidie endospermu (Obr. 2) byly nejčastěji 10x (52,0 % apomiktických semen; příklad histogramu – Příloha 2c), 12x (33,88 %; Příloha 2e) a 11x (7,53 %; Příloha 2d). Další ploidie byly zastoupeny jen několika semeny: 13x a 14x (vždy sedm semen, 1,65 %), 16x (šest semen, 1,41 %), 9x a 17x (vždy tři semena, 0,71 %), 15x (dvě semena, 0,47 %). Rozlišení mezi nejvyššími stupni ploidie však může být z různých důvodů sporné.

Většina semen (95,45 %) vzniklých z neredukované oplozené vaječné buňky měla hexaploidní embryo. Většina z těchto semen (83,33 %) měla endosperm o ploidii 10x, dvě semena (4,76 %) měla 8x endosperm, dvě semena měla 9x a tři (7,14 % semen s 6x embryem) měla 12x endosperm (příklad histogramu – Příloha 2f). Zbývající dvě semena měla oktoploidní embryo, z nich jedno mělo endosperm o ploidii 10x a druhé 12x.

Semena vzniklá z redukováné neoplozené vaječné buňky měla vždy diploidní embryo (dihaploidii *sensu* Nogler (1984), vzniklí z redukováné neoplozené vaječné buňky). Většina (85,42 %) z nich měla endosperm 6x (příklad histogramu – Příloha 2a), ze zbývajících semen šest semen (12,5 %) mělo

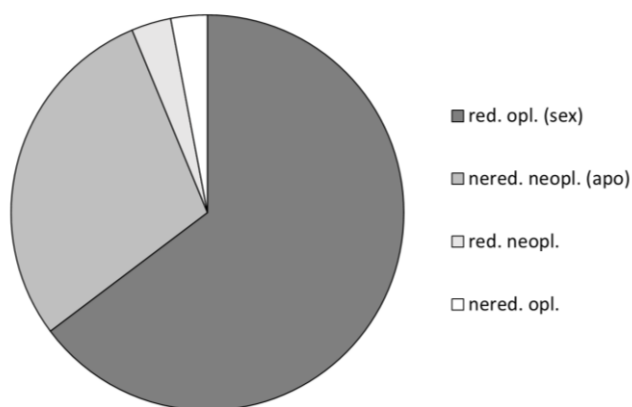
5x a jedno semeno (2,22 %) mělo 7x endosperm (často však mohlo jít jen o nepřesnost v měření a následném zaokrouhlení po výpočtu ploidie).

Několik semen obsahovalo zároveň sexuální a apomiktický zárodečný vak (což bylo v histogramu z FCSS detekovatelné jako jeden peak embrya a dva peaky endospermu). Ploidie embrya byla ve všech těchto případech 4x a ploidie sexuálního endospermu byla vždy 6x, z apomiktických endospermů měl jeden ploidii 10x, dva 12x a jeden 17x. Jedno semeno obsahovalo dokonce tři zárodečné vaky – sexuální (embryo 4x, endosperm 6x) a dva apomiktické (embryo 4x, endosperm 12x a 16x). U jednoho semene byl zjištěn rovněž sexuální zárodečný vak a dihaploidní embryo (z redukované neoplozené vaječné buňky).

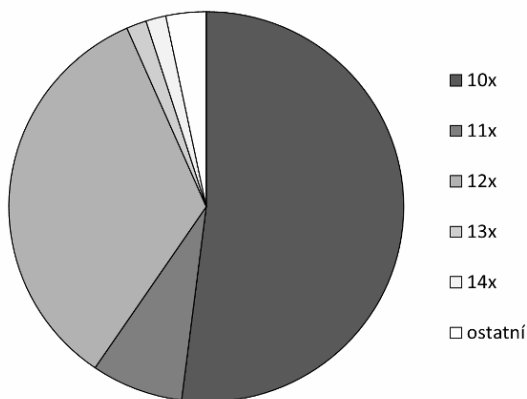
Podíl jednotlivých způsobů vzniku semen se mezi vzorky (jedinci) výrazně lišil (Příloha 8). U 67 vzorků obsahujících alespoň pět semen (45,27 % těchto vzorků) byla všechna semena ve vzorku sexuální, naopak u sedmi vzorků obsahujících alespoň pět semen (4,73 % těchto vzorků) nebylo zjištěno žádné sexuální semeno. U 69 vzorků s alespoň pěti semeny (46,62 % těchto vzorků) nebylo zaznamenáno žádné apomiktické semeno, naopak u tří vzorků s 10 změřenými semeny byla všechna apomiktická. Odchytky od těchto dvou způsobů vzniku semen byly v menšině, nicméně nejvyšší podíl semen vzniklých z redukované neoplozené vaječné buňky byl 50 % a nejvyšší podíl semen vzniklých z neredukované oplozené vaječné buňky byl 44,4 %.

Jedinci, z nichž semena pocházela, byli zpravidla tetraploidní. Výjimkou byly vzorky MS 78/13 a Pelec; tito jedinci byli pravděpodobně hexaploidní, čemuž odpovídaly i ploidie embrya a endospermu semen. Všechna semena z obou vzorků byla sexuální. V případě vzorku MS 78/13 mělo všech 10 semen ploidii embrya 6x a ploidii endospermu 9x, ve vzorku Pelec byla dvě semena s 5x embryem a 8x endospermem a zbývajících sedm semen mělo 6x embryo a 9x endosperm.

Vzorky (resp. jedinci) byly dále klasifikovány podle podílu apomiktických semen. Jako sexuální bylo klasifikováno 82 (52,90 %) vzorků, jako fakultativně sexuální osm (5,16 %) vzorků a jako (fakultativně či domněle striktně) apomiktické 65 (41,94 %) vzorků.



Obr. 1. – Reprodukční způsoby vzniku analyzovaných semen; red. opl. – redukovaná oplozená vaječná buňka (sexuální rozmnožování), nered. neopl. – neredukovaná neoplozená vaječná buňka (apomixie), red. neopl. – redukovaná neoplozená vaječná buňka (dihaploidní embryo), nered. opl. – neredukovaná oplozená vaječná buňka.



Obr. 2. – Ploidie endospermu u apomiktických semen; ostatní – 9x, 15x, 16x, 17x.

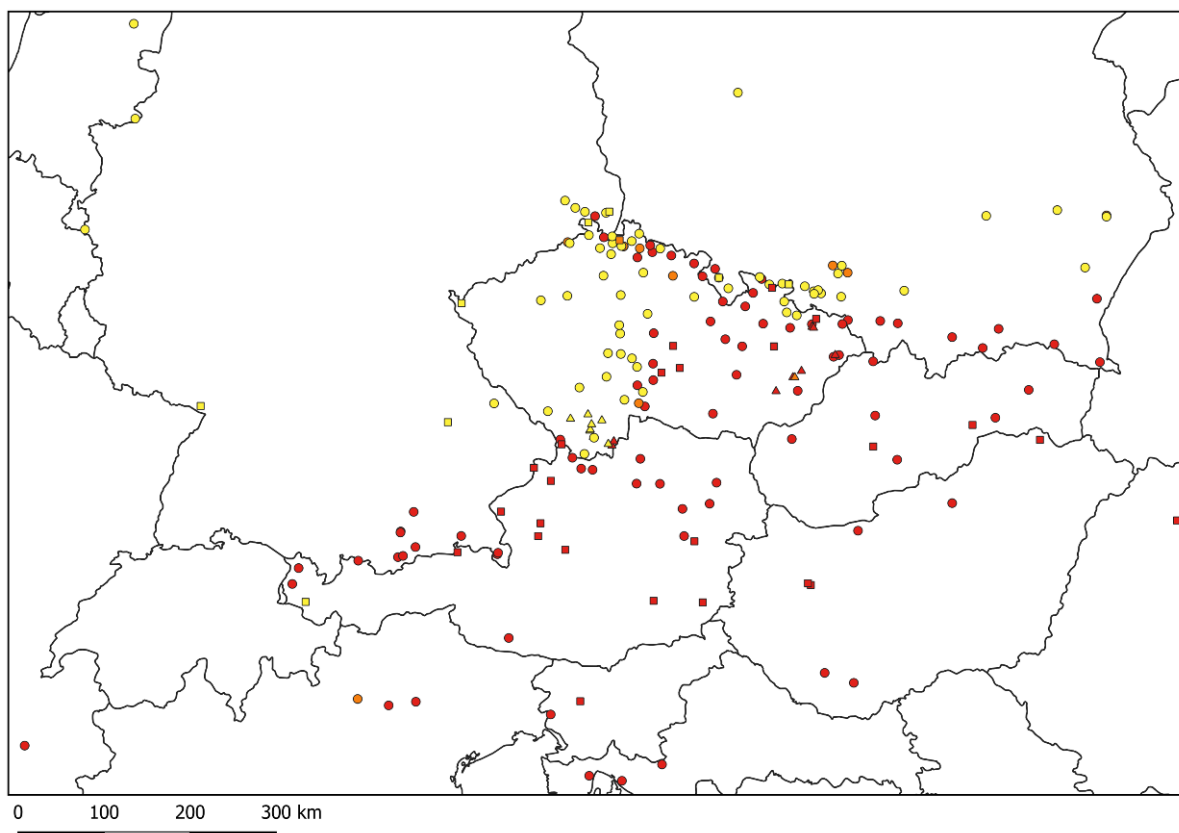
4.2. Geografická partenogeneze

Výskyt apomiktických a sexuálních jedinců se geograficky lišil. Fakultativní apomikti byli již v dřívějších pracích zaznamenáni převážně v jižních Čechách (Šarhanová *et al.* 2012) a česko-německém a česko-polském pohraničí (Forejtová 2019). Nová data odhalila výskyt apomiktů i na většině území Čech a v Polsku. Sexuální jedinci byli zaznamenáni na Moravě, částečně v severních Čechách, v jižní části Slezska, jihu Polska, v Rakousku, Maďarsku, na Slovensku a v několika dalších státech jižní Evropy.

Na základě všech existujících dat lze konstatovat, že hranice areálů sexuálů a apomiktů prochází Německem, Českou republikou a Polskem přibližně ve směru od jihozápadu k severovýchodu. Apomikti se vyskytují v severozápadní části areálu *R. ser. Glandulosi* a sexuálové v té jihovýchodní, přičemž areály apomiktů a sexuálů se překrývají jen málo (Obr. 3). Sexuálové však svým výskytem zasahují přes východní Čechy (Orlické hory a Broumovský výběžek) až do severních Čech (Krkonoše a Lužické hory), kde byl zjištěn výskyt sexuálních jedinců spolu s apomiktickými, první z nich však většinou jen v oreofytiku. Nejdále byl sexuální jedinec zjištěn na německé straně hranic u Šluknovského výběžku (vzorek FS 8/19).

Mezi analyzovanými vzorky *Rubus ser. Glandulosi* v podstatě nebyli zjištěni sexuální jedinci uvnitř areálu apomiktů či naopak (s výjimkou zřejmě jen velmi úzkého pásu výskytu sexuálů, vedoucího oreofytikem Orlických hor, Krkonoš a Lužických hor, kde se sexuálové vyskytují spolu s apomikty, a ostatních oblastí blízko hranice areálu sexuálů a apomiktů). Ve všech sexuálních vzorcích od vzorku MS 12/21 (Krkonoše) na západ do Lužických hor bylo zjištěno vždy jedno apomiktické semeno a příp. i semena s dihaploidním embryem (vzniklým z redukované neoplozené vaječné buňky). V oblastech výskytu sexuálů, dále od hranice areálu apomiktů, však bylo v sexuálních vzorcích pouze ojediněle zjištěno apomiktické semeno či semena s embryi vzniklými z redukované neoplozené či neredukované oplozené vaječné buňky. V sexuálním vzorku bylo apomiktické semeno

zjištěno nejdále ve vzorku MS 212/20 pocházejícím z Moravského krasu, jenž byl vzdálen 93 km od nejbližšího apomiktického vzorku MS 189/20 pocházejícího z Bruntálska.



Obr. 3. – Mapa lokalit vzorků *Rubus ser. Glandulosi*, klasifikovaných podle podílu apomiktických semen; nová data (kruhy), data z prací Šarhanová et al. (2012) (trojúhelníky) a Forejtová (2019) (čtverce); sexuální (červeně), fakultativně sexuální (oranžově) a fakultativně apomiktický (žlutě) vzorek.

4.3. Modelování ekologických nik a testy překryvu nik

Výsledný model ekologických nik sexuálů za současných podmínek (Příloha 3a) předpověděl relativně nejvhodnější podmínky prostředí (relativní vhodnost prostředí $>0,7$) zejména v Alpách (např. Vysoké Taury) a Dolomitech, Karpatech, Slezsku a přilehlých částech Moravy, příp. Českomoravské vrchovině a severních Čechách, což přibližně odpovídá skutečnému rozšíření sexuálů. Nicméně vhodné podmínky jsou předpokládány i ve velké části mezofytika Čech či jižního Polska, tedy v areálu apomiktů, kde sexuálové nebyli zjištěni. Naopak v oblastech, kde jsou dle výsledků modelu nejméně vhodné podmínky prostředí (relativní vhodnost prostředí do 0,1; v rámci České republiky české a panonské termofytikum, rozsáhlejší území v ostatních částech Evropy – např. severní část Polska a Německa a Panonská nížina), byli sexuálové zjištěni jen ojediněle nebo vůbec. Průměr AUC z 10 opakování modelu byl 0,917 a směrodatná odchylka 0,028. Do modelu nejvíce přispěly vrstvy 04-Tree Covered Area (pokrytí stromy; 38,1 %), tri (index nerovnosti terénu; 22,4 %) a bio15 (sezónnost srážek – CV; 13,1 %).

Na rozdíl od sexuálů, model ekologických nik apomiktů příliš neodpovídal jejich skutečnému výskytu (Příloha 3b). Model předpověděl nejvhodnější podmínky prostředí (relativní vhodnost prostředí $>0,7$) zejména na severní Moravě a ve Slezsku, v západní části Českomoravské vrchoviny a v severních Čechách (tedy v oblastech, kterými probíhá hranice rozšíření sexuálů a apomiktů), ale i ve východní části Českomoravské vrchoviny, západních Karpatech a v Dolomitech, přestože v těchto dvou oblastech se vyskytují sexuálové, ale výskyt apomiktů zde nebyl zjištěn. Průměr AUC z 10 opakování modelu byl 0,894 a směrodatná odchylka 0,048. Do modelu podobně jako u sexuálů nejvíce přispěla vrstva 04-Tree Covered Area (pokrytí stromy; 33 %), dále vrstvy bio15 (sezónnost srážek – CV; 24,3 %) a continentality (stupeň kontinentality; 9,2 %).

V některých oblastech byly dle modelů relativně nejvhodnější podmínky pro sexuály i apomikty zároveň, zejména v Dolomitech, na Moravě, ve Slezsku a Českomoravské vrchovině, což ne vždy odpovídalo skutečnosti. Relativní vhodnost prostředí pro sexuály a apomikty se výrazněji lišila např. v rakouské a německé části Alp (např. Vysoké Taury) a v Tatrách, kde jsou dle modelu vhodné podmínky pro sexuály, ale ne pro apomikty. V tomto případě výsledek odpovídal skutečným datům získaným metodou FCSS, protože v těchto oblastech byl zjištěn výskyt sexuálů, ale ne apomiktů.

Model zahrnující vzorky bez ohledu na jejich klasifikaci (Příloha 3c) se více podobal modelu sexuálů než apomiktů. Průměr AUC z 10 opakování modelu byl 0,887 a směrodatná odchylka 0,028. Podobně jako u sexuálů, do výsledku tohoto celkového modelu nejvíce přispěly vrstvy 04-Tree Covered Area (40,1 %), bio15 (18,5 %) a tri (10,3 %). Model poměrně dobře korespondoval i s celkovým rozšířením taxonu *Rubus hirtus* agg. (Kurtto *et al.* 2010), s výjimkou některých oblastí, zejména v jižní Evropě a Německu. Z tohoto důvodu (a kvůli tomu, že model pro apomikty příliš neodpovídal jejich skutečnému rozšíření) nebyl již brán ohled na klasifikaci vzorků dle způsobu rozmnožování při následné tvorbě modelů z období LGM a středního holocénu a tyto modely byly vytvářeny pro celkový komplex tetraploidních ostružiníků ser. *Glandulosi* (přibližně odpovídající *R. hirtus* agg.).

Podle varianty 1 CCSM4 modelu zahrnujícího celé území Evropy (Příloha 4a) byly v období LGM relativně vhodné podmínky (relativní vhodnost prostředí $>0,4$) na severním Balkánu a v části západní Evropy (západ Německa, východ Francie, Benelux). Průměr AUC z 10 opakování modelu byl 0,814 a směrodatná odchylka 0,038. Do modelu nejvíce přispěly vrstvy aridityIndexThornthwaite (37,0 %), continentality (35,4%) a maxTempColdestMonth (6,4 %). Na většině území Evropy byla hodnota *clampingu* 0,0. Model se výrazně lišil od druhého CCSM4 modelu, jenž zahrnoval především střední a jižní Evropu.

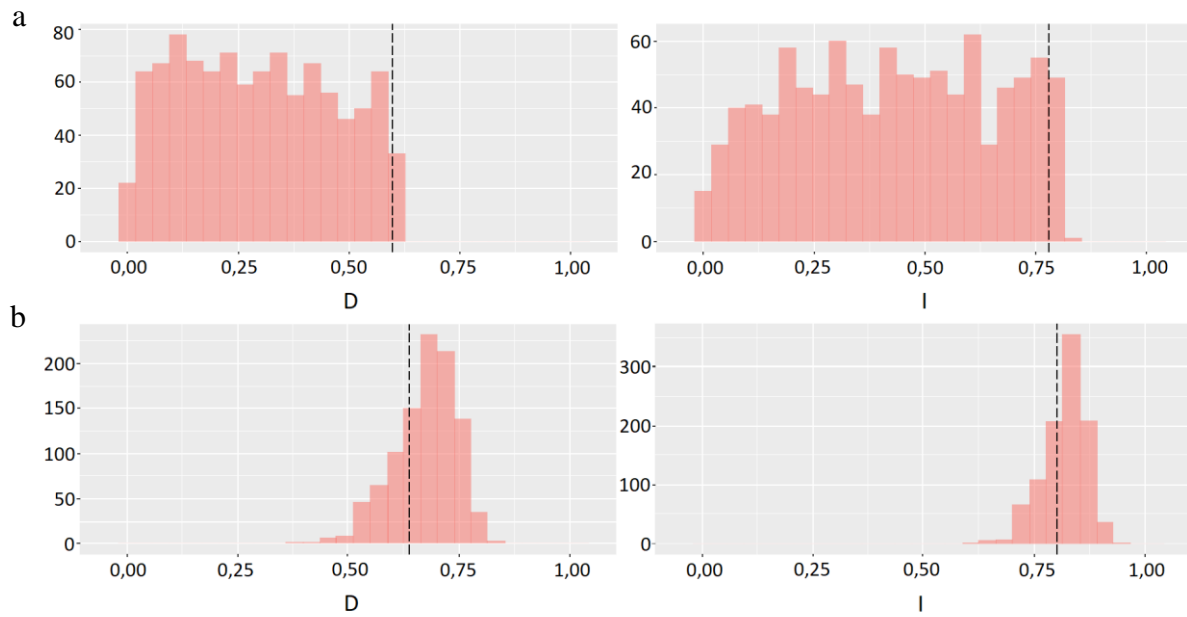
V rámci varianty 2 modelu CCSM4 (bez obrázku) se výsledky jednotlivých opakování navzájem výrazně lišily – dle tří z celkových 10 opakování modelu se v jižní Itálii, na Korsice, na Balkánském poloostrově a na východním okraji Černého moře nacházely menší oblasti s velmi vhodnými podmínkami (relativní vhodnost prostředí až $>0,9$), ostatní opakování modelu však většinou nepředikovala žádnou oblast s relativně vhodnými podmínkami (relativní vhodnost prostředí 0,0).

Průměr AUC z 10 opakování modelu byl 0,856 a směrodatná odchylka 0,034. Do modelu nejvíce přispěly vrstvy bio15 (23,0 %), continentality (21,0 %) a embergerQ (18,5 %). Vrstva bio9 měla nejvyšší nepodobnost ze všech použitých vrstev mezi tréninkovými hodnotami a hodnotami v projekčních vrstvách na většině území zahrnutého v modelu. Některé menší oblasti v jižní Evropě (např. jih Itálie, Korsika) vykazovaly vysoké hodnoty *clampingu* (nad 0,8) a výsledek modelu byl zde proto do značné míry dán hodnotami některých proměnných mimo jejich tréninkový rozsah.

Dle modelu MIROC-ESM (varianta 1) pro celou Evropu (Příloha 4b) byly v rámci Evropy relativně vhodné podmínky (relativní vhodnost prostředí $>0,4$) v severní Itálii a jihovýchodním Německu. Průměr AUC z 10 opakování modelu byl 0,833 a směrodatná odchylka 0,037. Do modelu nejvíce přispěly vrstvy continentality (37,5 %), aridityIndexThornthwaite (36,7 %) a maxTempColdestMonth (8,0 %). Model na celém území vykazoval velmi nízké hodnoty *clampingu* (na většině území 0,0).

Model MIROC-ESM (varianta 2; Příloha 5a) predikoval vhodné podmínky (relativní vhodnost prostředí $>0,8$) především v severní Itálii a dále ve východní Francii a Švýcarsku. Značná část území zahrnutého v modelu však vykazovala vysoké hodnoty *clampingu* (Příloha 5b), v těchto oblastech byl výsledek modelu ovlivněn převážně hodnotami proměnných mimo jejich tréninkový rozsah. Průměr AUC z 10 opakování modelu byl 0,855 a směrodatná odchylka 0,031. Do modelu nejvíce přispěly vrstvy bio15 (24,4 %), continentality (20,3 %) a embergerQ (16,8 %).

V *background* testu (Obr. 4a, Příloha 6) byly hodnoty metrik překryvu nik $D = 0,597$ (střední překryv nik dle Rödder & Engler 2011; $p = 0,030$) a $I = 0,780$ (vysoký překryv nik; $p = 0,047$). Mezi nikami sexuálů a apomiktů byl tedy signifikantní rozdíl s ohledem na jejich geografické rozšíření. V testu identity (Obr. 4b, Příloha 7) byly hodnoty $D = 0,639$ ($p = 0,271$) a $I = 0,801$ ($p = 0,317$), což lze interpretovat tak, že sexuálové a apomikti mají vysoký překryv nik, ale tyto jejich realizované niky nejsou identické.



Obr. 4. – Výsledek testů překryvu nik sexuálů a apomiktů, a – *background* test, b – test identity. Histogramy znázorňují nulovou distribuci konkrétních metrik (D, I) vyjadřujících překryv nik, založenou na náhodném výběru bodů z areálu výskytu obou skupin (*background* test) nebo na opakovaném náhodném přiřazení jednotlivých vzorků ke skupině sexuálů či apomiktů (test identity), přerušovaná čára znázorňuje zjištěnou hodnotu překryvu nik sexuálů a apomiktů.

5. Diskuse

5.1. Analýza semen metodou FCSS a variabilita v ploidií embrya a endospermu u jednotlivých způsobů reprodukce

Semena ostružiníků ser. *Glandulosi* byla analyzována průtokovou cytometrií (metoda FCSS) a byly zjištěny čtyři způsoby vzniku semen, lišící se ploidií embrya a endospermu. U mnoha druhů rostlin (např. u kukuřice a jiných obilovin) je pro normální vývoj endospermu a tím i vznik semene nutný poměr mateřského a otcovského genomu 2:1 a při jiném poměru dochází k aborcí semene; význam tohoto poměru je však nižší u druhů s endospermem spotřebovávajícím se během vývoje semene než u druhů s trvalým endospermem (Koltunow & Grossniklaus 2003). Poměr 2:1 je běžný při sexuálním rozmnožování (Koltunow & Grossniklaus 2003).

Mezi sexuálními semeny dle očekávání převažovala semena s tetraploidním embryem a hexaploidním endospermem. Tato semena vznikají oplozením redukovaného zárodečného vaku redukovanou, tedy diploidní mikrosporou (pylovým zrnem), pocházející z tetraploidního jedince, což odpovídá výše zmíněnému poměru mateřského a otcovského genomu v endospermu 2:1. Několik semen s 4x embryem mělo 7x endosperm, ale u většiny těchto semen se mohlo jednat o chybu v měření a následném zaokrouhlení ploidií. Několik semen z různých vzorků obsahovalo 4x embryo a 8x endosperm. U takových semen je možný sexuální vznik, nicméně nelze vyloučit ani autonomní vznik endospermu z neredukovaného zárodečného vaku. Jedno z těchto semen pocházelo ze vzorku, v němž byla všechna ostatní semena normálně sexuální, a proto je u něj nejpravděpodobnější sexuální vznik. Ve vzorcích, z nichž pocházela ostatní semena s 4x embryem a 8x endospermem, však byla zjištěna jak sexuální, tak apomiktická semena, proto nelze u těchto semen s jistotou rozhodnout o způsobu jejich vzniku (a byla kvůli tomu vyřazena). Autonomní vývoj endospermu po odstranění prašníků (emaskulaci) u rodu *Rubus* zdokumentovali Kollmann *et al.* (2000) a později byl zjištěn také na základě ploidií embrya a endospermu u několika taxonů ostružiníků, mimo jiné i u západokarpatských vzorků *R.* ser. *Glandulosi* (Šarhanová *et al.* 2012).

Zbývající sexuální vzniklá semena měla jiné ploidií embrya a endospermu díky tomu, že pyl nebo buňky zárodečného vaku měly jinou ploidií, než je obvyklé. Pyl o jiné ploidií může pocházet od jiného taxonu ostružiníku; ostružiníky ze ser. *Glandulosi* se totiž mohou snadno křížit se zástupci různých sérií ostružiníků. Např. semena s ploidií embrya 5x a ploidií endospermu 7x mohla vzniknout oplozením zárodečného vaku z tetraploidního jedince neredukovanou, triploidní mikrosporou, pocházející z triploidního jedince jiného taxonu. Mohlo jít o zástupce ser. *Discolores*, v níž triploidní taxony převažují, příp. ser. *Rubus* (Krahulcová *et al.* 2013; Sochor *et al.* 2019). Hypoteticky může docházet i k oplození redukovanou, haploidní mikrosporou diploidního taxonu; vzniklá semena potom mají 3x embryo a 5x endosperm (Forejtová 2019). Tento způsob vzniku však zde nebyl zjištěn. Haploidní mikrospora by v takovém případě pravděpodobně pocházela z diploidního druhu *R. idaeus*

L. Druhým diploidním druhem, jenž by mohl být potenciálním dárcem pylu a vyskytuje se i v České republice, je *R. canescens* DC. (Trávníček *et al.* 2000). Tento druh má však poněkud odlišné ekologické nároky a také se (na rozdíl od běžného, široce rozšířeného *R. idaeus*) vyskytuje pouze roztroušeně (Holub 1995). Mimo území České republiky je případně možný i přenos pylu z diploidního *Rubus ulmifolius* Schott, jenž se vyskytuje zejména v západní a jižní Evropě (Kurtto *et al.* 2010: obr. 3969).

U dvou vzorků byla zjištěna semena s 6x embryem a 9x endospermem, žádné ze semen z těchto vzorků nemělo 4x embryo. V těchto případech se pravděpodobně jednalo o hexaploidní jedince, u nichž došlo k samooplození redukovaným, triploidním pylem. Dvě semena u jednoho z těchto vzorků však měla 5x embryo a 8x endosperm; zde zřejmě došlo k oplození normálním diploidním pylem z tetraploidního jedince.

Při apomixi, na rozdíl od sexuálního rozmnožování, může vznikat endosperm s různými poměry mateřského a otcovského genomu. U některých druhů rostlin není vývoj endospermu citlivý na rodičovský poměr genomů, u jiných druhů dochází při apomixi ke vzniku jiného typu zárodečného vaku (k jeho modifikaci) než při sexuálním rozmnožování, např. u *Panicum maximum* Jacq. (Koltunow & Grossniklaus 2003).

U všech analyzovaných apomiktických semen bylo embryo tetraploidní, ale ploidie endospermu byla velmi variabilní (9x – 17x). Apomiktické tetraploidní ostružiníky totiž mohou mít poměr embrya a endospermu 1:2 – 1:5 a rovněž mohou mít podíl mateřského a otcovského genomu v endospermu v různých poměrech (Šarhanová *et al.* 2012). Endosperm s nejčastější ploidií 10x nejpravděpodobněji vzniká splynutím jádra neredukovaného zárodečného vaku s redukovanou, tedy diploidní mikrosporou. Druhá nejčastější ploidie endospermu (12x) může vznikat účastí neredukované mikrospory nebo dvou redukovaných mikrospor. Endosperm různých ploidií může vznikat také díky opylení pylem jiného taxonu ostružiníku o jiné ploidii (podobně jako u výše zmíněného sexuálního rozmnožování), případně aneuploidním pylem (Šarhanová *et al.* 2012), ačkoliv aneuploidní pyl ostružiníků má obvykle nízkou životaschopnost (Nybom 1987). Vznik endospermu 9x u několika semen lze vysvětlit účastí redukované, haploidní mikrospory pocházející pravděpodobně z *R. idaeus*. Naopak endosperm o nejvyšších ploidiích může vznikat díky splynutí více jader zárodečného vaku, které prokázali Pratt & Einset (1955), a následnému splynutí s redukovanou či neredukovanou mikrosporou. Nejvyšší zaznamenaná ploidie endospermu byla 17x, což je zároveň zřejmě nejvyšší dosud zjištěná ploidie endospermu u ser. *Glandulosi* (dosud nejvyšší ploidie byla 16x; Šarhanová *et al.* 2012; Forejtová 2019). U nejvyšších ploidií však narůstá chyba měření a z tohoto důvodu mohou být stupně ploidie navzájem hůře odlišitelné (Talent & Dickinson 2005).

U vyšších ploidií endospermu semen vzniklých apomikticky často připadá v úvahu více možností vzniku endospermu a nelze tak s jistotou rozhodnout o poměru mateřského a otcovského genomu. Ostružiníky podrodu *Rubus* snášejí různé poměry mateřského a otcovského genomu v endospermu (Šarhanová *et al.* 2012), podobná situace u apomiktů je např. v rodech *Tripsacum* L. (Grimanelli *et al.*

1997), *Crataegus* L. (Talent & Dickinson 2007) nebo *Amelanchier* Medik. (Burgess *et al.* 2014). Peaky endospermu analyzovaných apomiktických semen *Rubus* ser. *Glandulosi* byly ve srovnání s peaky endospermu sexuálních semen zpravidla viditelně menší. I u jiných rostlinných taxonů (např. tribus Potentilleae Sweet; Dobeš *et al.* 2013) obsahuje endosperm apomiktických semen nižší počet jader (buněk) než endosperm sexuálních semen. Tato skutečnost souvisí s vyšší ploidií endospermu apomiktických semen ve srovnání se sexuálními semeny (a tím i vyššímu množství DNA v jádře), jež vede ke zvětšení buněk a snížení jejich počtu ve srovnání s endospermem sexuálních semen s nižší ploidií (např. Gregory 2001).

Jednou z odchylek od sexuálního a apomiktického rozmnožování byla semena, jejichž embrya vznikla z neredukované oplozené vaječné buňky. K oplození neredukované vaječné buňky občas dochází i u jiných apomiktických taxonů; vzniklá zygota může či nemusí být životaschopná (Asker & Jerling 1992). Existují různé mechanismy zabraňující oplození neredukované vaječné buňky – u diplosporických trav *Poa* L. a *Tripsacum* se embryo začíná vyvíjet už před otevřením květu (Asker & Jerling 1992). Další možností je např. tvorba stěny tvořící bariéru zabraňující oplození (Asker & Jerling 1992), což bylo zjištěno při aposporii např. u *Pennisetum ciliare* (L.) Link, kde se buněčná stěna obklopující vaječnou buňku tvoří před proniknutím pylové láčky do zárodečného vaku (Vielle *et al.* 1995). Frekvence oplození neredukované vaječné buňky může souviset s načasováním opylení, u *Pennisetum ciliare* byla zjištěna vyšší frekvence při dřívějším opylení (Burson *et al.* 2002). U aposporického taxonu *Malus hupehensis* var. *pingyiensis* Jiang zabraňuje zpoždění vývoje neredukovaného zárodečného vaku (jež navíc souvisí s teplotou prostředí) svému oplození (Liu *et al.* 2014).

U semen vzniklých z neredukovaného oplozeného zárodečného vaku převažovala semena s 6x embryem a 10x endospermem, jež vznikla oplozením redukovanou, tedy diploidní mikrosporou. Naumova *et al.* (2001) zjistili, že u *Boechera holboellii* (Hornem.) Á. Löve & D. Löve může docházet k oplození neredukovaného zárodečného vaku redukovanou mikrosporou. Tento způsob vzniku je možný u jednoho zde zjištěného semene ostružiníku, jež mělo 8x embryo a 12x endosperm a mohlo vzniknout oplozením redukovanou, tedy 4x mikrosporou.

Mezi semeny s embryem vzniklým z redukované neoplozené vaječné buňky převažovala semena s 2x embryem a 6x endospermem, jež vznikl díky účasti redukované, diploidní mikrospory. Endosperm o ploidií 5x, který byl zaznamenán u tří semen, pravděpodobně vznikl díky účasti redukované, haploidní mikrospory z *R. idaeus*.

Některá semena obsahovala pouze embryo nebo endosperm (ve výsledném histogramu z FCSS byl zjištěn jen jeden peak), přestože vnitřek semen měl vizuálně normální vzhled. Počet těchto semen nebyl zaznamenáván. Dle zjištění od Šarhanová *et al.* (2012) je vnitřek semen obsahujících pouze endosperm vizuálně scvrklý uvnitř osemení, což se zde nepotvrdilo. U tří semen byly zjištěny dva zárodečné vaky, ve všech těchto případech se jednalo o sexuální a apomiktický zárodečný vak zároveň. Pratt & Einset (1955) zjistili u některých druhů ostružiníků až pět zárodečných vaků

v jednom vajíčku. V případě aposporie (typ gametofytické apomixe, kdy neredukovaný zárodečný vak vzniká ze somatické buňky vajíčka; Asker & Jerling 1992) mohou v jednom vajíčku probíhat zároveň sexuální a apomiktické procesy. Apomiktický zárodečný vak se může začít vyvíjet v různých fázích megasporogeneze či megagametogeneze a vzniká z buněk nucellu, jež se nacházejí poblíž buněk podílejících se na vzniku sexuálního zárodečného vaku (Koltunow 1993). Apomiktický zárodečný vak se zpravidla vyvíjí rychleji než sexuální, protože v něm na rozdíl od sexuálního vaku nedochází k meióze (Koltunow 1993). U *Paspalum malacophyllum* Trin. (Poaceae) zpočátku probíhají ve vajíčku sexuální a apomiktické (aposporické) procesy zároveň, ale posléze si začínají konkurovat. Rychlejší vývoj apomiktického zárodečného vaku je zřejmě důvodem, proč je většina semen u tohoto druhu apomiktická (Hojsgaard *et al.* 2013).

Téměř všichni jedinci ser. *Glandulosi*, z nichž pocházela analyzovaná semena, byli tetraploidní. Výsledky analýzy semen ze vzorků MS 78/13 a Pelec však naznačují, že tito jedinci byli hexaploidní, což potvrzuje, že někdy mohou vyklíčit a přežít, a dokonce se snad i rozmnožovat i jedinci s vyšší ploidií, než je pro tento taxon obvyklé. Nárůst ploidie totiž snižuje fitness kvůli složitějšímu párování chromozomů během meiózy, které může vést k mutacím a vzniku aneuploidních buněk (Comai 2005). Einset (1951) však zaznamenal životaschopné hexaploidní semenáčky vzniklé samoopylením u tetraploidního druhu *Rubus bellobatus* L. H. Bailey a Dowrick (1966) u tetraploidního druhu *R. laciniatus* Willd. Nicméně o přežívání a zejména rozmnožování jedinců vzniklých oplozením neredukované vaječné buňky u ostružiníků je k dispozici málo dat.

Mezi vzorky, z nichž pocházela analyzovaná semena, nebyl zjištěn žádný dihaploidní jedinec (vzniklý z redukované neoplozené vaječné buňky, tedy dihaploid *sensu* Nogler (1984); termín dihaploid je v literatuře používán i pro jedince získané obvykle umělou reduplikací chromozomů z prašnickových kultur u somatických hybridů, např. Rotino *et al.* (2005)). Dihaploidní ostružiníky se v přírodě zřejmě obvykle nevyskytují a jako jedna z možných příčin se uvádí odhalení škodlivých alel po diploidizaci (Šarhanová *et al.* 2012). Nicméně Einset (1951) a Dowrick (1966) zaznamenali vznik dihaploidních semenáčků u některých tetraploidních druhů ostružiníků. U některých druhů rostlin jsou dihaploidi vitální, zatímco haploidi (monoploidi) jsou zpravidla sterilní (Vijverberg *et al.* 2019). V rodu *Erigeron* L. (Asteraceae) jsou dihaploidi životaschopní a jsou schopni i rozmnožování – diplosporíí nebo partenogeneticky (Noyes & Wagner 2014). Životaschopní a plodní dihaploidi se vyskytují i u druhu *Brachiaria decumbens* Stapf (Poaceae) (Naumova *et al.* 1999).

Analýza semen metodou FCSS použitá v této práci může mít někdy i určité limity a nedostatky a u některých taxonů tuto metodu nelze využít. Při použití FCSS metody předpokládáme přispění samičího genomu do endospermu dvěma jádry. Tento způsob vzniku endospermu je evolučně konzervovaný např. v tribu Potentilleae (Rosaceae), nicméně u *Potentilla* ser. *Tormentillae* (L.) Lehm. nelze vyloučit vznik endospermu za přispění jen jednoho jádra zárodečného vaku (Dobeš *et al.* 2013). Pratt & Einset (1955) zjistili přítomnost tří nebo čtyř centrálních jader v jednom zárodečném vaku u *Rubus canadensis* L. a Czapič (1983) zjistila tři centrální jádra u tetraploidního *R. bellardii* Weihe,

což je homotypické synonymum pro *R. glandulosus* Bellardi, a náleží tedy k *R. hirtus* agg. (Kurtto *et al.* 2010). U tohoto druhu a u druhů *R. saxatilis* (Czapik 1981) a *R. caesius* (Czapik 1983) bylo také pozorováno zpoždění fúze centrálních jader (u ostružiníků přitom obvykle dochází k fúzi jader při oplození), což může hypoteticky vést ke vzniku endospermu s jinou než normální předpokládanou ploidií. U některých druhů (např. *Panicum maximum*, *Pennisetum ciliare*) nelze metodou FCSS (tedy na základě ploidiie) rozlišit apomixi a sexuální rozmnožování, protože v obou případech vzniká diploidní embryo a triploidní endosperm (Matzk *et al.* 2000). U vysokých ploidií endospermu se zhoršuje možnost odlišení jednotlivých stupňů ploidiie kvůli vyšší chybě měření (Talent & Dickinson 2005) a výraznějšímu kolísání velikosti genomu (Šarhanová *et al.* 2012).

5.2. Geografická partenogeneze

Geografická partenogeneze u *R. ser. Glandulosi* byla již popsána ve dvou dřívějších pracích (Šarhanová *et al.* 2012; Forejtová 2019), nová data však přispěla ke zpřesnění znalostí o tomto fenoménu. Dle všech dosavadních dat má hranice areálů apomiktů a sexuálů přibližně jihozápadně-severovýchodní směr, přičemž apomikti se vyskytují severozápadně od této hranice a sexuálové směrem na jihovýchod od ní (Obr. 3). Kudy přesně v podrobnějším měřítku prochází hranice mezi areály sexuálů a apomiktů, jak je tato hranice široká a jak časté jsou smíšené populace, však vyžaduje získat data z více jedinců v rámci jednotlivých populací, což může být otázkou dalšího výzkumu u tohoto taxonu.

U dalších taxonů krytosemenných rostlin, jež jsou rozšířeny v Evropě a je u nich známá geografická partenogeneze, je rozšíření apomiktických a sexuálních linií různé a navzájem značně odlišné. U většiny taxonů s výskytem geografické partenogeneze se apomikti a sexuálové vyskytují alespoň v části areálu sympatricky (Hörandl 2006). U ostružiníků se geografická partenogeneze vyskytuje také v rámci samotného podrodu *Rubus*, jenž obsahuje několik diploidních sexuálních druhů (vyskytují se zejména v jižní Evropě – ve Středomoří, v oblasti Makaronézie a v západní Asii; v jižní a západní Evropě se dosti hojně vyskytuje *R. ulmifolius*; do střední Evropy z jihu zasahuje jen *R. canescens*), dále 3–4 sexuální tetraploidní druhy a více než 750 polyploidních apomiktických druhů (mikrospecií) (Kurtto *et al.* 2010; Šarhanová *et al.* 2012). Polyploidní apomiktické druhy se vyskytují především ve střední a západní Evropě a na jižním Kavkazu (Sochor *et al.* 2017).

U *Taraxacum* sect. *Taraxacum* prochází severní hranice rozšíření sexuálních populací (*T. linearisquameum* Soest) územím České republiky (podobně jako u sexuálních linií *Rubus* ser. *Glandulosi*), zatímco apomikti se mohou vyskytovat po celém území Evropy, včetně areálu sexuálů (van Dijk *et al.* 2003b). U rodu *Chondrilla* mají sexuálové dvě arely na Balkánském poloostrově a v Rakousku a blízkém okolí, zatímco apomikti mají velký areál a severní hranice jejich rozšíření prochází územím České republiky (van Dijk *et al.* 2003b). Podobně u *Ranunculus auricomus* agg. jsou apomikti rozšířeni po celé Evropě, ale sexuální diploidní druhy mají většinou malé areály a vyskytují

se v Alpách, Karpatech a na Apeninském poloostrově, sympatricky s apomikty (Hörandl & Paun 2007). U okruhu *Hieracium alpinum*, jenž se vyskytuje jen v horských oblastech, se triploidní apomikti nacházejí v Alpách, na Slovensku, ve Skandinávii, Grónsku, Velké Británii a pohoří Ural a diploidní sexuální jen ve východní části karpatského oblouku; areály sexuálů a apomiktů jsou tedy striktně alopatrické, na rozdíl od většiny taxonů, u nichž se vyskytuje geografická partenogeneze (Mráz *et al.* 2009).

Mezi analyzovanými vzorky *Rubus ser. Glandulosi* v podstatě nebyli zjištěni sexuální jedinci uvnitř areálu apomiktů či naopak (s výjimkou zřejmě jen velmi úzkého pásu výskytu sexuálů, vedoucího oreofytikem Orlických hor, Krkonoš a Lužických hor, kde byly sexuální a apomiktické vzorky zjištěny relativně nedaleko od sebe, a ostatních oblastí blízko hranice areálu sexuálů a apomiktů). Ve všech sexuálních vzorcích od vzorku MS 12/21 (Krkonoše) na západ do Lužických hor bylo zjištěno vždy jedno apomiktické semeno a příp. i semena s dihaploidním embryem (vzniklým z redukované neoplozené vaječné buňky). Toto zjištění naznačuje, že i v současnosti zde zřejmě dochází k formování apomiktů. Obecně se předpokládá, že apomiktické linie jsou obvykle relativně mladé a že přenosem pylu z apomiktů může docházet k introgresi genu apomixe do sexuálů (van Dijk *et al.* 2003b). Zda tomu tak může být i u *R. ser. Glandulosi*, by mohlo být předmětem dalšího výzkumu. V oblastech výskytu sexuálů, dále od hranice areálu apomiktů, byly v sexuálních vzorcích apomiktická semena nebo odchylky od obou hlavních způsobů rozmnožování zjištěny pouze ojediněle.

5.2.1. Příčiny geografické partenogeneze

Tradičně se uvádí, že apomikti (resp. asexuálové obecně; geografická partenogeneze byla totiž zjištěna u všech hlavních skupin eukaryot; Tilquin & Kokko 2016) mají větší areál než jim blízké příbuzní sexuální a ve srovnání s nimi se vyskytují ve vyšších zeměpisných šířkách a nadmořských výškách (Hörandl 2009). Častěji než sexuální se také vyskytují na ostrovech, v sušších (až aridních) biotopech, v minulosti zaledněných oblastech a v narušovaných biotopech (Bierzychudek 1985), byť samozřejmě existují výjimky. Tyto obecné jevy se vysvětlují různými, navzájem se nevylučujícími hypotézami (snad s výjimkou hypotézy generalistických genotypů a hypotézy zamrzlých nik, viz níže), jež se navzájem spíše kombinují a doplňují a vycházejí z vnitrodruhových či mezidruhových interakcí anebo vztahu k abiotickým podmínkám prostředí.

Jedno z nejstarších vysvětlení vychází ze schopnosti rychlejší kolonizace nového prostředí apomikty díky tomu, že k rozmnožování stačí jediný jedinec (Bakerův zákon; Baker 1967). Na okraji areálu, kde lze očekávat řídké populace, se tak apomikti mohou šířit rychleji než sexuální (zejména v případě dvoudomosti sexuálů), protože nevyžadují oplození pro tvorbu semen. To je případ zejména autonomní apomixe, v případě pseudogamie je však opylení vyžadováno pro vznik endospermu. Dalo by se proto očekávat, že autonomní apomikti budou mít lepší kolonizační schopnosti a celkově u nich bude geografická partenogeneze častější než u pseudogamních apomiktů. Autonomní apomixe je

skutečně velmi častá, nicméně většinou se jedná o taxony z čeledi Asteraceae, a běžně se u ní vyskytuje geografická partenogeneze, zatímco u mnohem méně časté pseudogamie je souvislost s výskytem geografické partenogeneze málo prozkoumaná (Hörandl *et al.* 2008). U některých taxonů je však při pseudogamii možné samooplození kvůli narušení *self*-inkompatibilních mechanismů, často zjištěnému u polyploidů (Hörandl 2010). U apomiktického ostružiníku *Rubus bifrons* však bylo zjištěno, že následkem samoopylení (nebo environmentálních podmínek) došlo k výraznému nárůstu podílu sexuálního rozmnožování (Šarhanová *et al.* 2012). U pseudogamních apomiktů může dojít k samooplození v důsledku opylení pylem jiného taxonu s vyšší ploidií (podíl apomiktických semen přitom roste se zvyšujícím se rozdílem ploidie donora a příjemce pylu; Jennings *et al.* 1967; donorem pylu navíc často může být i jiný, relativně vzdáleně příbuzný taxon) nebo abortovaným pylem (Hörandl 2010). Nicméně samotní pseudogamní apomikti obvykle mají vyšší podíl abortovaného pylu než jim příbuzní sexuální (např. Asker & Jerling 1992) a v důsledku toho mohou mít nižší počet semen (Hörandl 2008). Naopak u autonomních apomiktů (např. *Taraxacum* sect. *Taraxacum*) bývá počet semen vyšší než u sexuálů (van Dijk 2007). Lze tedy konstatovat, že hypotéza o rychlejší kolonizaci nového prostředí apomikty ve srovnání se sexuální je opodstatněná spíše u autonomních apomiktů, než pseudogamních (mezi něž patří i ostružiníky ser. *Glandulosi*).

Jak již bylo zmíněno, apomikti se ve srovnání s blízkými příbuznými sexuálními liniemi vyskytují často spíše na okraji areálu. Okrajové populace mají často charakter metapopulace skládající se z víceméně izolovaných, řídkých populací, v nichž často dochází k lokální extinkci a opětovné kolonizaci, což je spojeno s genetickým efektem hrdla lahve (bottleneck) a driftem (metapopulační hypotéza; Haag & Ebert 2004). Bottleneck a drift v malých izolovaných populacích vedou k inbreedingu a nárůstu homozygotnosti (mimo jiné i škodlivých recesivních alel), zatímco ve větších populacích a při časté migraci k tomu nedochází. Souvislost míry inbreedingu s velikostí populace byla prokázána např. u druhu *Ranunculus reptans* L.; v menších populacích docházelo k vyšší inbrední depresi (Willi *et al.* 2005). Podle metapopulační hypotézy by tyto jevy měly mít větší dopad na sexuální než na apomikty, u kterých z podstaty apomixe zůstává původní genotyp zachován. Nicméně u okruhu *Hieracium alpinum*, u něhož se vyskytuje geografická partenogeneze, byl signifikantní vliv inbreedingu na fitness u sexuálů zjištěn jen v některých případech, a je tedy zřejmé, že geografická partenogeneze je přinejmenším u tohoto druhu dána převážně jinými faktory (Pinc *et al.* 2020).

Sexuálové v jižnějších populacích mají vyšší plodnost a životaschopnost juvenilních jedinců ve srovnání se severnějšími populacemi sexuálů. Hypotéza Peck *et al.* (1998) zdůvodňuje geografickou partenogenezi právě těmito rozdíly ve fertilitě a následně relativně častější migrací sexuálů směrem do severnějších populací. Tito migranti však nejsou adaptováni na zdejší podmínky (nemají optimální fenotyp), a jejich křížení s místními sexuálními jedinci proto snižuje fitness celé zdejší populace. Sexuálové zde proto mohou být vytlačeni apomikty. U apomiktů ke snižování fitness nedochází z podstaty věci, protože díky rozmnožování z jednoho jedince zůstávají adaptované genotypy (a fenotypy) zachovány.

Geografická partenogeneze může být také vysvětlena rozdílnou ploidií sexuálů a apomiktů – nejčastěji jsou sexuálové diploidní a apomikti polyploidní (pro expresi apomixe však není polyploidie nutná; Ozias-Akins 2006) anebo hybridním původem apomiktů. Polyploidie může u apomiktů nepřímo ovlivnit změnu niky díky většímu adaptivnímu potenciálu polyploidních apomiktů ve srovnání s jejich obvykle diploidními sexuálními předky a tím výrazně přispět ke vzniku geografické partenogeneze (Hojsgaard & Hörandl 2019). U komplexu *Boechera holboellii* (v němž existují diploidní sexuálové i apomikti, ale kromě nich i triploidní apomikti; Brukhin *et al.* 2019) a samozřejmě také u zde studovaného taxonu *Rubus ser. Glandulosi* se apomikti a sexuálové vyskytují v jedné ploidií úrovni, proto zde nelze geografickou partenogenezi vysvětlovat rozdílnou ploidií. U apomiktů *Boechera holboellii* bylo zjištěno, že jsou pravděpodobně hybridního původu (např. Kantama *et al.* 2007), u *Rubus ser. Glandulosi* to zatím není jisté, ale je to jedním z možných vysvětlení geografické partenogeneze.

Hypotéza zamrzlých nik (*frozen niche variation*; FNV; Vrijenhoek 1984) rovněž předpokládá hybridní původ apomiktů. Dle této hypotézy mají apomiktické klony polyfyletický původ a vznikly náhodně hybridizací geneticky odlišných sexuálních předků. Díky vysoké genetické variabilitě svých předků jsou i tito apomiktíci hybridi značně genotypově a fenotypově rozmanití. Podobně jako u sexuálů mezi genotypy jedinců, i mezi genotypy apomiktických klonů může docházet k selekci. Klony si díky apomixi zachovávají svůj genotyp a každý z nich je poměrně úzce specializovaný, nicméně všechny apomiktické hybridogenní klony dohromady dovedou efektivně využívat dostupné zdroje a obsazovat prostorově heterogennější prostředí než sexuálové. Sexuálové mohou přežívat díky těm částem spektra dostupných zdrojů, které apomiktické klony nevyužívají. Nicméně se nejedná o obecný rys, protože u mnoha taxonů se apomikti a sexuálové vyskytují společně v jednom typu prostředí a v oblastech sympatrického výskytu apomiktů a sexuálů navíc mohou nové apomiktické klony vznikat hybridizací (Hörandl 2006). Je také nutné poznamenat, že hypotéza nepočítá se skutečností, že niky jsou mnohorozměrné a daný klon může být v některých ohledech generalistou a jindy specialistou. Model také nevysvětluje, proč apomikti nevytlačí sexuály z celého spektra dostupných zdrojů. Podle modelu Spitzer & Haygood (2007) je však rovnováha mezi výskytem a fitness sexuálů a apomiktů udržována jejich migrací, což v některých případech umožňuje trvalou koexistenci sexuálů a apomiktů. Migraci přikládá velký význam i další model (Peck *et al.* 1999), podle něhož v bohatě strukturovaném prostředí, kde mezi jednotlivými populacemi dochází k migraci, nemohou apomiktické klony vzniklé ze sexuálních předků nad sexuály převládnout, zatímco při absenci migrace apomikti své sexuální předky zpravidla vytlačí.

Hypotéza generalistických genotypů (*general-purpose genotypes*; GPG; Baker 1965) na rozdíl od hypotézy FNV naopak předpokládá, že apomiktické klony jsou spíše generalisté (díky tomu, že specializované apomiktické klony již byly eliminovány selekcí) a mají tedy širší niky a tím i menší nároky na prostředí než sexuálové (Lynch 1984). Díky tomu mohou mít tito apomikti větší areál a jsou schopni osidlovat i extrémnější prostředí, včetně habitatů na okraji areálu. Je to dáno tím, že si

apomikti udržují vysokou heterozygotnost, jež je u apomiktů zpravidla vyšší než u jim příbuzných sexuálů (Hörandl & Paun 2007). Nicméně nelze říct, že se hypotézy GPG a FNV navzájem zcela vylučují, protože sexuálové i apomikti mohou být v nárocích na některé zdroje spíše generalisté a v jiných naopak specialisté. Hypotéza GPG byla ověřována u mnoha rostlinných i živočišných taxonů, ale výsledky některých prací ji podporují, zatímco jiné ne nebo jsou závěry nejednoznačné. Do první skupiny patří např. práce Bierzychudek (1989), jež zkoumala toleranci k teplotě a vlhkosti u *Antennaria parvifolia* Nutt. a prokázala, že apomikti byli výrazně méně citliví na teplotu a vlhkost než sexuálové. Naopak výsledky práce Kenny (1996) nepodporují GPG hypotézu, protože mezi dvěma blízkými příbuznými druhy rodu *Erigeron* (sexuální *E. philadelphicus* L. a apomiktický *E. annuus* (L.) Pers.) nebyly zjištěny rozdíly mezi ekologickou tolerancí ohledně kompetice a zastínění.

Poslední dvě hypotézy sice původně vysvětlují spíše celkovou převahu sexuality nad apomixí, nicméně s geografickou partenogenezí také souvisejí. Podle modelu životem kypícího břehu (*tangled-bank*; TB; Bell 1982) mají sexuálové výhodu v proměnlivém prostředí se strukturovanými, nicméně limitovanými zdroji díky produkci velkého množství geneticky variabilních potomků, která jim umožňuje osídlit dohromady široké spektrum nik. Dle modelu Song *et al.* (2011) v proměnlivém prostředí s dostatečně širokým spektrem nevyužitých zdrojů, jejichž množství narůstá jen pomalu, převažují sexuálové, kteří díky množství geneticky variabilních potomků mohou úspěšně obsazovat nové nevyužité zdroje. Při vyčerpání zdrojů jsou navíc zvýhodněni ti jedinci, kteří se dovedou přeorientovat na dosud málo využívané zdroje (Glesener & Tilman 1978).

U apomiktů se podle TB modelu (Bell 1982) naopak předpokládá nízká diverzita potomstva, jež apomikty ve srovnání se sexuály znevýhodňuje. Na druhou stranu jsou apomikti naopak zvýhodněni v prostředí, kde dostupnost zdrojů není tak limitující (Song *et al.* 2011). Nicméně i apomikti mohou být genotypově a fenotypově celkově poměrně rozmanití díky mutacím, fakultativní apomixi (a tedy určitému podílu sexuality) a hybridizaci se sexuály. Podle modelu Case & Taper (1986) v prostředí s dostatečně širokým spektrem zdrojů mohou sexuálové a apomikti spolu koexistovat, což tedy nevede ke vzniku geografické partenogeneze, případně sexuálové mohou dokonce převládnout za předpokladu, že mají širší niku než apomikti.

Další hypotéza (Levin 1975) vychází z mezidruhových interakcí jedinců daného taxonu s patogeny a herbivory. V populacích uvnitř areálu (resp. v populacích vyskytujících se ve vhodném prostředí pro daný taxon) je silný tlak patogenů a herbivorů, kterému dokážou vzdorovat jen sexuálně se rozmnožující linie. Sexuálové mají totiž vzhledem ke způsobu rozmnožování větší rekombinační potenciál a koevolucí s patogeny a herbivory u nich dochází k selekci genů rezistence. Na okraji areálu, kde jsou biotické interakce méně významné a větší vliv mají podmínky prostředí, se vyskytují apomikti či linie rozmnožující se samooplozením, jež ale mají značně omezenou schopnost rekombinace. Hypoteticky by proto v prostředí se silným tlakem patogenů a herbivorů neobstáli. Výsledky modelu Ladle *et al.* (1993) však ukazují, že apomikti (resp. asexuálové obecně) jsou schopni dlouhodobě přežít i v prostředí s patogeny za předpokladu, že populace hostitele má charakter

metapopulace, hostitel nebo patogen mají dobrou schopnost šíření a zároveň se patogen šíří nezávisle na svém hostiteli. S hypotézou Levin (1975) velmi úzce souvisí hypotéza Červená královna (*Red Queen*; Bell 1982), podle níž má sexuální rozmnožování a z něj vyplývající genetická diverzita adaptivní význam pro vznik rostlinných genotypů rezistentních k patogenům, přičemž frekvence genotypů patogena reaguje na změnu frekvence genotypů rostlinného hostitele a naopak (Flor 1971). Nicméně jen některé mechanismy rezistence podporují tuto hypotézu (Clay & Kover 1996).

5.3. Modelování ekologických nik

5.3.1. Současné modely a niky sexuálů a apomiktů

Výsledný model niky taxonu *Rubus* ser. *Glandulosi* (tedy všech vzorků bez ohledu na způsob rozmnožování, přibližně odpovídající *R. hirtus* agg.) zhruba odpovídal skutečnému rozšíření tohoto taxonu, zjištěnému na základě FCSS analýzy, ale i celkovému současnému rozšíření taxonu *R. hirtus* agg., publikovanému v literatuře (Kurtto *et al.* 2010; Obr. 4527). Model niky sexuálů (s výjimkou některých oblastí, např. část Čech a jižní Polsko) poměrně odpovídal jejich skutečnému výskytu. Model niky apomiktů sice neodpovídal výskytu apomiktů zjištěnému FCSS analýzou, ale oblasti s relativně nejvhodnějšími podmínkami pro výskyt byly částečně podobné jako v případě modelu sexuálů. Celkově modely sexuálů a apomiktů nedokázaly odhalit ostrou hranici areálu sexuálů a apomiktů, která byla zjištěna ve skutečnosti.

Na tyto tři současné modely měly největší vliv podobné proměnné. Do všech tří modelů nejvíce přispěla proměnná pokrytí stromy (04-Tree Covered Area). Taxon *R. hirtus* agg. se vyskytuje v České republice v termofytiku jen vzácně a hojněji se vyskytuje v mezofytiku a oreofytiku (Holub 1995), kde je také zpravidla vyšší pokrytí stromy (dle vrstvy 04-Tree Covered Area). Ostružiníky *R. hirtus* agg. mají optimální podmínky pro výskyt v kulturních smrčínách, křovinné vegetaci lesních pasek, ostružiníkových křovinách, suťových lesích a údajně i v bučinách a dubohabřinách (Pladias – databáze české flóry a vegetace 2021), nicméně obvykle se vyskytují především v lesích s podílem smrku (B. Trávníček, osobní sdělení). Mnohé analyzované vzorky pocházely právě z nepřírodných smrkových kultur či jejich těsné blízkosti nebo smíšených lesů s určitým podílem smrku.

Index nerovnosti terénu (*terrain roughness index*, vrstva tri) byl v rámci oblasti použité v modelování v současnosti nejvyšší v Alpách (což byla dle modelu jedna z oblastí s relativně nejvhodnějšími podmínkami pro sexuály i celkově pro *R. ser. Glandulosi*), dále v Karpatech a pohraničních pohořích České republiky. Celkově však tento index příliš nekoreluje s nadmořskou výškou globálně, ani v samotné palearktické oblasti, v níž se Evropa nachází (Pearsonův korelační koeficient 0,46, resp. 0,58), ale spíše indikuje heterogenitu habitatu a dostupnost mikrohabitátů, jež může být pro některé druhy významná (Title & Bemmels 2018a). Na topografických vlastnostech habitatu v evropských temperátních lesích závisí také míra přirozené disturbance; se složitější

topografií terénu se zmenšuje rozsah přirozených disturbancí, jež jsou zároveň více rozptýlené, což zvyšuje heterogenitu habitatu (Senf & Seidl 2017).

Sezónnost srážek – variační koeficient (vrstva bio15) patřil ve všech současných modelech mezi tři proměnné, jež do těchto modelů nejvíce přispěly. V rámci studované oblasti má v současnosti vysokou hodnotu zejména v českém termofyliku a v Dolomitech. Průměrný letní a zimní úhrn srážek v Evropě souvisí se severoatlantickou oscilací (Zveryaev 2004). V rámci celé Evropy dochází k největším sezónním změnám v množství srážek ve střední části východní Evropy, kde je vyšší průměrný letní úhrn srážek než zimní a jsou zde rovněž velké meziroční rozdíly, zatímco v západní Evropě je průměrný letní úhrn srážek a jeho meziroční variabilita menší než zimní (Zveryaev 2004).

Ke zjištění míry překryvu nik sexuálů a apomiktů byl použit *background* test (test podobnosti nik), který je vhodný pro alespoň částečně alopatrikové druhy či linie, což sexuálové a apomikti u *R. ser. Glandulosi* splňují, a také test identity, jež se často používá pro sesterské druhy (Warren *et al.* 2021). Dle výsledků *background* testu mají niky sexuálů a apomiktů v závislosti na konkrétní metrice střední ($D = 0,597$) až vysoký ($I = 0,780$) překryv podle klasifikace od autorů Rödder & Engler (2011), kteří klasifikují překryv nik v rozsahu 0,4–0,6 jako střední a 0,6–0,8 jako vysoký. Hodnota D bývá až na výjimky výrazně nižší než I (např. Jakob *et al.* 2010). Dle Rödder & Engler (2011) je D jednou z nevhodnějších metrik pro výpočet překryvu nik, nicméně úspěšnost metrik při hodnocení překryvu nik je vždy výrazně ovlivněna výběrem pozadí. V některých případech může být výsledek *background* testu dán spíše dostupností habitatů než nároky daných druhů (Jakob *et al.* 2010). Výsledek *background* testu u *R. ser. Glandulosi* nicméně odhalil, že se niky sexuálů a apomiktů i přes vysoký překryv signifikantně liší (s ohledem na jejich vzájemné geografické rozšíření). Je však nutno poznamenat, že p -hodnoty tohoto testu kolísaly mezi cca 0,01 a 0,20 v závislosti parametrech testu (např. počet bodů pozadí) a vstupních datech (např. ořez environmentálních vrstev, velikost rastru pro výběr pozadí), a nelze jim tak přiřkládat stejnou váhu, jako empiricky dosti stabilním metrikám D a I , grafickému PCA vyjádření nik nebo Maxent modelům, které všechny indikují významný překryv mezi nikami sexuálů a apomiktů. Vzhledem ke značnému překryvu nik je zřejmé, že signifikantní odlišnost nik (jež je ale silně ovlivněna parametry modelu) není sama o sobě důvodem tak vzájemně vyhraněných areálů sexuálů a apomiktů.

Význam pro další výzkum geografické partenogeneze u *R. ser. Glandulosi* bude mít studium genetické variability v jednotlivých populacích sexuálů ve srovnání s populacemi apomiktů (zda apomikti a sexuálové jsou či nejsou geneticky odlišní, což by mohl být faktor přispívající k určité odlišnosti nik a snad i ke geografické partenogenezi) a rovněž v případných smíšených populacích sexuálů a apomiktů. Neví se ani, jak je apomixe u *ser. Glandulosi* dědičná a zda může docházet např. k introgresi genů apomixe do sexuálů (viz kapitola 5.4. Reprodukční a genetická diverzita uvnitř a mezi populacemi).

5.3.2. Modely pro období posledního glaciálního maxima (LGM)

Rozšíření ser. *Glandulosi* během LGM bylo modelováno na základě rastrů z CCSM4 a MIROC-ESM modelů. Mezi výslednými modely s projekcí na vrstvy stejného modelu (buď CCSM4, nebo MIROC-ESM) byly velké rozdíly, což bylo zřejmě způsobeno spíše výběrem použitých proměnných než geografickým rozsahem vrstev. Odlišnost podmínek v určitých oblastech, které vzhledem ke geografickému rozsahu daného modelu do něho byly či nebyly zahrnuty, by díky úpravě výběru pozadí neměla výsledek modelů ovlivnit.

V případě modelů nezahrnujících celou Evropu (modely varianty 2) se jako problematické ukázaly zejména proměnné bio2 (průměrné diurnální rozpětí teplot; tato proměnná byla nakonec vyřazena) a následně bio9 (průměrná teplota nejsuššího čtvrtletí) a bio8 (průměrná teplota nejvlhčího čtvrtletí), u nichž byly největší rozdíly mezi hodnotami v tréninkové a projekční vrstvě, což se zřejmě negativně odráželo v modelu. Největší rozdíly v teplotách mezi obdobími LGM a dneškem byly pochopitelně v tehdy zaledněných oblastech a ve vyšších zeměpisných šířkách. V nezaledněných částech Evropy byly průměrné roční teploty během LGM dle modelů o 5–10 °C nižší než dnes, v oblastech pokrytých ledovcem byly rozdíly oproti současné zimě až 40 °C (Strandberg *et al.* 2011).

Během LGM byl růst stromů limitován nejen krátkým, chladným létem a nedostatkem srážek, ale také nižší koncentrací CO₂ než je dnes (Strandberg *et al.* 2011). Již podle dřívějších názorů stromy během LGM přežívaly v malých populačních hustotách v tzv. jižních refugiiích, nacházejících se ve středních nadmořských výškách hor na západním Balkáně a Pyrenejském poloostrově (Bennett *et al.* 1991). Oba MIROC-ESM modely predikovaly vhodné podmínky v oblasti Alp a Dolomitů v severní Itálii. Např. v oblasti Euganských kopců v severní Itálii během LGM mohly (na základě atmosférických modelů) existovat vhodné mikroklimatické podmínky pro některé temperátní i mediteránní druhy stromů, které zde tehdy tvořily rozptýlené porosty a přežily zde až dodnes, např. buk lesní (*Fagus sylvatica* L.), habr obecný (*Carpinus betulus* L.), dub cesmínovitý (*Quercus ilex* L.) a další druhy (Gubler *et al.* 2018). Přítomnost těchto druhů stromů v oblasti Euganských kopců je však doložena i výskytem fosilního pylu v jezerních sedimentech (Kaltenrieder *et al.* 2009). Euganské kopce se nacházejí v relativně nízké nadmořské výšce (do 600 m n. m.) na jižním okraji oblasti s relativně vhodnými podmínkami pro *R. ser. Glandulosi*, kterou predikovaly MIROC modely. Tyto kopce tedy během LGM mohly být jednou z oblastí výskytu *R. ser. Glandulosi*. Nicméně výsledky modelů vhodnosti prostředí pro ser. *Glandulosi* nelze považovat za příliš spolehlivé (viz níže).

Dalšími refugii různých druhů opadavých stromů během LGM mohly být kromě italských refugii také oblasti na Iberském poloostrově, pohoří Pindos v Řecku, východní část pohoří Rodopy, jižní a východní břehy Černého moře, jižní břeh Kaspického moře (refugia teplomilnějších druhů stromů), jižní Francie, menší oblasti na Iberském poloostrově a v Pyrenejích, údolí horního Rýna, Balkán, Maďarsko, oblasti severně od Černého moře a další (refugia chladnomilnějších druhů stromů) (Leroy & Arpe 2007). Jedná se však o výsledky atmosférických modelů a ne ze všech zmíněných oblastí

existují přímé důkazy výskytu stromů (fosilní pyl či makrofosilie). Z konkrétních druhů stromů, jež jsou v současnosti významnější pro výskyt ostružiníků ser. *Glandulosi*, měl habr obecný (*Carpinus betulus*) na základě genetických dat během glaciálu několik refugií v Karpatech a v některých pohorích na Balkánském poloostrově (např. Dinárské hory a Rodopy) (Postolache *et al.* 2017). Palynologické důkazy o výskytu buku lesního (*Fagus sylvatica*) během posledního glaciálu pocházejí např. ze střední a jižní Itálie, jihovýchodní Francie, Řecka a několika dalších oblastí (Magri *et al.* 2006).

Ze zmíněných oblastí predikovaly relativně vhodné podmínky pro ser. *Glandulosi* CCSM4 model (varianta 2) pro východní břeh Černého moře (zde se však jednotlivá opakování modelu navzájem velmi lišila, a proto je otázkou, nakolik lze výsledek tohoto modelu považovat za spolehlivý), CCSM4 model (varianta 1; Příloha 4a) pro severní část Balkánu (včetně okolí Dinárských hor) a MIROC model (varianta 2; Příloha 5a) pro Pyreneje, jihovýchodní Francii a oblast kolem horního Rýna (kolem jihozápadní hranice Německa s Francií). Vhodné podmínky v údolí horního Rýna predikoval také CCSM4 model (varianta 1; Příloha 4a). Modely zahrnující celou Evropu (varianta 1) predikovaly vhodné podmínky také v jižní až střední části Německa nebo Beneluxu. V západní Evropě od 46° s. š. se však v pozdním pleniglaciálu během LGM nevyskytovaly žádné stromy (Tzedakis *et al.* 2013), přinejmenším v oblasti Beneluxu se tedy ostružiníky ser. *Glandulosi* zřejmě vyskytovat nemohly.

Přestože predikce vhodných podmínek pro ostružiníky ser. *Glandulosi* v některých oblastech vypadá v literárním kontextu smysluplně, nelze výsledky projekcí z několika důvodů považovat za příliš spolehlivé. Zaprvé, výsledky modelů mezi sebou výrazně lišily v závislosti na výběru tréninkových environmentálních vrstev a na projekčních vrstvách (CCSM4 vs. MIROC; viz výše). Zadruhé, v případě modelů varianty 2 byly u některých vrstev na většině území Evropy velké rozdíly mezi tréninkovými a projekčními hodnotami, což mohlo modely zkreslovat. Zatřetí, u těchto dvou modelů byla v oblastech s relativně vhodnými podmínkami (sever Itálie v MIROC modelu, Příloha 5a; malá oblast v jižní Itálii v CCSM4 modelu, bez obrázku) vhodnost prostředí téměř nereálně vysoká (nad 0,9) a hranice těchto oblastí byly velmi ostré. Začtvrté, jednotlivá opakování modelu CCSM4 (varianta 2) se navzájem výrazně lišila a na rozdíl od některých opakování, ve většině těchto opakování oblasti s vhodnějšími podmínkami pro ser. *Glandulosi* zcela chyběly. Je tedy otázkou, nakolik je výsledek tohoto modelu pravděpodobný, byť se predikce vhodných podmínek v jižní Itálii jeví relativně smysluplně (v kontextu s důkazy výskytu stromů v této oblasti). Nicméně ani na výsledky modelů varianty 1 nelze příliš spoléhat, protože alespoň v některých oblastech predikovaných těmito modely (např. Benelux) se ostružiníky během LGM zřejmě nemohly vyskytovat. Odpověď na otázku, z kterých refugií ostružiníky ser. *Glandulosi* pocházejí, tak zůstává nejasná.

Zásadním nedostatkem všech modelů totiž je, že v datech nebyly zastoupeny vzorky ze všech oblastí současného výskytu, především z Balkánu a dalších oblastí jižní Evropy, tedy oblastí, kde se ostružiníky ser. *Glandulosi* pravděpodobně vyskytovaly během LGM a odtud se rozšířily např. až do

střední Evropy. Vzhledem k rozporuplným výsledkům modelů pro období LGM tak zatím nemá velký smysl modelovat potenciální rozšíření a migraci ostružiníků ser. *Glandulosi* během následujícího období holocénu.

Stále také zůstává otázkou, co způsobilo vznik apomiktů a kdy k tomu došlo. Obecně se předpokládá, že vlivem klimatických změn mohlo v pleistocénu docházet k častější mezidruhovému hybridizaci, jež vedla ke vzniku apomiktických linií; tito apomikti byli oproti svým sexuálním předkům nepřímo zvýhodněni díky svému hybridnímu původu anebo polyploidii (Hörandl 2009).

Nicméně apomiktické druhy u *Rubus* ser. *Glandulosi* a také ser. *Discolores* a podsektory *Rubus* mohly vzniknout při polyploidizaci už před LGM. Polyploidní ostružiníky ser. *Glandulosi* zřejmě vznikly zkřížením diploidního předka dnešního tetraploidního druhu *R. caesius* L. a diploidního *R. moschus* Juz. (či jeho přímého předka), jenž je dnes endemitem Kavkazu. Sexuální tetraploidní linie ser. *Glandulosi* mohly vzniknout na Balkánském poloostrově a odtud se rozšířit do severozápadní Evropy, kde díky hybridizaci s jinými ostružiníky daly vznik mnoha apomiktickým taxonům ostružiníků, např. ze ser. *Radula* (Focke) Focke (Sochor *et al.* 2015).

Je tedy možné, že apomikti u ser. *Glandulosi* (nejen apomiktické mikrospecie, ale i neklasifikovatelné biotypy, z nichž alespoň některé lze řadit do *R. hirtus* agg.) mohli rovněž vzniknout až po migraci sexuálů z glaciálních refugií směrem do střední až západní Evropy, kde se sexuálové křížili s jinými taxony ostružiníků. Jistá odlišnost nik sexuálů a apomiktů, jež byla prokázána *background* testem (testem podobnosti nik), tak může být dána hybridním původem apomiktů. Zda jsou apomikti hybridního původu a jsou tedy geneticky odlišní od sexuálů, bude otázkou pro další výzkum.

Podle další možné hypotézy může být geografická partenogeneze u ser. *Glandulosi* způsobena migrací sexuálů z glaciálních refugií během holocénu, vznikem apomiktů na okraji areálu a následnou kompeticí mezi oběma reprodukčními skupinami, která zastavila migraci sexuálů. O případných kompetičních rozdílech mezi sexuály a apomikty však také dosud není nic známo, a ověření této hypotézy tak bude rovněž vyžadovat další výzkum, jenž by snad mohl přinést jasnější odpověď na otázku, co je důvodem geografické partenogeneze u ser. *Glandulosi*.

5.4. Reprodukční a genetická diverzita uvnitř a mezi populacemi

Podíl apomixy a sexuálního rozmnožování a s tím související genetická diverzita u fakultativně apomiktických taxonů se může lišit mezi jednotlivými populacemi i uvnitř těchto populací. Schopnost rozmnožování apomixí je přinejmenším u některých taxonů dána geneticky; její dědičnost dobře odpovídá Mendelovým zákonům (Ozias-Akins & van Dijk 2007). Apomixy se skládá ze tří složek: vznik neredukovaného megagametofytu, partenogeneze a oplození jádra zárodečného vaku umožňující vznik endospermu (pseudogamie) nebo autonomní vývoj endospermu (autonomní apomixy). Tyto tři faktory se mohou dědit do dalších generací nezávisle na sobě, protože jsou řízeny různými geny; např. u diplosporických *Taraxacum* sect. *Taraxacum* jsou partenogeneze a autonomní vývoj endospermu

řízeny dvěma vzájemně nezávislými geny (van Dijk *et al.* 2003a). V případě aposporie však mezi geny pro tvorbu neredukovaného megagametofytu a partenogenezi většinou nedochází k rekombinaci a tyto geny se dědí dominantně jako jeden lokus (Ozias-Akins 2006). Nutnost kombinace všech tří kroků je zřejmě důvodem, proč apomixe v sexuálních populacích vzniká spontánně *de novo* jen vzácně. Předpokládá se totiž, že u mnoha taxonů vznikli apomikti hybridizací sexuálních předků (Carman 1997), nicméně tato hybridizace zřejmě ovlivňuje dědičnost jen jednoho z těchto tří kroků, tvorbu neredukovaného megagametofytu (Barke *et al.* 2018).

Mezi populacemi sexuálů a apomiktů i uvnitř smíšených populací může často docházet k hybridizaci mezi oběma reprodukčními kohortami (tedy vlastně ke zpětné hybridizaci apomiktů se sexuály, pokud platí, že apomikti vznikli hybridizací svých sexuálních předků). Apomikt při křížení se sexuálním jedincem obvykle funguje jako dárcce pylu (Whitton *et al.* 2008), ale často jsou role rodičů dány primárně jejich ploidií (Sochor *et al.* 2015). Bylo zjištěno, že apomixe je geneticky dominantní nad sexualitou, např. u aposporických Maloideae *C. Weber* (Campbell *et al.* 1991). Hybridizace apomiktů se sexuály tedy může vést k introgresi apomixe do genomu sexuálů. Průměrná genotypová diverzita je u různých taxonů až na výjimky (*Ranunculus auricomus* agg., kde nebyl zjištěn rozdíl) vyšší ve smíšených populacích sexuálů a apomiktů než v alopatrických populacích (Hörandl *et al.* 2001), z čehož tedy lze vyvodit, že hybridizace apomiktů a sexuálů vede ke zvýšení genetické diverzity populací. Nicméně stabilita obou způsobů reprodukce (a případně jim odpovídajících odlišných cytotypů) jsou důležité faktory pro trvalou existenci geografické partenogeneze, jak se ukázalo např. u druhu *Ranunculus kuepferi* (Cosendai & Hörandl 2010), u něhož dochází k introgresi apomixe do jednotlivých cytotypů a ke vzniku odchylek od normální apomixe.

Není známo, jak časté jsou smíšené populace apomiktických a sexuálních jedinců u *Rubus* ser. *Glandulosi* a zda v nich také může docházet k introgresi apomixe do sexuálů hybridizací apomiktů se sexuály. Hypoteticky k hybridizaci sexuálů a apomiktů a tím k postupné introgresi apomixe do sexuálů může docházet např. v severních Čechách v úzkém pásu výskytu sexuálů obklopeném areálem apomiktů; v těchto sexuálních vzorcích bylo zjištěno vždy jedno apomiktické semeno a někdy i semena s dihaploidním embryem. U jiných taxonů se smíšené populace vyskytují častěji, nicméně sexuálové a apomikti se zpravidla liší ploidií. Např. u *Taraxacum* sect. *Taraxacum* se vyskytují smíšené populace diploidních sexuálů a triploidních apomiktů, mezi nimiž existují podobné genetické vztahy, což naznačuje, že zřejmě dochází ke zpětnému křížení sexuálů a apomiktů a genovému toku mezi nimi (Meirmans *et al.* 2003). Ve smíšených populacích u druhu *Potentilla puberula* Krašán, kde se sexuálové a apomikti liší ploidií a dochází u nich navzájem k opylení, jsou sexuálové oproti apomiktům v nevýhodě, protože při opylení pylem apomiktů tvoří výrazně méně semen, zatímco množství semen u apomiktů při opylení pylem sexuálů není ovlivněno (Dobeš *et al.* 2018).

Otázkou je také, jak se liší podíl apomiktických semen mezi jedinci v populaci (a dokonce mezi jedinci stejného genotypu), což lze zjistit FCSS analýzou semen z více jedinců. Schopnost rozmnožování apomixí je sice dědičná, ale vzhledem k tomu, že fakultativní apomikti obecně mohou

tvořit sexuální a apomiktická semena v různém poměru, lze konstatovat, že aktuální stupeň sexuality a apomixe ovlivňují i další faktory, jako je např. stabilizovanost apomiktického genotypu a environmentální faktory. U mikrospecie *Rubus barberi*, u níž se předpokládá (převažující) apomixe, bylo u dvou zde analyzovaných vzorků zjištěno sexuální rozmnožování u jednoho jedince (vzorek FS 8/19) a apomixe u jiného jedince (vzorek FS 10/19). Oba jedinci sice pocházeli z různých lokalit (vzdálených od sebe 30 km), nicméně jednalo se o stejný genotyp (nepublikovaná SSR data). Tento jev lze vysvětlit dvěma způsoby: buď je tento genotyp příliš mladý a nestabilizovaný a může proto tvořit různý podíl sexuálních a apomiktických semen, nebo může u tohoto taxonu, byť je obvykle apomiktický, někdy docházet k reverzi k sexualitě (M. Sochor, osobní sdělení).

Sexualita může být u apomiktických linií či taxonů vyvolána environmentálním stresem, např. vysokými teplotami anebo suchem, např. u *Rubus bifrons* Vest (Šarhanová *et al.* 2012). Naopak u *Paspalum intermedium* Munro *ex* Morong & Britton byla vyšší frekvence sexuálního rozmnožování zjištěna při nízkých teplotách a také při větším kolísání teplot během dne, byť v podílu sexuálního rozmnožování a apomixe byly velké mezipopulační i vnitropopulační rozdíly (Karunaratne *et al.* 2020). Nelze proto vyloučit, že také u vzorku FS 8/19 taxonu *Rubus barberi* mohl být environmentální stres příčinou sexuality. Hypoteticky sexuální rozmnožování může pomoci snížit následky oxidativního stresu, který je s environmentálním stresem spojený (Hörandl & Hadacek 2013). Na druhou stranu, v některých případech se při environmentálním stresu naopak zvýšil podíl apomixe na úkor sexuálního rozmnožování, např. u diploidních cytotypů *Ranunculus kuepferi* po vystavení nízkým teplotám (Klatt *et al.* 2018). U tetraploidních cytotypů tohoto druhu, jež jsou tolerantnější k širokému teplotnímu rozsahu, může apomixe představovat adaptaci na nízké teploty (Klatt *et al.* 2018). Polyploidie totiž může nepřímo pozitivně ovlivňovat odolnost k environmentálnímu stresu podobně jako sexuální rozmnožování, nicméně toto tvrzení vyžaduje další ověření (Hörandl & Hadacek 2013).

S vnitropopulační reprodukční diverzitou úzce souvisí genetická diverzita. Apomixe byla dříve považována za slepou uličku evoluce kvůli předpokládané nízké genetické diverzitě (Stebbins 1950), ale bylo zjištěno, že i v populacích, kde je sexuální rozmnožování vzácné, se vyskytuje více apomiktických genotypů a genetická diverzita je středně vysoká (Ellstrand & Roose 1987), nicméně je nižší ve srovnání se sexuály (Paun *et al.* 2006; Hörandl & Paun 2007). Apomikti jsou naopak při srovnání se sexuály obvykle více heterozygotní (Paun *et al.* 2006; Hörandl & Paun 2007). Zdrojem genetické diverzity apomiktických populací jsou mutace, fakultativní sexualita, zpětná hybridizace apomiktů se sexuály (viz výše) a mnohonásobný vznik apomiktů z různých sexuálních předků (Hörandl 2004). Fakultativní sexualita výrazně ovlivňuje genetickou diverzitu populací v menším časovém měřítku, nicméně její frekvence se v rámci taxonů i jednotlivých populací může výrazně lišit (Hörandl & Paun 2007). Mutace naopak v menším časovém měřítku nemají velký význam, navíc se předpokládá, že většina mutací v kódujících oblastech má negativní vliv na fitness (Hörandl & Paun 2007). Právě fakultativní sexualita (i ve velmi omezené míře) však zabraňuje akumulaci škodlivých

mutací u apomiktů (Hodač *et al.* 2019). Otázkou však zůstává, jak úzce koreluje podíl sexuálně odvozených semen fakultativního apomikta s genotypovou (klonální) diverzitou jeho potomstva. Jelikož vzhledem k různým okolnostem nebylo možno vygenerovat vlastní prezentovatelná data v rámci předložené práce, tato problematika bude předmětem dalšího studia.

Vnitropopulační genetickou diverzitu (např. rozlišení jednotlivých genotypů) můžeme studovat pomocí mikrosatelitních markerů (SSR; *simple sequence repeats*, repetice jednoduchých sekvencí). Mikrosatelity jsou kodominantní, robustní a reprodučibilní markery, jež jsou vysoce variabilní (Powell *et al.* 1996) a kromě populační genetiky se používají také např. v konzervační genetice a při šlechtění (Oliveira *et al.* 2006). Jejich variabilita je způsobena chybami při rekombinaci, nerovnoměrným crossing-overem nebo sklouznutím polymerázy při replikaci (Oliveira *et al.* 2006). Velká variabilita mikrosatelitů však může často vést ke vzniku alel, které sice mají stejnou velikost, ale nemusí mít stejný původ (homoplázie; Estoup *et al.* 2002), což může výrazně zkreslovat výsledky mikrosatelitních genetických analýz a podhodnocovat skutečnou genetickou variabilitu (Šarhanová *et al.* 2017). Ačkoliv se mikrosatelity zdají být téměř ideální pro identifikaci genotypů a kvantifikaci genotypové diverzity (Király *et al.* 2017), pro jiné aplikace nejsou z důvodu homoplázie příliš vhodné. Například pro zjištění, zda jsou apomikti hybridního původu, může být vhodnější RADseq (*restriction-site associated DNA* sekvenování) či jiné metody generující sekvenční multilokusová data napříč genomem. Podle předběžných dat založených na RADseq jsou někteří (avšak ne všichni) apomikti u ostružiníků *R. ser. Glandulosi* hybridního původu, ale jiní vznikli přímo ze svých sexuálních předků a v heterozygotnosti sexuálů a apomiktů nebyl zjištěn rozdíl (M. Sochor, nepublikovaná data).

Vnitropopulační genetická diverzita u *ser. Glandulosi* bude teprve otázkou dalšího výzkumu, ale z předběžných dat je zřejmé, že některé genotypy (zpravidla apomiktické) se vyskytují na více lokalitách (M. Sochor, nepublikovaná SSR data); ze vzorků, jež byly již analyzovány i metodou FCSS, byly lokality dvou vzorků patřících ke stejnému genotypu navzájem vzdáleny až 48 km. Vzhledem k fakultativní sexualitě zjištěné u většiny apomiktických vzorků (pouze u tří apomiktických vzorků o 10 semenech byla všechna semena apomiktická; Příloha 8) a pravděpodobně neustálému generování nových apomiktických genotypů však lze očekávat, že v rámci jednotlivých populací bude zjištěno více genotypů. To podporuje i zjištění, že mezi 48 dosud analyzovanými apomiktickými jedinci (sbíranými napříč zde studovaným regionem) bylo identifikováno 29 genotypů a 19 z nich bylo zatím zjištěno jen jednou (M. Sochor, nepublikovaná data). Soubor jedinců analyzovaných v této práci metodou FCSS tak zřejmě bude genotypově dosti pestrý.

6. Závěr

Diplomová práce stručně shrnuje dosavadní znalosti o apomixi, sexuálním rozmnožování a s tím související geografické partenogenezi u *Rubus* ser. *Glandulosi* a krytosemenných rostlin obecně. Dále popisuje ekologické modelování a zejména modelování ekologických nik, jež má význam pro určení ekologických nároků daného taxonu a zjištění jeho potenciálního rozšíření.

Cílem práce bylo rozšířit a zpřesnit dosavadní znalosti o výskytu sexuálního rozmnožování a apomixy u ser. *Glandulosi* a pomocí modelování ekologických nik zjistit, zda faktorem způsobujícím geografickou partenogenezi u tohoto taxonu je odlišnost nik sexuálů a apomiktů či tento fenomén souvisí s rozšířením ostružiníků během posledního glaciálního maxima (LGM) a jejich migrací během následujícího období holocénu či s jinými jevy.

Průtokovou cytometrií (metodou FCSS) bylo analyzováno 1 467 semen ze 155 vzorků. Na základě ploidie embrya a endospermu byl určen způsob reprodukce u těchto semen a podle podílu apomiktických semen byly vzorky klasifikovány do tří kategorií: sexuální, fakultativně sexuální a fakultativně apomiktické. Mezi areály sexuálů a apomiktů byla zjištěna poměrně ostrá hranice procházející územím ČR jihozápadně-severovýchodním směrem, přičemž sexuální se vyskytovali v jihovýchodní a apomikti v severozápadní části areálu *R. ser. Glandulosi*.

Modelování ekologických nik a testy překryvu nik odhalily značný překryv nik sexuálů a apomiktů, přestože byly niky signifikantně odlišné (p-hodnoty však značně kolísaly dle parametrů testu). V projekcích modelů pro období LGM však byla velkým problémem absence dat z jižní Evropy, v níž se tyto ostružiníky pravděpodobně tehdy vyskytovaly a rozšířily se odtud do zbytku současného areálu. Výsledky LGM projekcí se i kvůli tomu značně lišily a není tak jasné, z které konkrétní oblasti ostružiníky *R. ser. Glandulosi* pocházejí, či jak široce rozšířené mohly během poslední velké restrikce svého areálu být.

Vzhledem k velkému překryvu nik sexuálů a apomiktů lze soudit, že samotná odlišnost nik dostatečně nevysvětluje geografickou partenogenezi, a tento fenomén tak bude souviset spíše s historickými procesy. Jednou z hypotéz je scénář zahrnující migraci sexuálů z glaciálních refugií během holocénu, generování apomiktů na okraji nově obsazeného areálu (hybridizací či jinak) a následné ustanovení geografické hranice mezi oběma reprodukčními skupinami v důsledku kompetice. Další výzkum, který se zaměří na možné genetické a kompetiční rozdíly mezi sexuálními a apomikty, by snad mohl vnést světlo do této pozoruhodné problematiky.

7. Literatura

- Asker S. & Jerling L. (1992): Apomixis in plants. – CRC Press, Boca Raton.
- Baker H. G. (1965): Characteristics and modes of origin of weeds. – In: Baker H. G. & Stebbins G. L. (eds), *The Genetics of Colonizing Species*, pp. 147–172, Academic Press, New York.
- Baker H. G. (1967): Support for Baker's Law – as a rule. – *Evolution* 21: 853–856.
- Barke B. H., Daubert M. & Hörandl E. (2018): Establishment of apomixis in diploid F2 hybrids and inheritance of apospory from F1 to F2 hybrids of the *Ranunculus auricomus* complex. – *Front. Plant Sci.* 9: 1111.
- Bayer R. J. (1990): Investigations into the evolutionary history of the *Antennaria rosea* (Asteraceae: Inuleae) polyploid complex. – *Plant Syst. Evol.* 169: 97–110.
- Bell G. (1982): *The masterpiece of nature: the evolution and genetics of sexuality*. – Croom Helm, Londýn.
- Bennett K. D., Tzedakis P. C. & Willis K. J. (1991): Quaternary refugia of north European trees. – *J. Biogeogr.* 18: 103–115.
- Bicknell R. A. (1997): Isolation of a diploid, apomictic plant of *Hieracium aurantiacum*. – *Sex. Plant Reprod.* 10: 167–172.
- Bicknell R. A. & Koltunow A. M. (2004): Understanding apomixis: recent advances and remaining conundrums. – *Plant Cell* 16: 228–245.
- Bierzychudek P. (1985): Patterns in plant parthenogenesis. – *Experientia* 41: 1255–1264.
- Bierzychudek P. (1989): Environmental sensitivity of sexual and apomictic *Antennaria*: do apomicts have general-purpose genotypes? – *Evolution* 43: 1456–1466.
- Brukhin V., Osadchiy J. V., Florez-Rueda A. M., Smetanin D., Bakin E., Nobre M. S. & Grossniklaus U. (2019): The *Boechera* genus as a resource for apomixis research. – *Front. Plant Sci.* 10: 392.
- Burgess M. B., Cushman K. R., Doucette E. T., Talent N., Frye C. T. & Campbell C. S. (2014): Effects of apomixis and polyploidy on diversification and geographic distribution in *Amelanchier* (Rosaceae). – *Am. J. Bot.* 101: 1375–1387.
- Burson B. L., Hussey M. A., Actkinson J. M. & Shafer G. S. (2002): Effect of pollination time on the frequency of $2n + n$ fertilization in apomictic buffelgrass. – *Crop Sci.* 42: 1075–1080.
- Caetano A. P. S., Simão D. G., Carmo-Oliveira R. & Oliveira P. E. (2013): Diplospory and obligate apomixis in *Miconia albicans* (Miconieae, Melastomataceae) and an embryological comparison with its sexual congener *M. chamissois*. – *Plant Syst. Evol.* 299: 1253–1262.
- Campbell C. S., Greene C. W. & Dickinson T. A. (1991): Reproductive biology in subfam. Maloideae (Rosaceae). – *Syst. Bot.* 16: 333–349.
- Carman J. G. (1997): Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, bispority, tetraspority, and polyembryony. – *Biol. J. Linn. Soc.* 61: 51–94.
- Carman J. G., Jamison M., Elliott E., Dwivedi K. K. & Naumova T. N. (2011): Apospory appears to accelerate onset of meiosis and sexual embryo sac formation in sorghum ovules. – *BMC Plant Biol.* 11: 1–13.
- Case T. J. & Taper M. L. (1986): On the coexistence and coevolution of asexual and sexual competitors. – *Evolution* 40: 366–387.
- Clay K. & Kover P. X. (1996): The Red Queen hypothesis and plant/pathogen interactions. – *Annu.*

- Rev. Phytopatology 34: 29–50.
- Comai L. (2005): The advantages and disadvantages of being polyploid. – *Nat. Rev. Genet.* 6: 836–846.
- Cosendai A. C. & Hörandl E. (2010): Cytotype stability, facultative apomixis and geographical parthenogenesis in *Ranunculus kuepferi* (Ranunculaceae). – *Ann. Bot.* 105: 457–470.
- Czapik R. (1981): Elementary apomictic processes in *Rubus* L. – *Acta Soc. Bot. Pol.* 50: 201–204.
- Czapik R. (1983): The secondary nucleus in four species of the genus *Rubus*. – *Acta Biol. Cracoviensia, Ser. Bot.* 25: 179–188.
- Daget P. (1977): Analyse des formes climatiques par le système d'emberger. – *Vegetatio* 34: 87–103.
- Danihelka J., Chrtek J. & Kaplan Z. (2012): Checklist of vascular plants of the Czech Republic. – *Preslia* 84: 647–811.
- Di Cola V., Broennimann O., Petitpierre B., Breiner F. T., D'Amen M., Randin C., Engler R., Pottier J., Pio D., Dubuis A., Pellissier L., Mateo R. G., Hordijk W., Salamin N. & Guisan A. (2016): ecospat: an R package to support spatial analyses and modeling of species niches and distributions. – *Ecography* 40: 774–787.
- Dobeš C., Lückl A., Hülber K. & Paule J. (2013): Prospects and limits of the flow cytometric seed screen – insights from *Potentilla sensu lato* (Potentilleae, Rosaceae). – *New Phytol.* 198: 605–616.
- Dobeš C., Scheffknecht S., Fenko Y., Prohaska D., Sykora C. & Hülber K. (2018): Asymmetric reproductive interference: the consequences of cross-pollination on reproductive success in sexual–apomictic populations of *Potentilla puberula* (Rosaceae). – *Ecol. Evol.* 8: 365–381.
- Doležel J., Binarová P. & Lucretti S. (1989): Analysis of nuclear DNA content in plant cells by flow cytometry. – *Biol. Plant.* 31: 113–120.
- Dowrick G. J. (1966): Breeding systems in tetraploid *Rubus* species. – *Genet. Res.* 7: 245–253.
- Einset J. (1951): Apomixis in American polyploid blackberries. – *Am. J. Bot.* 38: 768–772.
- Elith J., H. Graham C., P. Anderson R., Dudík M., Ferrier S., Guisan A., J. Hijmans R., Huettmann F., R. Leathwick J., Lehmann A., Li J., G. Lohmann L., A. Loiselle B., Manion G., Moritz C., Nakamura M., Nakazawa Y., McC. M. Overton J., Townsend Peterson A., J. Phillips S., Richardson K., Scachetti-Pereira R., E. Schapire R., Soberón J., Williams S., S. Wisz M. & E. Zimmermann N. (2006): Novel methods improve prediction of species' distributions from occurrence data. – *Ecography* 29: 129–151.
- Ellstrand N. C. & Roose M. L. (1987): Patterns of genotypic diversity in clonal plant species. – *Am. J. Bot.* 74: 123–131.
- Estoup A., Jarne P. & Cornuet J.-M. (2002): Homoplasy and mutation model at microsatellite loci and their consequences for population genetics analysis. – *Mol. Ecol.* 11: 1591–1604.
- Fick S. E. & Hijmans R. J. (2017): WorldClim 2: new 1km spatial resolution climate surfaces for global land areas. – *Int. J. Climatol.* 37: 4302–4315.
- Flor H. H. (1971): Current status of the gene-for-gene concept. – *Annu. Rev. Phytopatology* 9: 275–296.
- Forejtová V. (2019): Geografická partenogeneze v tetraploidním komplexu *Rubus* ser. *Glandulosi*. – Bakalářská práce, Katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého, Olomouc.
- Gent P. R., Danabasoglu G., Donner L. J., Holland M. M., Hunke E. C., Jayne S. R., Lawrence D. M., Neale R. B., Rasch P. J., Vertenstein M., Worley P. H., Yang Z.-L. & Zhang M. (2011): The

- community climate system model version 4. – *J. Clim.* 24: 4973–4991.
- Glesener R. R. & Tilman D. (1978): Sexuality and the components of environmental uncertainty: clues from geographic parthenogenesis in terrestrial animals. – *Am. Nat.* 112: 659–673.
- Gregory T. R. (2001): Coincidence, coevolution, or causation? DNA content, cell size, and the C-value enigma. – *Biol. Rev.* 76: 65–101.
- Greilhuber J., Tensch E. M. & Loureiro J. C. M. (2007): Nuclear DNA content measurement. – In: Doležel J., Greilhuber J. & Suda J. (eds), *Flow cytometry with plant cells*, pp. 67–101, Wiley-VCH Verlag, Weinheim.
- Grimanelli D., Hernández M., Perotti E. & Savidan Y. (1997): Dosage effects in the endosperm of diplosporous apomictic *Tripsacum* (Poaceae). – *Sex. Plant Reprod.* 10: 279–282.
- Gubler M., Henne P. D., Schwörer C., Boltshauser-Kaltenrieder P., Lotter A. F., Brönnimann S. & Tinner W. (2018): Microclimatic gradients provide evidence for a glacial refugium for temperate trees in a sheltered hilly landscape of Northern Italy. – *J. Biogeogr.* 45: 2564–2575.
- Haag C. R. & Ebert D. (2004): A new hypothesis to explain geographic parthenogenesis. – *Ann. Zool. Fennici* 41: 539–544.
- Hijmans R. J., Garrett K. A., Huamán Z., Zhang D. P., Schreuder M. & Bonierbale M. (2000): Assessing the geographic representativeness of genebank collections: the case of Bolivian wild potatoes. – *Conserv. Biol.* 14: 1755–1765.
- Hirzel A. H. & Le Lay G. (2008): Habitat suitability modelling and niche theory. – *J. Appl. Ecol.* 45: 1372–1381.
- Hodač L., Klatt S., Hojsgaard D. H., Sharbel T. F. & Hörandl E. (2019): A little bit of sex prevents mutation accumulation even in apomictic polyploid plants. – *BMC Evol. Biol.* 19: 1–11.
- Hojsgaard D. H., Greilhuber J., Pellino M., Paun O., Sharbel T. F. & Hörandl E. (2014): Emergence of apospory and bypass of meiosis via apomixis after sexual hybridisation and polyploidisation. – *New Phytol.* 204: 1000–1012.
- Hojsgaard D. H. & Hörandl E. (2019): The rise of apomixis in natural plant populations. – *Front. Plant Sci.* 10: 358.
- Hojsgaard D. H., Martínez E. J. & Quarin C. L. (2013): Competition between meiotic and apomictic pathways during ovule and seed development results in clonality. – *New Phytol.* 197: 336–347.
- Holub J. (1995): *Rubus* L. – ostružiník (maliník, moruška, ostružinec, ostružiníček). – In: Slavík B. (ed.), *Květena České republiky* 4, pp. 54–206, Academia, Praha.
- Hörandl E. (2004): Comparative analysis of genetic divergence among sexual ancestors of apomictic complexes using isozyme data. – *Int. J. Plant Sci.* 165: 615–622.
- Hörandl E. (2006): The complex causality of geographical parthenogenesis. – *New Phytol.* 171: 525–538.
- Hörandl E. (2008): Evolutionary implications of self-compatibility and reproductive fitness in the apomictic *Ranunculus auricomus* polyploid complex (Ranunculaceae). – *Int. J. Plant Sci.* 169: 1219–1228.
- Hörandl E. (2009): Geographical parthenogenesis: opportunities for asexuality. – In: Schön I., Martens K. & van Dijk P. J. (eds), *Lost sex*, pp. 161–186, Springer, Amsterdam.
- Hörandl E. (2010): The evolution of self-fertility in apomictic plants. – *Sex. Plant Reprod.* 23: 73–86.
- Hörandl E., Cosendai A. C. & Tensch E. M. (2008): Understanding the geographic distributions of apomictic plants: a case for a pluralistic approach. – *Plant Ecol. Divers.* 1: 309–320.

- Hörandl E. & Hadacek F. (2013): The oxidative damage initiation hypothesis for meiosis. – *Plant Reprod.* 26: 351–367.
- Hörandl E., Jakubowsky G. & Dobeš C. (2001): Isozyme and morphological diversity within apomictic and sexual taxa of the *Ranunculus auricomus* complex. – *Plant Syst. Evol.* 226: 165–185.
- Hörandl E. & Paun O. (2007): Patterns and sources of genetic diversity in apomictic plants: implications for evolutionary potentials. – In: Hörandl E., Grossniklaus U., van Dijk P. J. & Sharbel T. F. (eds), A.R.G. Gantner Verlag, Rugell.
- Jakob S. S., Heibl C., Rödder D. & Blattner F. R. (2010): Population demography influences climatic niche evolution: evidence from diploid American *Hordeum* species (Poaceae). – *Mol. Ecol.* 19: 1423–1438.
- Jennings D. L., Craig D. L. & Topham P. B. (1967): The role of the male parent in the reproduction of *Rubus*. – *Heredity* 22: 43–55.
- Jørgensen S. E. (2008): Overview of the model types available for development of ecological models. – *Ecol. Modell.* 215: 3–9.
- Jørgensen S. E. (2009): *Ecological modelling: an introduction*. – WIT Press, Southampton.
- Jørgensen S. E. & Bendoricchio G. (2001): *Fundamentals of ecological modelling*. – Elsevier, Oxford.
- Kaltenrieder P., Belis C. A., Hofstetter S., Ammann B., Ravazi C. & Tinner W. (2009): Environmental and climatic conditions at a potential Glacial refugial site of tree species near the Southern Alpine glaciers. New insights from multiproxy sedimentary studies at Lago della Costa (Euganean Hills, Northeastern Italy). – *Quat. Sci. Rev.* 28: 2647–2662.
- Kantama L., Sharbel T. F., Schranz M. E., Mitchell-Olds T., de Vries S. & de Jong H. (2007): Diploid apomicts of the *Boechera holboellii* complex display large-scale chromosome substitutions and aberrant chromosomes. – *PNAS* 104: 14026–14031.
- Karunaratne P., Reutemann A. V., Schendler M., Glücksberg A., Martínez E. J., Honfi A. I. & Hojsgaard D. H. (2020): Sexual modulation in a polyploid grass: a reproductive contest between environmentally inducible sexual and genetically dominant apomictic pathways. – *Sci. Rep.* 10: 1–14.
- Kenny N. T. (1996): A test of the general-purpose genotype hypothesis in sexual and asexual *Erigeron* species. – *Am. Midl. Nat.* 136: 1–13.
- Király G., Sochor M. & Trávníček B. (2017): Reopening an old chapter: a revised taxonomic and evolutionary concept of the *Rubus montanus* group. – *Preslia* 89: 309–331.
- Klatt S., Schinkel C. C. F., Kirchheimer B., Dullinger S. & Hörandl E. (2018): Effects of cold treatments on fitness and mode of reproduction in the diploid and polyploid alpine plant *Ranunculus kuepferi* (Ranunculaceae). – *Ann. Bot.* 121: 1287–1298.
- Kollmann J., Steinger T. & Roy B. A. (2000): Evidence of sexuality in European *Rubus* (Rosaceae) species based on AFLP and allozyme analysis. – *Am. J. Bot.* 87: 1592–1598.
- Koltunow A. M. (1993): Apomixis: embryo sacs and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. – *Plant Cell* 5: 1425–1437.
- Koltunow A. M. & Grossniklaus U. (2003): Apomixis: A developmental perspective. – *Annu. Rev. Plant Biol.* 54: 547–574.
- Krahulcová A., Trávníček B. & Šarhanová P. (2013): Karyological variation in the genus *Rubus*, subgenus *Rubus*: New data from the Czech Republic and synthesis of the current knowledge of European species. – *Preslia* 85: 19–39.

- Kurtto A., Weber H. E., Lampinen R. & Sennikov A. N. (2010): Atlas Florae Europaeae. Distribution of vascular plants in Europe. 15. Rosaceae (*Rubus*). – The Committee for Mapping the Flora of Europe & Societas Biologica Fennica Vanamo, Helsinki.
- Ladle R. J., Johnstone R. A. & Judson O. P. (1993): Coevolutionary dynamics of sex in a metapopulation: escaping the Red Queen. – Proc. R. Soc. London Ser. B: Biol. Sci. 253: 155–160.
- Leroy S. A. G. & Arpe K. (2007): Glacial refugia for summer-green trees in Europe and south-west Asia as proposed by ECHAM3 time-slice atmospheric model simulations. – J. Biogeogr. 34: 2115–2128.
- Levin D. A. (1975): Pest pressure and recombination systems in plants. – Am. Nat. 109: 437–451.
- Liu D.-D., Fang M.-J., Dong Q.-L., Hu D.-G., Zhou L.-J., Sha G.-L., Jiang Z.-W., Liu Z. & Hao Y.-J. (2014): Unreduced embryo sacs escape fertilization via a ‘female-late-on-date’ strategy to produce clonal seeds in apomictic crabapples. – Sci. Hortic. 167: 76–83.
- Lynch M. (1984): Destabilizing hybridization, general-purpose genotypes and geographic parthenogenesis. – Q. Rev. Biol. 59: 257–290.
- Magri D., Vendramin G. G., Comps B., Dupanloup I., Geburek T., Gömöry D., Latalowa M., Litt T., Paule L., Roure J. M., Tantau I., van der Knaap W. O., Petit R. J. & de Beaulieu J.-L. (2006): A new scenario for the Quaternary history of European beech populations: palaeobotanical evidence and genetic consequences. – New Phytol. 171: 199–221.
- Matzk F., Meister A. & Schubert I. (2000): An efficient screen for reproductive pathways using mature seeds of monocots and dicots. – Plant J. 21: 97–108.
- Meirmans P. G., Vlot E. C., Den Nijs J. C. M. & Menken S. B. J. (2003): Spatial ecological and genetic structure of a mixed population of sexual diploid and apomictic triploid dandelions. – J. Evol. Biol. 16: 343–352.
- Merow C., Smith M. J. & Silander J. A. J. (2013): A practical guide to MaxEnt for modeling species’ distributions: what it does, and why inputs and settings matter. – Ecography 36: 1058–1069.
- Mráz P., Chrtěk J. & Šingliarová B. (2009): Geographical parthenogenesis, genome size variation and pollen production in the arctic-alpine species *Hieracium alpinum*. – Bot. Helv. 119: 41–51.
- Muller H. J. (1964): The relation of recombination to mutational advance. – Mutat. Res. 1: 2–9.
- Naumova T. N., Hayward M. D. & Wagenvoort M. (1999): Apomixis and sexuality in diploid and tetraploid accessions of *Brachiaria decumbens*. – Sex. Plant Reprod. 12: 43–52.
- Naumova T. N., van der Laak J., Osadchij J., Matzk F., Kravtchenko A., Bergervoet J., Ramulu K. S. & Boutilier K. (2001): Reproductive development in apomictic populations of *Arabis holboellii* (Brassicaceae). – Sex. Plant Reprod. 14: 195–200.
- Nogler G. A. (1984): Gametophytic apomixis. – In: Johri B. M. (ed.), Embryology of angiosperms, pp. 475–518, Springer-Verlag, Berlin.
- Noyes R. D. & Wagner J. D. (2014): Dihaploidy yields diploid apomicts and parthenogens in *Erigeron* (Asteraceae). – Am. J. Bot. 101: 865–874.
- Nybom H. (1987): Pollen-limited seed set in pseudogamous blackberries (*Rubus* L. subgen. *Rubus*). – Oecologia 72: 562–568.
- Oliveira E. J., Pádua J. G., Zucchi M. I., Vencovsky R. & Vieira M. L. C. (2006): Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. – Genet. Mol. Biol. 29: 294–307.
- Ozias-Akins P. (2006): Apomixis: developmental characteristics and genetics. – Crit. Rev. Plant Sci.

25: 199–214.

- Ozias-Akins P. & van Dijk P. J. (2007): Mendelian genetics of apomixis in plants. – *Annu. Rev. Genet.* 41: 509–537.
- Paun O., Greilhuber J., Temsch E. M. & Hörandl E. (2006): Patterns, sources and ecological implications of clonal diversity in apomictic *Ranunculus carpaticola* (*Ranunculus auricomus* complex, Ranunculaceae). – *Mol. Ecol.* 15: 897–910.
- Peck J. R., Yearsley J. & Barreau G. (1999): The maintenance of sexual reproduction in a structured population. – *Proc. R. Soc. London Ser. B: Biol. Sci.* 266: 1857–1863.
- Peck J. R., Yearsley J. M. & Waxman D. (1998): Explaining the geographic distributions of sexual and asexual populations. – *Nature* 391: 889–892.
- Peterson A. T. (2006): Uses and requirements of ecological niche models and related distributional models. – *Biodivers. Informatics* 3: 59–72.
- Peterson A. T. & Cohoon K. P. (1999): Sensitivity of distributional prediction algorithms to geographic data completeness. – *Ecol. Modell.* 117: 159–164.
- Peterson A. T. & Nakazawa Y. (2008): Environmental data sets matter in ecological niche modelling: an example with *Solenopsis invicta* and *Solenopsis richteri*. – *Glob. Ecol. Biogeogr.* 17: 135–144.
- Petschel-Held G., Block A., Cassel-Gintz M., Kropp J., Lüdeke M. K. B., Moldenhauer O., Reusswig F. & Schellnhuber H. J. (1999): Syndromes of Global Change: a qualitative modelling approach to assist global environmental management. – *Environ. Model. Assess.* 4: 295–314.
- Philips S. J., Anderson R. P. & Schapire R. E. (2006): Maximum entropy modeling of species geographic distributions. – *Ecol. Modell.* 190: 231–259.
- Pinc J., Chrtek J., Latzel V. & Mráz P. (2020): Negative effect of inbreeding on fitness of an arctic-alpine *Hieracium alpinum* (Asteraceae), a species with a geographical parthenogenesis distribution pattern. – *Plant Syst. Evol.* 306: 1–10.
- Pladias – databáze české flóry a vegetace (2021). –
URL: <https://pladias.cz/taxon/data/Rubus%20hirtus%20infraagg.#7> (navštíveno 22. 4. 2021).
- Postolache D., Popescu F., Paule L., Ballian D., Zhelev P., Fărcaș S., Paule J. & Badea O. (2017): Unique postglacial evolution of the hornbeam (*Carpinus betulus* L.) in the Carpathians and the Balkan Peninsula revealed by chloroplast DNA. – *Sci. Total Environ.* 599: 1493–1502.
- Powell W., Machray G. C. & Provan J. (1996): Polymorphism revealed by simple sequence repeats. – *Trends Plant Sci.* 1: 215–222.
- Pratt C. & Einset J. (1955): Development of the embryo sac in some American blackberries. – *Am. J. Bot.* 42: 637–645.
- QGIS Development Team (2018): QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. – URL: <https://qgis.org/en/site>.
- Qiao H., Soberón J. & Peterson A. T. (2015): No silver bullets in correlative ecological niche modelling: insights from testing among many potential algorithms for niche estimation. – *Methods Ecol. Evol.* 6: 1126–1136.
- R Development Core Team (2020): R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vídeň. – URL: <https://www.r-project.org>.
- Rödger D. & Engler J. O. (2011): Quantitative metrics of overlaps in Grinnellian niches: advances and possible drawbacks. – *Glob. Ecol. Biogeogr.* 20: 915–927.

- Rotino G. L., Sihachakr D., Rizza F., Valè G., Tacconi M. G., Alberti P., Mennella G., Sabatini E., Toppino L., D'Alessandro A. & Acciarri N. (2005): Current status in production and utilization of dihaploids from somatic hybrids between eggplant (*Solanum melongena* L.) and its wild relatives. – *Acta Physiol. Plant.* 27: 723–733.
- Roubicek A. J., VanDerWal J., Beaumont L. J., Pitman A. J., Wilson P. & Hughes L. (2010): Does the choice of climate baseline matter in ecological niche modelling? – *Ecol. Modell.* 221: 2280–2286.
- Šarhanová P., Sharbel T. F., Sochor M., Vašut R. J., Dančák M. & Trávníček B. (2017): Hybridization drives evolution of apomicts in *Rubus* subgenus *Rubus*: evidence from microsatellite markers. – *Ann. Bot.* 120: 317–328.
- Šarhanová P., Vašut R. J., Dančák M., Bureš P. & Trávníček B. (2012): New insights into the variability of reproduction modes in European populations of *Rubus* subgen. *Rubus*: How sexual are polyploid brambles? – *Sex. Plant Reprod.* 25: 319–335.
- Schinkel C. C. F., Kirchheimer B., Dellinger A. S., Klatt S., Winkler M., Dullinger S. & Hörandl E. (2016): Correlations of polyploidy and apomixis with elevation and associated environmental gradients in an alpine plant. – *AoB Plants* 8.
- Schoener T. W. (1968): The Anolis lizards of Bimini: resource partitioning in a complex fauna. – *Ecology* 49: 704–726.
- Senf C. & Seidl R. (2017): Natural disturbances are spatially diverse but temporally synchronized across temperate forest landscapes in Europe. – *Glob. Chang. Biol.* 24: 1201–1211.
- Siena L. A., Sartor M. E., Espinoza F., Quarin C. L. & Ortiz J. P. A. (2008): Genetic and embryological evidences of apomixis at the diploid level in *Paspalum rufum* support recurrent autopolyploidization in the species. – *Sex. Plant Reprod.* 21: 205–215.
- Sochor M., Šarhanová P., Pfanzelt S. & Trávníček B. (2017): Is evolution of apomicts driven by the phylogeography of the sexual ancestor? Insights from European and Caucasian brambles (*Rubus*, Rosaceae). – *J. Biogeogr.* 44: 2717–2728.
- Sochor M., Trávníček B. & Király G. (2019): Ploidy level variation in the genus *Rubus* in the Pannonian Basin and the northern Balkans, and evolutionary implications. – *Plant Syst. Evol.* 305: 611–626.
- Sochor M., Vašut R. J., Sharbel T. F. & Trávníček B. (2015): How just a few makes a lot: speciation via reticulation and apomixis on example of European brambles (*Rubus* subgen. *Rubus*, Rosaceae). – *Mol. Phylogenet. Evol.* 89: 13–27.
- Soetaert K. & Herman P. M. J. (2009): A practical guide to ecological modelling: using R as a simulation platform. – Springer, Yerseke.
- Song Y., Scheu S. & Drossel B. (2011): Geographic parthenogenesis in a consumer-resource model for sexual reproduction. – *J. Theor. Biol.* 273: 55–62.
- Spitzer B. W. & Haygood R. (2007): Migration load and the coexistence of ecologically similar sexuals and asexuals. – *Am. Nat.* 170: 567–572.
- Stebbins G. L. (1950): Variation and evolution in plants. – Columbia University Press, New York.
- Stockwell D. & Peters D. (1999): The GARP modelling system: problems and solutions to automated spatial prediction. – *Int. J. Geogr. Inf. Sci.* 13: 143–158.
- Strandberg G., Brandefelt J., Kjellström E. & Smith B. (2011): High-resolution regional simulation of last glacial maximum climate in Europe. – *Tellus A: Dyn. Meteorol. Oceanogr.* 63: 107–125.
- Suda J. (2005): Co se skrývá za rostlinnou průtokovou cytometrií. – *Živa* 1: 46–48.

- Talent N. & Dickinson T. A. (2005): Polyploidy in *Crataegus* and *Mespilus* (Rosaceae, Maloideae): evolutionary inferences from flow cytometry of nuclear DNA amounts. – *Can. J. Bot.* 83: 1268–1304.
- Talent N. & Dickinson T. A. (2007): Endosperm formation in aposporous *Crataegus* (Rosaceae, Spiraeoideae, tribe Pyreae): parallels to Ranunculaceae and Poaceae. – *New Phytol.* 173: 231–249.
- Thornthwaite C. W. (1948): An approach toward a rational classification of climate. – *Geogr. Rev.* 38: 55–94.
- Thornton P. E., Running S. W. & White M. A. (1997): Generating surfaces of daily meteorological variables over large regions of complex terrain. – *J. Hydrol.* 190: 214–251.
- Tilquin A. & Kokko H. (2016): What does the geography of parthenogenesis teach us about sex? – *Philos. Trans. R. Soc. B: Biol. Sci.* 371: 20150538.
- Title P. O. & Bemmels J. B. (2018a): ENVIREM: an expanded set of bioclimatic and topographic variables increases flexibility and improves performance of ecological niche modeling. – *Ecography* 41: 291–307.
- Title P. O. & Bemmels J. B. (2018b): ENVIREM: ENVIRONMENTAL RASTERS FOR ECOLOGICAL MODELING version 1.0 [data set]. – University of Michigan – Deep Blue. – URL: https://deepblue.lib.umich.edu/data/concern/data_sets/gt54kn05f.
- Trávníček B., Havlíček P. & Krahulcová A. (2000): Ostružiníky – pozoruhodné rostliny naší přírody (II). – *Živa* 4: 156–158.
- Trávníček B., Lepší M., Lepší P. & Žíla V. (2018): Taxonomy of *Rubus* ser. *Radula* in the Czech Republic. – *Preslia* 90: 387–424.
- Tuanmu M.-N. & Jetz W. (2015): A global, remote sensing-based characterization of terrestrial habitat heterogeneity for biodiversity and ecosystem modelling. – *Glob. Ecol. Biogeogr.* 24: 1329–1339.
- Tzedakis P. C., Emerson B. C. & Hewitt G. M. (2013): Cryptic or mystic? Glacial tree refugia in northern Europe. – *Trends Ecol. Evol.* 28: 696–704.
- Urbani M. H., Quarin C. L., Espinoza F., Penteadó M. I. O. & Rodrigues I. F. (2002): Cytogeography and reproduction of the *Paspalum simplex* polyploid complex. – *Plant Syst. Evol.* 236: 99–105.
- Vandel A. (1928): La parthénogenèse géographique. Contribution à l'étude biologique et cytologique de la parthénogenèse naturelle. – *Bull. Biol. Fr. Belg.* 62: 164–281.
- van Dijk P. J. (2007): Potential and realized costs of sex in dandelions, *Taraxacum officinale* s.l. – In: Hörandl E., Grossniklaus U., van Dijk P.J. & Sharbel T.F. (eds), *Apomixis: evolution, mechanisms and perspectives*, pp. 215–233, A. R. G. Gantner Verlag, Ruggell.
- van Dijk P. J., van Baarlen P. & de Jong H. (2003a): The occurrence of phenotypically complementary apomixis-recombinants in crosses between sexual and apomictic dandelions (*Taraxacum officinale*). – *Sex. Plant Reprod.* 16: 71–76.
- van Dijk P. J., Barrett S. C. H. & Vinkenoog R. (2003b): Ecological and evolutionary opportunities of apomixis: insights from *Taraxacum* and *Chondrilla*. – *Philos. Trans. R. Soc. B: Biol. Sci.* 358: 1113–1121.
- Velebil J., Trávníček B., Sochor M. & Havlíček P. (2016): Five new bramble species (*Rubus*, Rosaceae) in the flora of the Czech Republic. – *Dendrobiology* 75: 141–155.
- Vielle J.-P., Burson B. L., Bashaw E. C. & Hussey M. A. (1995): Early fertilization events in the sexual and aposporous egg apparatus of *Pennisetum ciliare* (L.) Link. – *Plant J.* 8: 309–316.

- Vijverberg K., Ozias-Akins P. & Schranz M. E. (2019): Identifying and engineering genes for parthenogenesis in plants. – *Front. Plant Sci.* 10: 128.
- Vrijenhoek R. C. (1984): Ecological differentiation among clones: the frozen niche variation model. – In: Wöhrmann K. & Loeschcke V. (eds), *Population biology and evolution*, pp. 217–231, Springer-Verlag, Heidelberg.
- Warren D. L., Glor R. E. & Turelli M. (2008): Environmental niche equivalency versus conservatism: quantitative approaches to niche evolution. – *Evolution* 62: 2868–2883.
- Warren D. L., Glor R. E. & Turelli M. (2010): ENMTTools: a toolbox for comparative studies of environmental niche models. – *Ecography* 33: 606–611.
- Warren D. L., Matzke N. J., Cardillo M., Baumgartner J. B., Beaumont L. J., Turelli M., Glor R. E., Huron N. A., Simões M., Iglesias T. L., Piquet J. C. & Dinnage R. (2021): ENMTTools 1.0: an R package for comparative ecological biogeography. – *Ecography* 44: 1–8.
- Warren D. L. & Seifert S. N. (2011): Ecological niche modelling in Maxent: the importance of model complexity and the performance of model selection criteria. – *Ecol. Appl.* 21: 335–342.
- Watanabe S., Hajima T., Sudo K., Nagashima T., Takemura T., Okajima H., Nozawa T., Kawase H., Abe M., Yokohata T., Ise T., Sato H., Kato E., Takata K., Emori S. & Kawamiya M. (2011): MIROC-ESM 2010: model description and basic results of CMIP5-20c3m experiments. – *Geosci. Model Dev.* 4: 845–872.
- Whitton J., Sears C. J., Baack E. J. & Otto S. P. (2008): The dynamic nature of apomixis in the angiosperms. – *Int. J. Plant Sci.* 169: 169–182.
- Willi Y., van Buskirk J. & Fischer M. (2005): A threefold genetic Allee effect: population size affects cross-compatibility, inbreeding depression and drift load in the self-incompatible *Ranunculus reptans*. – *Genetics* 169: 2255–2265.
- Wisz M. S., Hijmans R. J., Li J., Peterson A. T., Graham C. H., Guisan A. & NCEAS Predicting Species Distributions Working Group (2008): Effects of sample size on the performance of species distribution models. – *Divers. Distrib.* 14: 763–773.
- Zveryaev I. I. (2004): Seasonality in precipitation variability over Europe. – *J. Geophys. Res. Atmos.* 109: D05103.

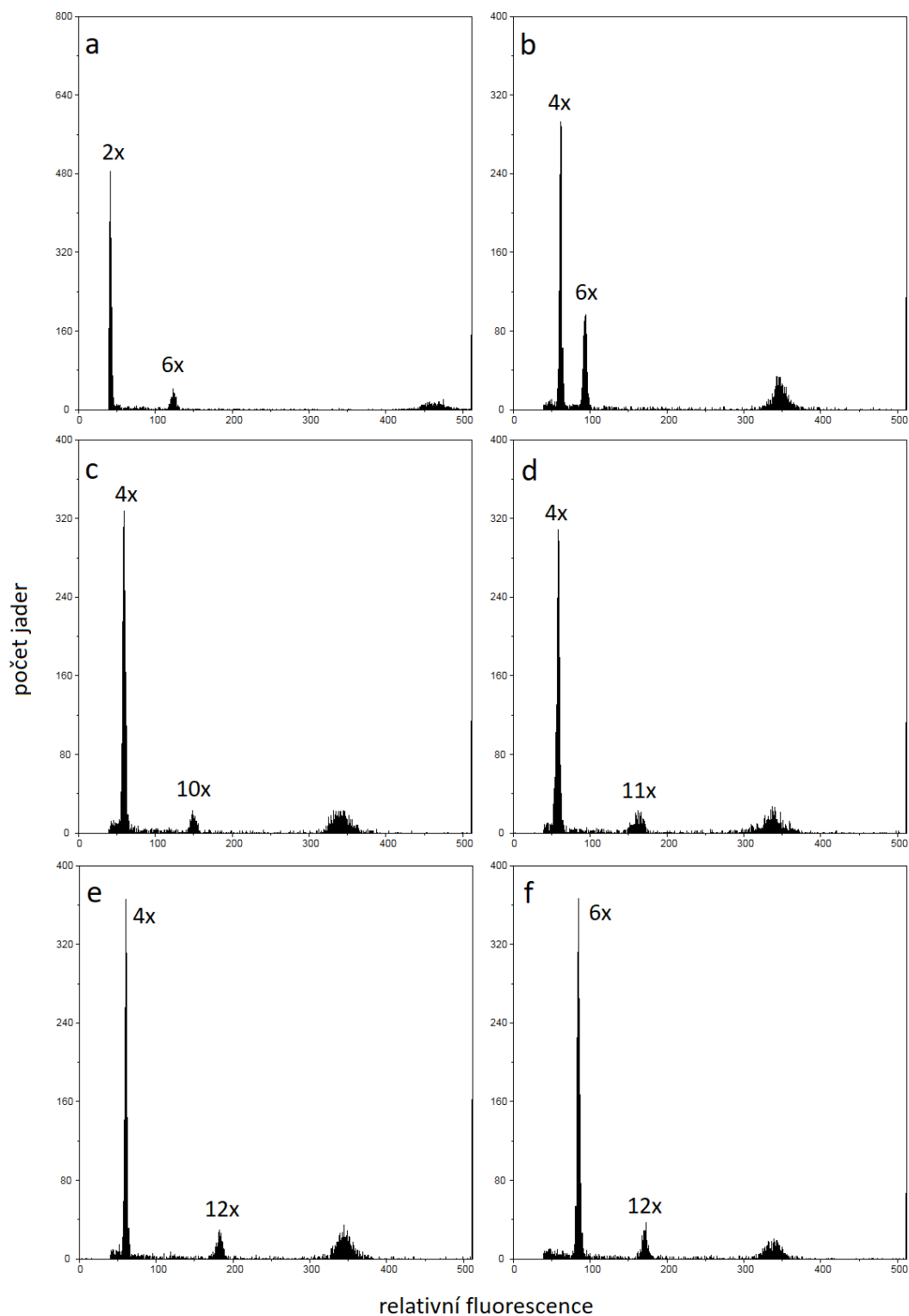
8. Přílohy

Příloha 1. – Proměnné zahrnuté do modelů pro současné podmínky a pro podmínky během posledního glaciálního maxima (LGM) a popis těchto proměnných. Proměnné, jež nebyly použity v žádném modelu, protože byly vyřazeny kvůli vysoké korelaci s jinými proměnnými (viz kapitola Materiál a metody), nejsou v tabulce zahrnuty. Zdroje: ^a – Worldclim, Fick & Hijmans 2017, <https://www.worldclim.org/>; ^b – ENVIREM, Title & Bemmels 2018a, Title & Bemmels 2018b; ^c – FAO – GeoNetwork, <http://www.fao.org/>; ^d – EarthEnv, Tuanmu & Jetz 2015, <http://www.earthenv.org/>; ^e – Atlas of the Biosphere, <http://nelson.wisc.edu/>.

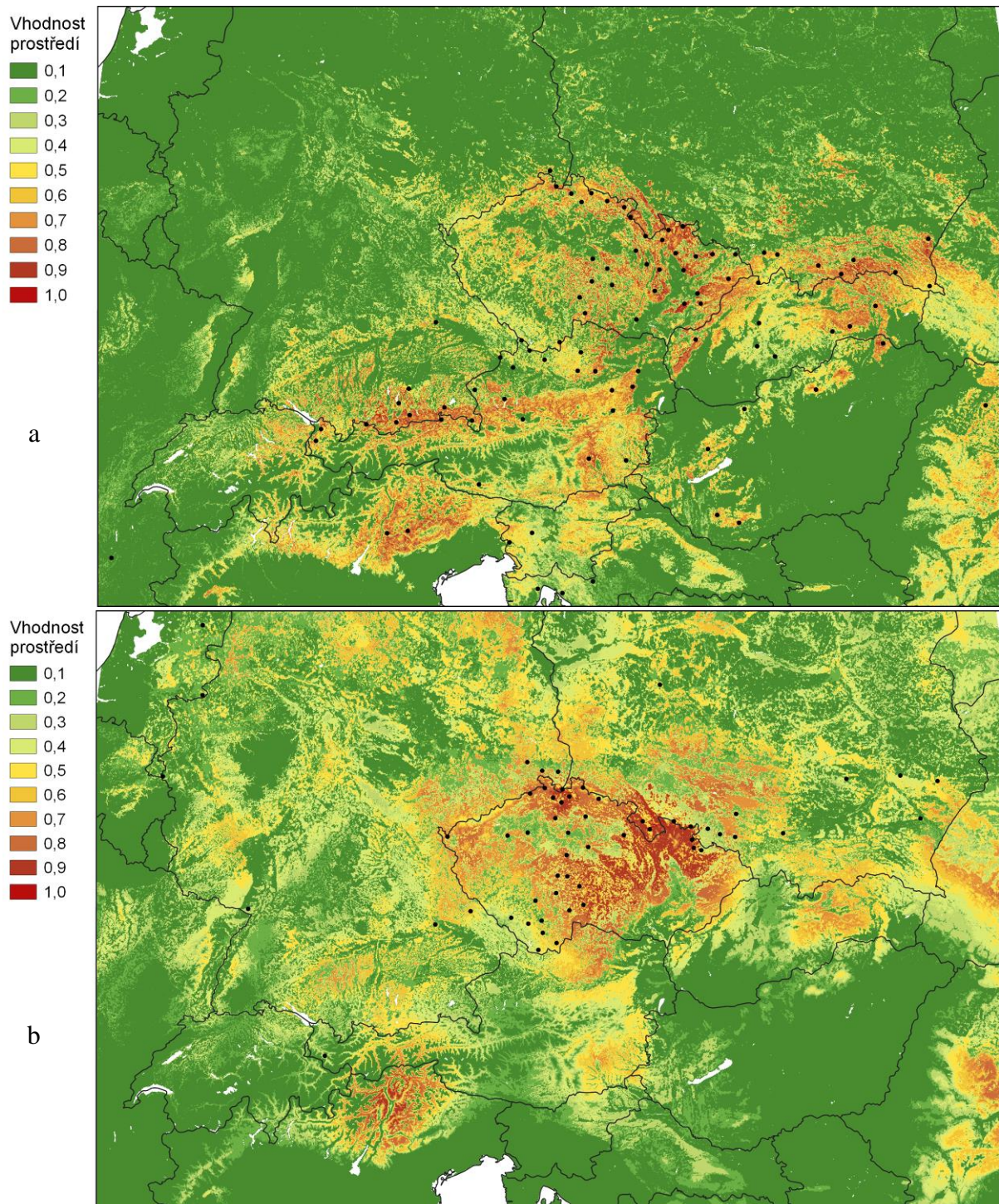
Název proměnné a zdroj	Popis proměnné	Modely		
		současné	LGM varianta 1	LGM varianta 2
bio2 ^a	průměrné diurnální rozpětí teplot (průměr měsíčních rozdílů maximální a minimální teploty)	+		
bio3 ^a	izotermalita (průměrné diurnální rozpětí teplot / roční rozpětí teplot × 100)	+		+
bio8 ^a	průměrná teplota nejvlhčího čtvrtletí (°C)	+		+
bio9 ^a	průměrná teplota nejsuššího čtvrtletí (°C)	+		+
bio15 ^a	sezónnost srážek (variační koeficient)	+		+
bio17 ^a	úhrn srážek v nejsušším čtvrtletí	+		+
annualPET ^b	roční potenciální evapotranspirace (mm.rok ⁻¹)		+	
aridityIndexThornthwaite ^b	Thornthwaitův index aridity – index stupně vodního deficitu dle Thornthwaite (1948)		+	
climaticMoistureIndex ^b	index relativní vlhkosti a aridity	+	+	+
continentality ^b	rozdíl průměrné teploty nejteplejšího a nejchladnějšího měsíce (°C)	+	+	+
embergerQ ^b	Embergerův pluviotermní kvocient vlhkosti; Daget (1977)	+	+	+
maxTempColdestMonth ^b	maximální teplota nejchladnějšího měsíce (°C × 10)		+	
minTempWarmestMonth ^b	minimální teplota nejteplejšího měsíce (°C × 10)		+	
monthCountByTemp10 ^b	počet měsíců s teplotním průměrem nad 10 °C		+	
PETColdestQuarter ^b	průměrná měsíční potenc. evapotranspirace nejchladnějšího čtvrtletí (mm. měsíc ⁻¹)	+	+	+
PETDriestQuarter ^b	průměrná měsíční potenc. evapotranspirace nejsuššího čtvrtletí (mm. měsíc ⁻¹)	+	+	+
PETWarmestQuarter ^b	průměrná měsíční potenc. evapotranspirace nejteplejšího čtvrtletí (mm. měsíc ⁻¹)		+	
PETWettestQuarter ^b	průměrná měsíční potenc. evapotranspirace nejvlhčího čtvrtletí (mm. měsíc ⁻¹)	+	+	+
PETseasonality ^b	měsíční variabilita v potenciální evapotranspiraci (mm. měsíc ⁻¹)		+	

Příloha 1. – pokračování.

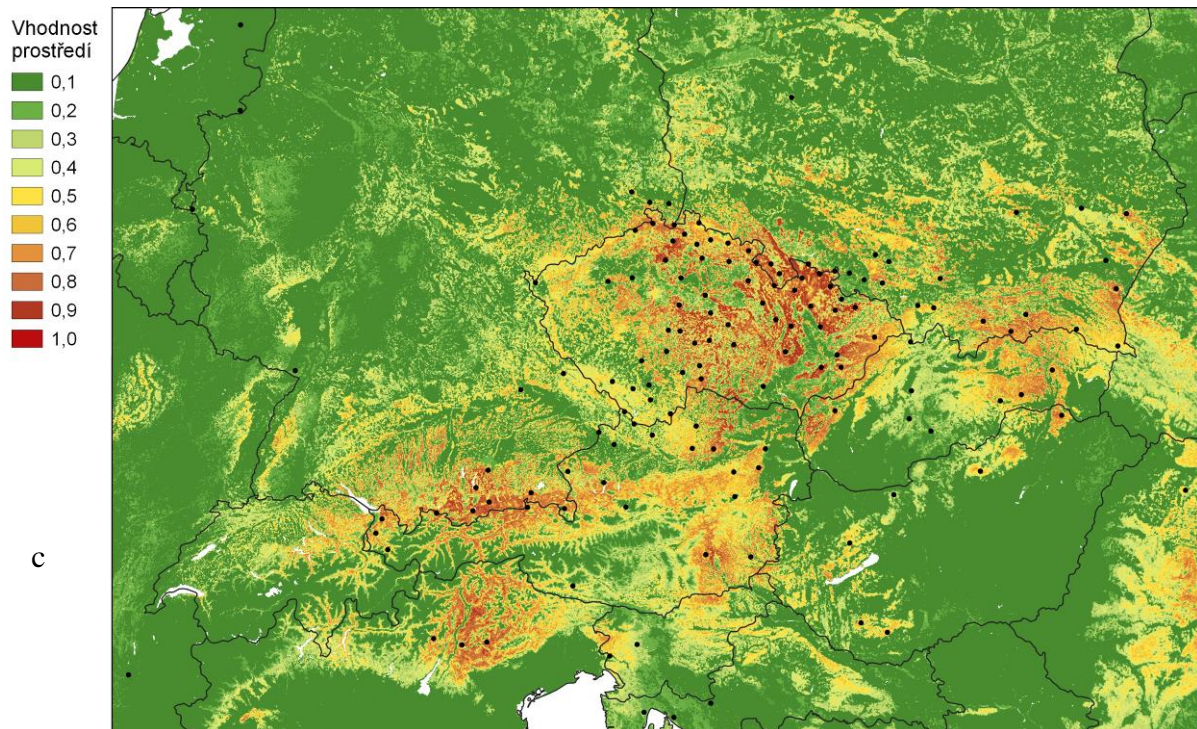
Název proměnné a zdroj	Popis proměnné	Modely		
		současné	LGM varianta 1	LGM varianta 2
thermicityIndex ^b	kompensovaný thermicity index ($10 \times$ suma průměrné roční teploty, minimální teploty nejchladnějšího měsíce a maximální teploty nejchladnějšího měsíce; s kompenzací umožňující celosvětové srovnání)	+		+
tri ^b	index nerovnosti povrchu	+		
02-CropLand ^c	podíl zemědělské půdy (%)	+		
04-Tree Covered Area ^c	pokrytí stromy (%)	+		
05-Shrubs Covered Area ^c	pokrytí keří (%)	+		
Coefficient of variation ^d	heterogenita habitatu – variační koeficient zdokonaleného vegetačního indexu (EVI – <i>Enhanced Vegetation Index</i>)	+		
Evenness ^d	heterogenita habitatu – vyrovnanost zdokonaleného vegetačního indexu (EVI – <i>Enhanced Vegetation Index</i>)	+		
Homogeneity ^d	heterogenita habitatu – homogenita – podobnost zdokonaleného vegetačního indexu (EVI – <i>Enhanced Vegetation Index</i>) mezi sousedními pixely	+		
Soil pH ^e	pH půdy	+		



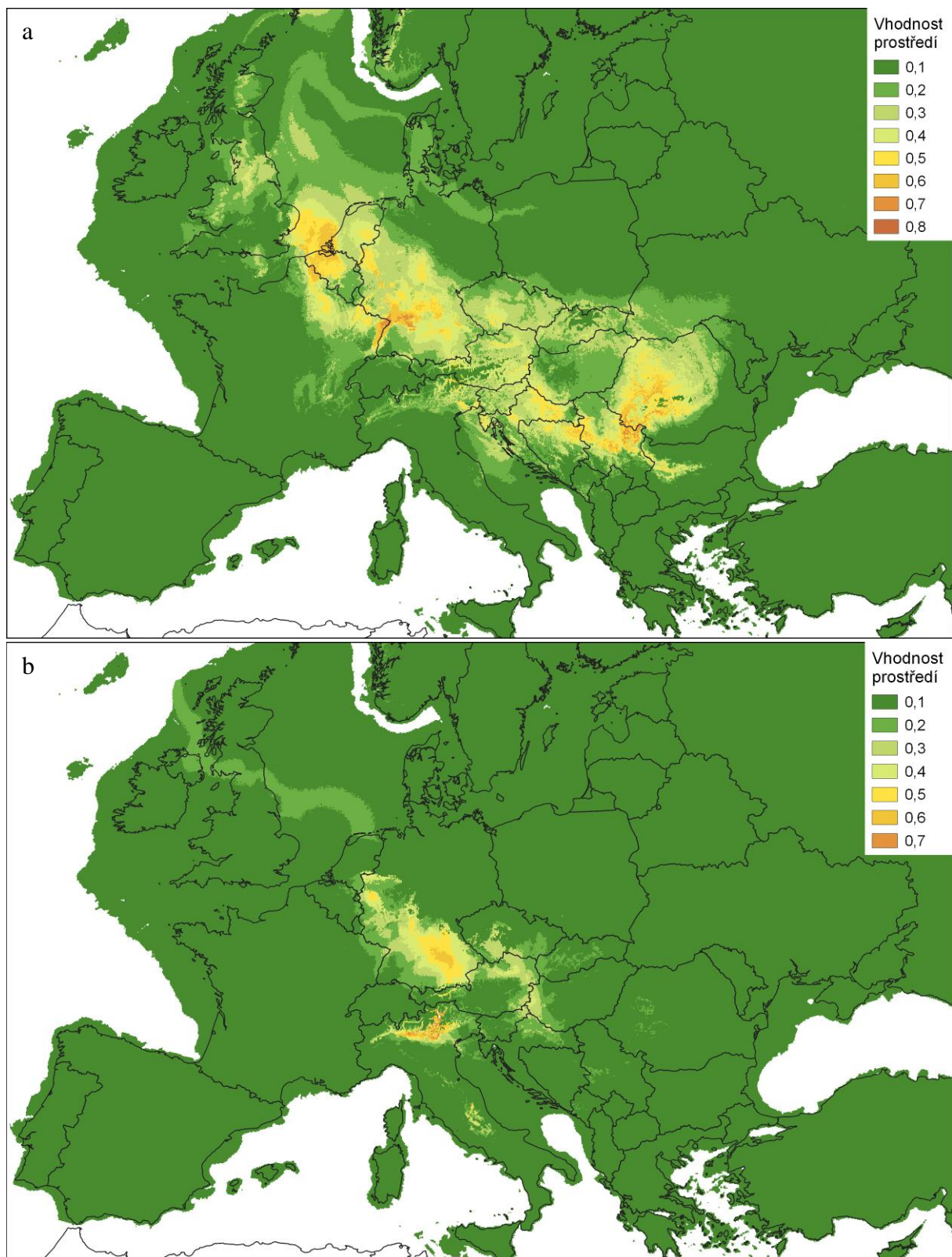
Příloha 2. – Příklady výsledků FCSS analýzy *Rubus ser. Glandulosi* ve formě histogramů pro různé reprodukční způsoby vzniku semen; peaky v pořadí: embryo, endosperm, interní standard *Pisum sativum*; a – redukovaná neoplozená vaječná buňka (dihaploid), b – redukovaná oplozená vaječná buňka (sexuální rozmnožování), c, d, e – neredukovaná neoplozená vaječná buňka (apomixe), f – neredukovaná oplozená vaječná buňka.



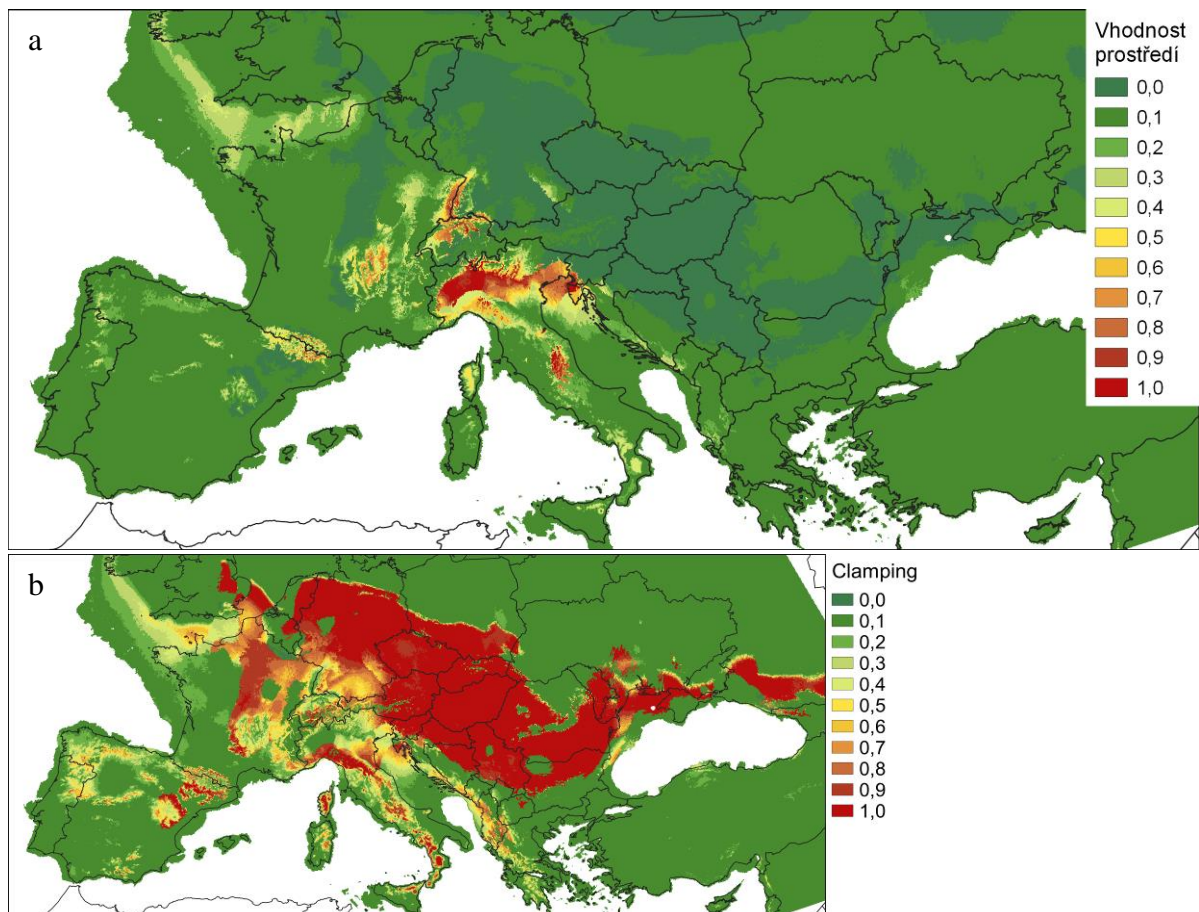
Příloha 3. – Maxent model relativní vhodnosti prostředí pro *Rubus ser. Glandulosi* za současných podmínek pro a – sexuály, b – apomikty, c – vzorky bez ohledu na jejich klasifikaci. Černé body – lokality vzorků použitých pro tvorbu modelu.



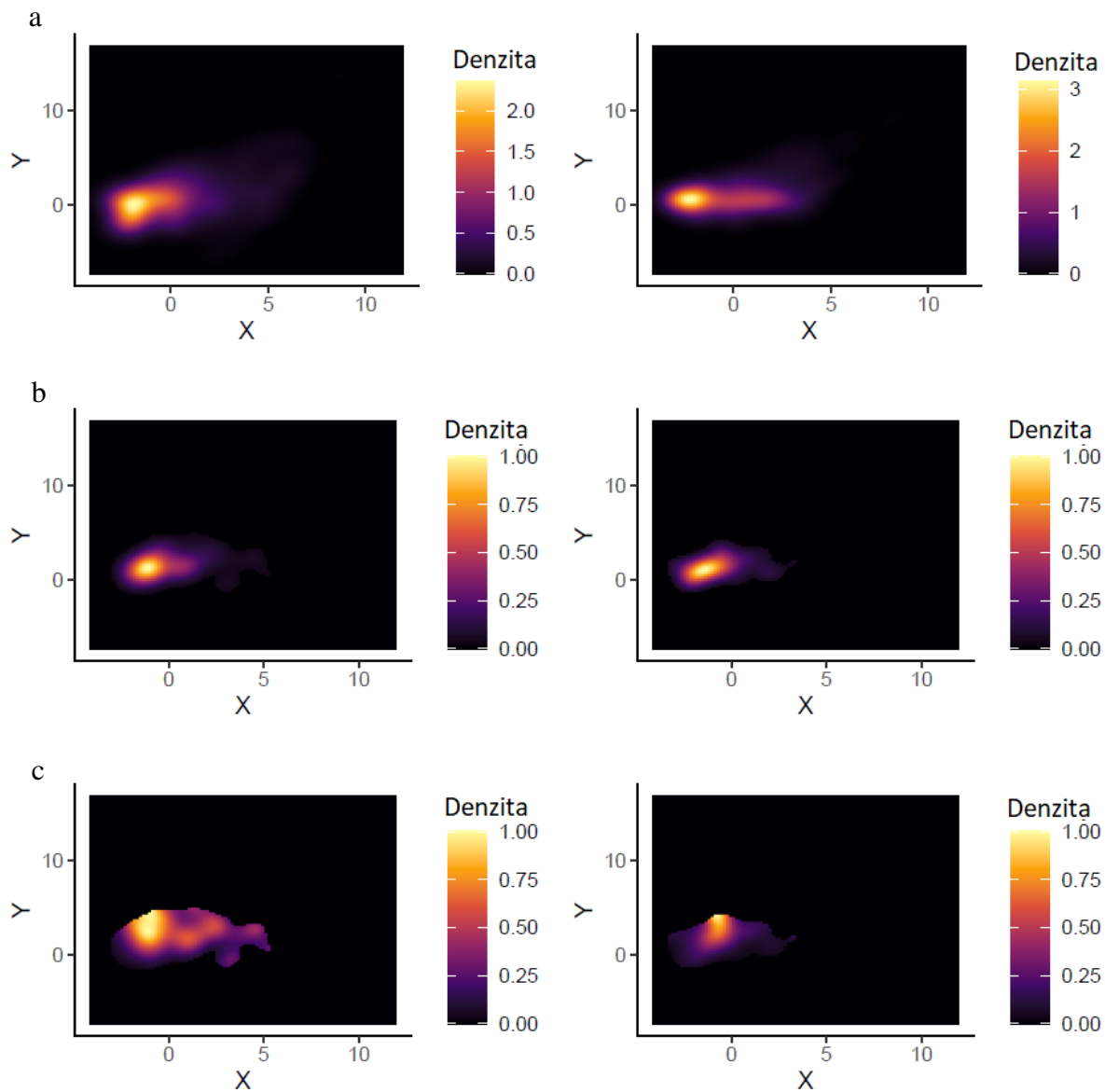
Příloha 3. – pokračování.



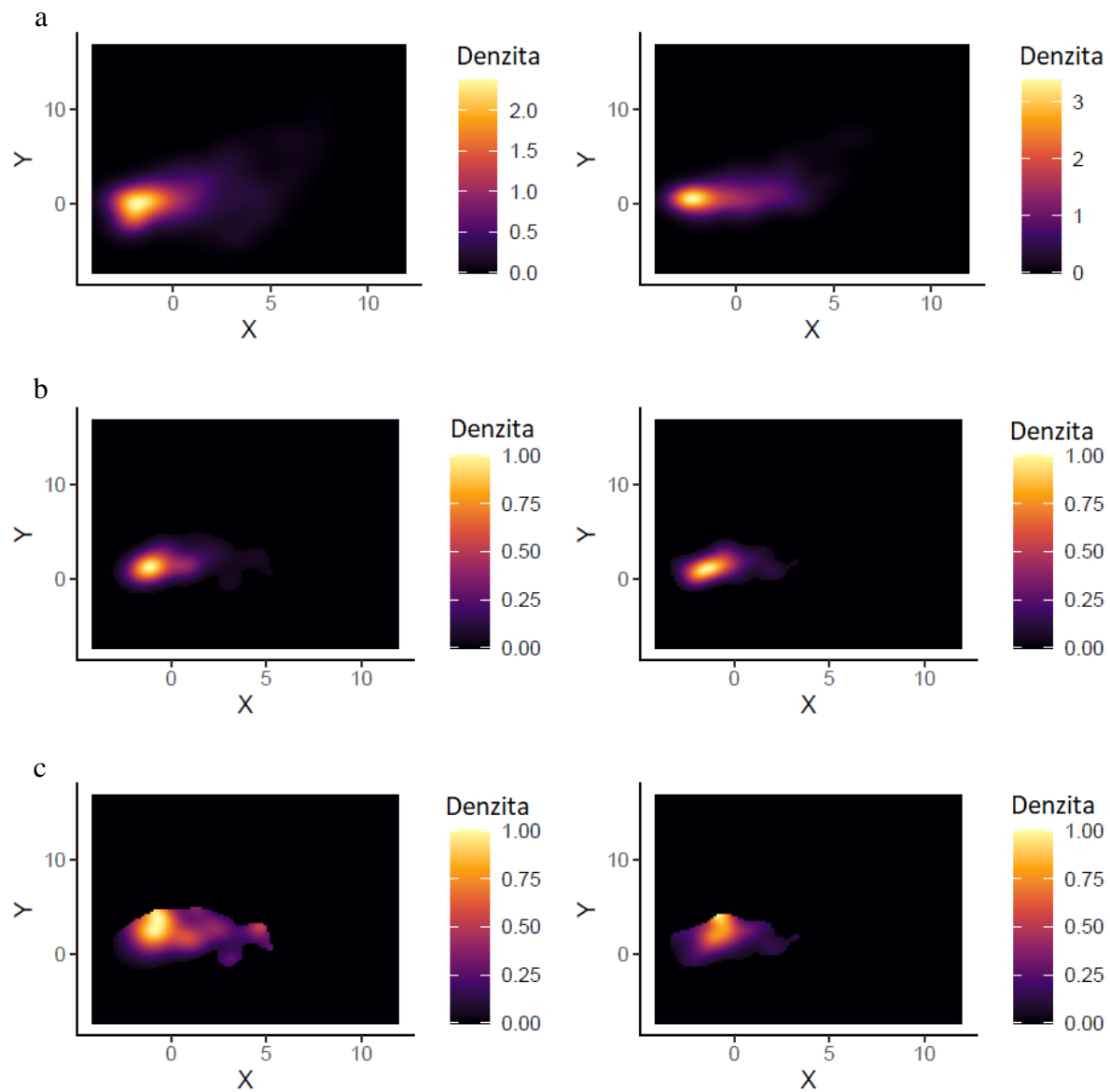
Příloha 4. – Maxent model relativní vhodnosti prostředí pro *Rubus ser. Glandulosi* (použity vzorky bez ohledu na jejich klasifikaci) za podmínek během posledního glaciálního maxima (LGM) založený na: a – CCSM4 modelu, b – MIROC-ESM modelu; varianta 1.



Příloha 5. – Maxent model relativní vhodnosti prostředí pro *Rubus ser. Glandulosi* založený na MIROC-ESM modelu za podmínek během posledního glaciálního maxima (LGM); varianta 2; a – výsledný model, b – příklad *clampingu* – znázorňuje, v jaké míře je predikce vhodnosti prostředí v dané oblasti ovlivněna hodnotami proměnných mimo jejich tréninkový rozsah.



Příloha 6. – Výsledky *background* testu (testu podobnosti nik) sexuálů a apomiktů u *Rubus* ser. *Glandulosi* – PCA analýza (*heat* mapy); vlevo – sexuálové, vpravo – apomikti; a – dostupné prostředí, b – výskyt v environmentálním prostoru, c – výskyt škálovaný dostupností prostředí.



Příloha 7. – Výsledky testu identity nik sexuálů a apomiktů u *Rubus* ser. *Glandulosi* – PCA analýza (heat mapy); vlevo – sexuálové, vpravo – apomikti; a – dostupné prostředí, b – výskyt v environmentálním prostoru, c – výskyt škálovaný dostupností prostředí.

Příloha 8. – Seznam analyzovaných vzorků *Rubus* ser. *Glandulosi*; *R. ser. Glandulosi* – zde označuje biotypy neklasifikovatelné do druhu, někdy zmiňované v literatuře jako *R. hirtus* agg.; sběratelé: AB – A. van de Beek, AS – A. Schmotzer, BT – B. Trávníček, FP – F. Prosser, FS – F. Sander, GK – G. Király, JH – J. Hadinec, JK – J. Kučera, KP – K. Pagitz, MHR – M. Hroneš, MHO – M. Hohla, ML – M. Lepší, MS – M. Sochor, PE – P. Eliáš jun., PK – P. Kosiński, PL – P. Lepší, PV – P. Venema, RH – R. Hlaváček, VF – V. Forejtová, VZ – V. Žíla, ZB – Z. Barina.

Sběrový kód	Taxon	Zem. šířka	Zem. délka	Lokalita	Sběratel	Počet semen	Vznik semen (%)				Klasifikace vzorku
							Red. opl.	Nered. neopl.	Red. neopl.	Nered. opl.	
AvdB 1/19	<i>R. negatus</i> Beek	52°54'18"N	6°32'53"E	Nizozemí, Assen, u cesty Zwiggelterweg JV od obce Hooghalen	PV	10	10,0	60,0	30,0	0,0	fac. apo
AvdB 8/19	<i>R. praticolor</i> Beek	51°30'2"N	4°54'0"E	Nizozemí, u obce Chaam, Chamse Bossen, Putvenweg, typová lokalita	AB	1	0,0	100,0	0,0	0,0	fac. apo
AvdB 2020.93	<i>R. iuvenis</i> Beek	51°56'15"N	6°42'16"E	Nizozemí, Veenendaal, pěstovaný jedinec, pocházející z Wooldseweg, Winterswijk	AB	10	10,0	90,0	0,0	0,0	fac. apo
AvdB 2020.94	<i>R. serpens</i> Weihe ex Lej. & Court.	50°45'42"N	6°1'6"E	Nizozemí, Veenendaal, pěstovaný jedinec, pocházející z Vaals, les u parkoviště u Drielandenpunt	AB	10	20,0	80,0	0,0	0,0	fac. apo
AvdB 2020.95	<i>R. aff. guentheri</i> Weihe	45°24'56"N	5°48'30"E	Francie, Veenendaal, pěstovaný jedinec, z Ruchére u Grenoble	AB	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
Běla	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°30'13"N	15°7'45"E	Česká republika, Červená Řečice, 650 m Z od samoty Běla, lesní světlina	VF	10	20,0	80,0	0,0	0,0	fac. apo
Bratčice	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°50'35"N	15°25'11"E	Česká republika, Bratčice, 240 m J od Tisé skály, okraj lesa u lesní cesty	VF	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
Děbolín	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°10'14"N	14°54'30"E	Česká republika, Děbolín, u křižovatky silnice do Kardašovy Řečice a silnice na Klenovskou Hájovnu, v lese	VF	10	10,0	80,0	10,0	0,0	fac. apo

Příloha 8. – pokračování.

Sběrový kód	Taxon	Zem. šířka	Zem. délka	Lokalita	Sběratel	Počet semen	Vznik semen (%)				Klasifikace vzorku
							Red. opl.	Nered. neopl.	Red. neopl.	Nered. opl.	
Fatra	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	48°51'20"N	18°53'54"E	Slovensko, Háj, 1,1 km VSV od vrcholu Strážna, les Temný kút, u lesní cesty	MHR	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
FS 2/19	<i>R. lividus</i> G. Braun	51°13'46"N	14°1'9"E	Německo, Sasko, Oberlausitz, Bischheim-Häslich, 1,5 km JZ od kostela	FS	10	10,0	90,0	0,0	0,0	fac. apo
FS 7/19	<i>R. magnidentatus</i> F.W. Sander	51°9'10"N	14°11'18"E	Německo, Sasko, Oberlausitz, vrch Butterberg cca 2 km S od obce Bischofswerda	FS	9	33,3	55,5	0,0	11,1	fac. apo
FS 8/19	<i>R. barberi</i> H.E. Weber	51°3'46"N	14°30'55"E	Německo, Sasko, Oberlausitz, SV okraj Opach	FS	10	90,0	10,0	0,0	0,0	sex
FS 9/19	<i>R. lusaticus</i> Rostock	51°6'36"N	14°20'53"E	Německo, Sasko, Oberlausitz, 500 m Z od vrcholu Grosser Picho, SZ od Wilthen	FS	10	20,0	80,0	0,0	0,0	fac. apo
FS 10/19	<i>R. barberi</i> H.E. Weber	50°51'2"N	14°47'30"E	Německo, Sasko, Oberlausitz, J od Eichgraben	FS	10	20,0	50,0	0,0	30,0	fac. apo
FS 16/19	<i>R. lusaticus</i> Rostock	51°5'39"N	14°42'1"E	Německo, Sasko, Oberlausitz, vrchol Schlafberg V od Löbau	FS	10	10,0	80,0	0,0	10,0	fac. apo
Gerecse 91	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	47°41'22"N	18°28'39"E	Maďarsko, Lábatlan, 1,1 km SZ od vrcholu Gerecse J od obce, u lesní cesty	ZB	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
GK-SK 1	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	48°22'59"N	19°11'5"E	Slovensko, Senohrad, 2,4 km S od obce, u silnice do Pliešovce	GK, JK, PE	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
GK-SK 11	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	48°42'36"N	20°47'58"E	Slovensko, Štós, 300 m S od obce, u silnice	GK, JK, PE	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex

Příloha 8. – pokračování.

Sběrový kód	Taxon	Zem. šířka	Zem. délka	Lokalita	Sběratel	Počet semen	Vznik semen (%)				Klasifikace vzorku
							Red. opl.	Nered. neopl.	Red. neopl.	Nered. opl.	
GK-SK 29	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	48°57'15"N	1°22'43"E	Slovensko, Kokošovce, 2 km V od obce, u cesty Zlatá Baňa	GK, JK, PE	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
Grybów 1	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°36'49"N	21°0'45"E	Polsko, Grybów, Gródek, 1,7 km JJZ od kostela, okraj lesa	VF	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
Gyöngyös 1	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	47°53'3"N	19°58'44"E	Maďarsko, Mátraháza, 1,7 km S od kostela, v lese u turist. přístřešku	AS	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
Choratice	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°51'3"N	14°52'25"E	Česká republika, Choratice, 1,3 km S od kaple v obci, u křižovatky v lese	VF	10	60,0	40,0	0,0	0,0	fac. apo
IT 1	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	46°2'20"N	11°12'46"E	Itálie, 1,5 km JZ od obce Susá	FP	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
IT 2	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	46°5'55"N	10°44'37"E	Itálie, 300 m VJV od obce Fisto, okraj lesa	FP	9	55,5	22,2	22,2	0,0	fac. sex
IT 3	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	46°4'52"N	11°37'17"E	Itálie, 1,6 km SV od středu obce Pieve Tesino, v lese	FP	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
Klíče	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°56'17"N	14°51'45"E	Česká republika, Klíče, 160 m VJV od obce, u lesní cesty	VF	10	40,0	40,0	20,0	0,0	fac. apo
Kórník	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	52°15'48"N	17°1'38"E	Polsko, Velkopolské vojvodství, Kórník, 1,2 km J od obce Borówiec, v lese	PK	10	30,0	40,0	20,0	10,0	fac. apo
KP-H	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	46°44'31"N	13°1'37"E	Rakousko, Gröfelhof, 70 m SSV od kostela, v lese	KP	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
KP-J	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	47°31'27"N	10°41'58"E	Rakousko, Unterletzen, 600 m V od vrchu Siebeler, okraj lesa	KP	8	100,0	0,0	0,0	0,0	sex

Příloha 8. – pokračování.

Sběrový kód	Taxon	Zem. šířka	Zem. délka	Lokalita	Sběratel	Počet semen	Vznik semen (%)				Klasifikace vzorku
							Red. opl.	Nered. neopl.	Red. neopl.	Nered. opl.	
Lesonice 1	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	48°59'25"N	16°18'55"E	Česká republika, Lesonice, 1,5 km JJV od pomníku v obci, u lesní cesty	VF	10	70,0	10,0	20,0	0,0	sex
LI02760094	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	47°15'45"N	9°41'30"E	Rakousko, Laterns–Thal, 900 m ZJZ od kostela v obci, údolí řeky Frutz	MHO	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
LI02760254	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	48°27'38"N	14°22'10"E	Rakousko, Ottenschlag im Mühlkreis, 1,3 km ZJZ od kostela v obci, v lese	MHO	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
LI02760346	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	48°28'32"N	14°11'23"E	Rakousko, Waxenberg, okraj lesa u zříceniny	MHO	9	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
Lipkov	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°35'35"N	15°3'7"E	Česká republika, Čechtice, 600 m V od samoty Lipkov, u lesní cesty	VF	10	0,0	100,0	0,0	0,0	fac. apo
Lotouš	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°15'9"N	14°1'33"E	Česká republika, Lotouš–Písek, les při Z okraji obce	MS, BT	10	10,0	90,0	0,0	0,0	fac. apo
M+PL 587/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°9'25"N	12°48'56"E	Německo, Pulling, 240 m Z od turistického přístřešku Z od obce, u silnice v lese	ML, PL	10	40,0	50,0	0,0	10,0	fac. apo
M+PL 632/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	48°35'22"N	14°3'15"E	Rakousko, Lichtenau im Mühlkreis, 500 m JV od vrcholu Ekartsberg, u křižovatky na okraji lesa	ML, PL	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
Mecsek 4	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	46°7'46"N	18°13'44"E	Maďarsko, Pécs, 1,9 km JZ od osady Árpádtető, okraj lesa podél cesty Melegmányi út	GK	10	90,0	0,0	10,0	0,0	sex

Příloha 8. – pokračování.

Sběrový kód	Taxon	Zem. šířka	Zem. délka	Lokalita	Sběratel	Počet semen	Vznik semen (%)				Klasifikace vzorku
							Red. opl.	Nered. neopl.	Red. neopl.	Nered. opl.	
ML 803/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	48°47'24"N	14°24'19"E	Česká republika, Zubčice, 450 m JJZ od středu obce, v lese	ML	9	33,3	66,6	0,0	0,0	fac. apo
ML 805/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	48°37'32"N	14°14'44"E	Česká republika, Loučovice, 150 m S od železniční stanice, v lese	ML	10	10,0	60,0	0,0	30,0	fac. apo
ML 821/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°4'18"N	13°40'35"E	Česká republika, Nový Dvůr, 1,25 km VJV od pomníku v obci, v lese, na křižovatce cest	ML	9	44,4	44,4	11,1	0,0	fac. apo
MS 02/21	<i>R. cf. guentheri</i> Weihe	50°37'33"N	15°11'56"E	Česká republika, Besedice, v lese u vodojemu pod masivem Kalichu	MS	10	70,0	10,0	20,0	0,0	sex
MS 04/21	<i>R. cf. guentheri</i> Weihe	50°14'47"N	14°54'11"E	Česká republika, Milovice, SZ okraj prostoru letiště, 330 m Z od vrchu Kateřina, v lese	MS	8	25,0	75,0	0,0	0,0	fac. apo
MS 05/21	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°2'39"N	15°19'54"E	Česká republika, Týnec nad Labem–Lžovice, 1 km SZ od středu obce, u lesní cesty	MS	10	20,0	80,0	0,0	0,0	fac. apo
MS 06/21	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°25'24"N	15°46'21"E	Česká republika, Dvůr Králové nad Labem–Lipnice, 700 m VJV od PP Čertovy hrady, u lesní cesty	MS	11	27,3	36,4	27,3	9,1	fac. sex
MS 08/21	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°37'55"N	15°45'43"E	Česká republika, Janské Lázně, 420 m VJV od Hoffmannovy boudy, levý břeh Janského potoka	MS	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
MS 10/21	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°42'28"N	15°34'56"E	Česká republika, Špindlerův Mlýn, 520 m JJZ od hráze nádrže Labská, u silnice lesem	MS	10	60,0	40,0	0,0	0,0	fac. apo

Příloha 8. – pokračování.

Sběrový kód	Taxon	Zem. šířka	Zem. délka	Lokalita	Sběratel	Počet semen	Vznik semen (%)				Klasifikace vzorku
							Red. opl.	Nered. neopl.	Red. neopl.	Nered. opl.	
MS 101/19	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	47°44'49"N	15°46'11"E	Rakousko, Hirschwang an der Rax, 350 m VSV od Wachthüttelturm	MS	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
MS 104/19	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	48°4'1"N	16°11'30"E	Rakousko, Sparbach, 850 m J od kostela, u lesní cesty	MS	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
MS 106/19	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	48°16'46"N	16°19'2"E	Rakousko, Vídeň, Weidling, 900 m SV od Vogelsangberg, v lese	MS	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
MS 107/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°8'3"N	16°34'17"E	Česká republika, Klášterec nad Orlicí, 400 m VSV od Ledříčkovy skály, u cesty	MS	6	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
MS 109/19	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°44'54"N	14°56'25"E	Česká republika, Novina, 400 m SZ od Malého Ještědu, v lese	MS	10	40,0	60,0	0,0	0,0	fac. apo
MS 111/19	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°44'44"N	14°58'28"E	Česká republika, Liberec, 1,6 km SSZ od Ještědu	MS	4	25,0	25,0	50,0	0,0	fac. sex
MS 112/19	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°44'38"N	14°58'39"E	Česká republika, Liberec, 1,4 km SSZ od Ještědu, u silnice	MS	10	90,0	10,0	0,0	0,0	sex
MS 113/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°12'39"N	13°35'23"E	Česká republika, Velká Černoc, 1 km S od středu obce, v lese u cesty	MS, BT	10	10,0	80,0	0,0	10,0	fac. apo
MS 116/19	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°46'46"N	14°47'43"E	Česká republika, Jablonné v Podještědí, Lvová, 560 m VSV od zámku Lemberk, v lese	MS	10	20,0	70,0	0,0	10,0	fac. apo
MS 118/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°18'32"N	14°11'26"E	Česká republika, Písek, téměř na vrcholu Jarník V od města	MS	10	40,0	50,0	0,0	10,0	fac. apo
MS 119/19	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	45°18'26"N	14°12'27"E	Chorvatsko, Istrie, mezi Vela Učka a Poklon	MS	8	100,0	0,0	0,0	0,0	sex

Příloha 8. – pokračování.

Sběrový kód	Taxon	Zem. šířka	Zem. délka	Lokalita	Sběratel	Počet semen	Vznik semen (%)				Klasifikace vzorku
							Red. opl.	Nered. neopl.	Red. neopl.	Nered. opl.	
MS 12/21	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°44'45"N	15°25'8"E	Česká republika, Rokytnice nad Jizerou–Hranice, u hlavní silnice na levém břehu Prudkého ručeje	MS	10	60,0	10,0	30,0	0,0	sex
MS 121/19	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	45°14'47"N	14°41'24"E	Chorvatsko, u obce Crikvenica, 1,2 km JJV od vrcholu Medvidak	MS	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
MS 121/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°24'45"N	14°37'50"E	Česká republika, Tábor–Klokoty, horní hrana údolí Lužnice při zelené turistické stezce Z od Benešova Mlýna	MS	10	0,0	100,0	0,0	0,0	fac. apo
MS 126/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°38'31"N	14°52'24"E	Česká republika, Louňovice pod Blaníkem, vrchol Velkého Blaníku	MS	10	0,0	60,0	30,0	10,0	fac. apo
MS 127/19	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	45°24'6"N	15°17'34"E	Chorvatsko, Orišje, 160 m SV od kostela Uznesenja Blažene Djevice Marije	MS	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
MS 13/21	<i>R. cf. guentheri</i> Weihe	50°43'7"N	15°14'38"E	Česká republika, Smržovka, naproti adrese Jelení kout 112, okraj lesa	MS	9	66,7	11,1	22,2	0,0	fac. sex
MS 132/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°27'0"N	14°37'41"E	Česká republika, Mšeno–Romanov, 150 m JZ od Prolezovaček	MS	10	60,0	40,0	0,0	0,0	fac. apo
MS 135/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°40'5"N	14°45'53"E	Česká republika, Mimoň–Vranov, 650 m J od hradu Ralsko	MS	10	10,0	90,0	0,0	0,0	fac. apo
MS 137/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°50'38"N	14°39'8"E	Česká republika, Myslivny, 330 m SV od chaty Luž	MS	10	90,0	10,0	0,0	0,0	sex
MS 140/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°28'4"N	15°17'15"E	Česká republika, Prachov, Prachovské skalní město, u rozcestí pod Prachovskou jehlou	MS	10	30,0	60,0	10,0	0,0	fac. apo

Příloha 8. – pokračování.

Sběrový kód	Taxon	Zem. šířka	Zem. délka	Lokalita	Sběratel	Počet semen	Vznik semen (%)				Klasifikace vzorku
							Red. opl.	Nered. neopl.	Red. neopl.	Nered. opl.	
MS 142/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°44'47"N	16°34'43"E	Česká republika, Koclířov–Hřebeč, lesní okraj Z od zříceniny hradu Boršov	MS	10	90,0	10,0	0,0	0,0	sex
MS 143/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°49'6"N	19°6'48"E	Polsko, Slezsko, Bielsko–Biala, Lipnik, v lese u ulice Polna	MS	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
MS 144/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°46'41"N	19°23'38"E	Polsko, Rzyky, 500 m JJV od osady Praciaki	MS	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
MS 146/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°34'54"N	20°14'59"E	Polsko, Malopolsko, 130 m J od Mala Polana, 4,5 km JZ od Szczawa	MS	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
MS 153/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°23'12"N	21°52'33"E	Polsko, Podkarpatské vojvodství, údolí řeky Jasiołka, 750 m JJV od Wola wyżna	MS	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
MS 157/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°8'36"N	22°33'57"E	Polsko, Podkarpatské vojvodství, Lutowiska–Brzegy Górne, 240 m SZ od centrálního pakoviště	MS	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
MS 164/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°47'32"N	22°39'29"E	Polsko, Podkarpatské vojvodství, Krasiczyn, na hřebeni 1,8 km SSV od středu města	MS	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
MS 165/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°7'32"N	22°32'10"E	Polsko, Podkarpatské vojvodství, Wólka Małkowa, 1,4 km J od středu obce, okraj lesa	MS	10	30,0	50,0	0,0	20,0	fac. apo
MS 167/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke – <i>R. ser. Pallidi</i> W.C.R. Watson	50°36'43"N	23°0'5"E	Polsko, Lublinské vojvodství, 800 m VSV od obce Zalew Rudka	MS	10	10,0	80,0	0,0	10,0	fac. apo

Příloha 8. – pokračování.

Sběrový kód	Taxon	Zem. šířka	Zem. délka	Lokalita	Sběratel	Počet semen	Vznik semen (%)				Klasifikace vzorku
							Red. opl.	Nered. neopl.	Red. neopl.	Nered. opl.	
MS 169/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°37'30"N	23°0'16"E	Polsko, Lublinské vojvodství, Zwierzyniec, 2 km SV od rybníka Zalew Rudka, v lese u rozcestí	MS	10	20,0	30,0	50,0	0,0	fac. sex
MS 176/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°44'52"N	22°12'26"E	Polsko, Lublinské vojvodství, u silnice mezi obcemi Łysaków a Potoczek	MS	10	0,0	80,0	20,0	0,0	fac. apo
MS 179/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°46'48"N	21°1'27"E	Polsko, Świętokrzyské vojvodství, 1,4 km Z od obce Złota Woda	MS	9	33,3	55,5	0,0	11,1	fac. apo
MS 184/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°6'19"N	19°32'54"E	Polsko, Malopolsko, Krzeszowice–Rudno, lesní cesta S od dálničního exitu	MS	10	0,0	100,0	0,0	0,0	fac. apo
MS 187/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°49'19"N	17°38'31"E	Česká republika, Budišov nad Budišovkou, 450 m Z od kopce Na Haldě, v lese	MS	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
MS 189/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°58'56"N	17°36'18"E	Česká republika, Horní Benešov–Luhy, 700 m JZ od kopce Valy, v údolí	MS	13	15,4	84,6	0,0	0,0	fac. apo
MS 192/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°5'43"N	17°34'31"E	Česká republika, Krasov, u silnice Radim – Krasov, 500 m před začátkem obce	MS	10	40,0	60,0	0,0	0,0	fac. apo
MS 196/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°12'16"N	17°4'31"E	Česká republika, Jeseníky, Ramzová, vyústění lesních cest 1,2 km SV od kostela v obci, v lese	MS	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
MS 198/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°4'16"N	16°56'3"E	Česká republika, Hanušovice, 330 m VJV od nádraží, v lese	MS	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex

Příloha 8. – pokračování.

Sběrový kód	Taxon	Zem. šířka	Zem. délka	Lokalita	Sběratel	Počet semen	Vznik semen (%)				Klasifikace vzorku
							Red. opl.	Nered. neopl.	Red. neopl.	Nered. opl.	
MS 20/19	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	48°1'38"N	15°45'45"E	Rakousko, Hainfeld, 920 m JJZ od kostela, u křížení lesních cest	MS	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
MS 200/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°40'27"N	15°26'58"E	Česká republika, Vysoké nad Jizerou, Hradsko, pravý břeh Jizery, u mostu k hradu Nístějka	MS	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
MS 203/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°52'11"N	14°24'16"E	Česká republika, Jetřichovice, 370 m JV od vrcholu Ostroh (Rudolfův kámen)	MS	10	60,0	40,0	0,0	0,0	fac. apo
MS 206/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°47'44"N	15°6'51"E	Česká republika, Rudolfov, 400 m SV od vodní elektrárny, u silnice lesem	MS	10	50,0	40,0	0,0	10,0	fac. apo
MS 209/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°44'1"N	14°34'60"E	Česká republika, Sloup v Čechách, 120 m ZSV od rozhledny Na Stráži, v lese	MS	10	40,0	40,0	20,0	0,0	fac. apo
MS 211/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°11'51"N	16°6'26"E	Česká republika, Vyhnalice (Voděrady), 570 m ZJZ od kostela v obci, u lesní cesty	MS	10	40,0	50,0	10,0	0,0	fac. apo
MS 212/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°22'31"N	16°43'40"E	Česká republika, Vilémovice, 260 m SSZ od Horního můstku nad propastí Macocha	MS	10	90,0	10,0	0,0	0,0	sex
MS 213/20b	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°48'12"N	14°2'59"E	Česká republika, Tisá, Ostrov, v lese u rozcestníku Ostrov	MS	10	50,0	20,0	10,0	20,0	fac. sex
MS 214/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°47'31"N	14°4'54"E	Česká republika, Zadní Ves, okraj lesa na rozcestí u turistického přístřešku 500 m JZ od obce	MS	10	30,0	40,0	20,0	10,0	fac. apo

Příloha 8. – pokračování.

Sběrový kód	Taxon	Zem. šířka	Zem. délka	Lokalita	Sběratel	Počet semen	Vznik semen (%)				Klasifikace vzorku
							Red. opl.	Nered. neopl.	Red. neopl.	Nered. opl.	
MS 25/19	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	48°17'39"N	15°25'32"E	Rakousko, Aggsbach–Dorf, u Kartause Aggsbach	MS	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
MS 39/19	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	48°18'18"N	15°3'26"E	Rakousko, Prägarten, u kempu u rybníka Puschacherteich	MS	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
MS 41/19	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	48°33'31"N	15°7'50"E	Rakousko, Roiten, pravý břeh toku Kamp, 280 m Z od Hoher Stein	MS	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
MS 62/19	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	48°2'16"N	11°32'58"E	Německo, Bavorsko, Grünwald, lesní okraj J od Wörnbrunnu	MS	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
MS 66/13a	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	48°46'41"N	13°52'2"E	Česká republika, Šumava, na břehu Plešného jezera	MS	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
MS 66/19	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	47°50'2"N	11°21'2"E	Německo, Bavorsko, Sankt Heinrich, 1,3 km SV od kostela, v lese	MS	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
MS 67/19	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	47°49'24"N	11°20'50"E	Německo, Bavorsko, Sankt Heinrich, 700 m V od kostela	MS	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
MS 75/19	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	47°34'10"N	11°18'54"E	Německo, Bavorsko, jezero Walchensee, JZ břeh, 800 m V od Einsiedl	MS	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
MS 78/13	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°29'33"N	18°18'38"E	Česká republika, Beskydy, 380 m JZ od vrcholu Kněhyně, u cesty pod studánkou U partyzánky	MS	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
MS 78/19	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	47°34'58"N	11°23'34"E	Německo, Bavorsko, JV břeh jezera Walchensee	MS	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
MS 81/13	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°30'21"N	18°24'3"E	Česká republika, Beskydy, 1,2 km JV od vrcholu Malého Smrku	MS	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex

Příloha 8. – pokračování.

Sběrový kód	Taxon	Zem. šířka	Zem. délka	Lokalita	Sběratel	Počet semen	Vznik semen (%)				Klasifikace vzorku
							Red. opl.	Nered. neopl.	Red. neopl.	Nered. opl.	
MS 84/19	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	47°40'33"N	11°35'4"E	Německo, Bavorsko, Lenggries, 120 m SSV od Kalvarienberg	MS	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
MS 86/19	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	47°47'39"N	12°17'45"E	Německo, Bavorsko, Frasdorf, 400 m V od osady Ebnat, v lese	MS	10	80,0	0,0	10,0	10,0	sex
MS 92/19	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	47°36'21"N	12°51'30"E	Německo, Bavorsko, Ramsau bei Berchtesgaden, JV břeh jezera Hintersee	MS	9	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
MS 95/19	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	47°37'13"N	12°52'9"E	Německo, Bavorsko, Ramsau bei Berchtesgaden, u cesty König Max Weg, 1,1 km S od Wartsteinu	MS	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
Nova Gorica 1	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	45°56'53"N	13°38'59"E	Slovinsko, Nova Gorica, okraje lesa u Vojkovy cesty	GK	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
PE 1/2	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	48°40'52"N	17°32'49"E	Slovensko, Malé Karpaty, 900 m SV od obce Brezová pod Bradlom, okraje lesa u lesní cesty	PE	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
PE 3/4	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	48°39'42"N	20°25'31"E	Slovensko, Slovenský kras, Rožňavské Bystré, v lese 800 m JZ od obce (Gerlaské skály)	PE	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
Pelec	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°18'54"N	15°7'26"E	Česká republika, Pelec, v lese u silnice na Antonku	VF	9	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
Piwniczna-Zdrój 1a	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°26'11"N	20°43'19"E	Polsko, Piwniczna–Zdrój, 170 m SSZ od vrcholu Maly Kicarz	VF	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
Plačkov	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°31'50"N	15°23'22"E	Česká republika, Plačkov, 500 m ZSZ od kapličky v obci, v lese u silničky 50 m od křižovatky	VF	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex

Příloha 8. – pokračování.

Sběrový kód	Taxon	Zem. šířka	Zem. délka	Lokalita	Sběratel	Počet semen	Vznik semen (%)				Klasifikace vzorku
							Red. opl.	Nered. neopl.	Red. neopl.	Nered. opl.	
R 100/15	<i>R. guentheri</i> Weihe	50°52'08"N	15°14'35"E	Česká republika, Bílý Potok, 640 m SZ od Wenzerichova pomníku, v lese u křižovatky silnic	BT, VZ, MS	10	30,0	70,0	0,0	0,0	fac. apo
R 119/18	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°51'22"N	18°35'26"E	Česká republika, Karviná, 3,5 km V od Masarykova náměstí, okraj lesa	BT	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
R 129/19	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°25'38"N	18°24'53"E	Polsko, Slezsko, Proboszczowice, u lesní cesty J od obce	BT	10	60,0	30,0	0,0	10,0	fac. sex
R 132/18	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°49'14"N	18°29'41"E	Česká republika, Karviná, Stonava, 3 km Z od středu obce, okraj lesa	BT	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
R 132/19	<i>R. siemianicensis</i> Sprib.	50°25'3"N	18°33'49"E	Polsko, S od obce Paczyna, u železničního křížení	BT	3	33,3	66,6	0,0	0,0	fac. apo
R 134/19	<i>R. cf. oboranus</i> Sprib.	50°25'3"N	18°33'49"E	Polsko, Slezsko, Paczyna, lesní mýtina S od obce	BT	9	33,3	66,6	0,0	0,0	fac. apo
R 135/19	<i>R. cf. lucentifolius</i> Ziel. et Kosiński	50°20'27"N	18°38'59"E	Polsko, Slezsko, Gliwice, les u silnice na Pyskowice	BT	10	60,0	10,0	10,0	20,0	sex
R 136/19	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°39'50"N	16°50'44"E	Česká republika, Ospělov, u lesní cesty Z od obce	BT	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
R 151/19	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°10'17"N	17°41'36"E	Česká republika, Horní Paseky, u lesní cesty J od osady	BT	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
R 152/19	<i>R. cf. oboranus</i> Sprib.	49°50'35"N	17°59'59"E	Česká republika, Pustá Polom, u lesní cesty J od obce	BT	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
R 207/18	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°56'40"N	17°45'51"E	Česká republika, Březová, křižovatka cest JZ od obce, na okraji lesa	BT	11	36,4	54,5	9,1	0,0	fac. apo

Příloha 8. – pokračování.

Sběrový kód	Taxon	Zem. šířka	Zem. délka	Lokalita	Sběratel	Počet semen	Vznik semen (%)				Klasifikace vzorku
							Red. opl.	Nered. neopl.	Red. neopl.	Nered. opl.	
R 246/18	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°28'23"N	16°28'26"E	Polsko, Raszków, 1,7 km ZJZ od obce, v lese u silnice	BT	3	66,6	0,0	0,0	33,3	sex
R 255/18	<i>R. aff. holzfussii</i> Sprib.	50°22'49"N	16°31'40"E	Polsko, Polanica–Zdrój, 250 m JV od vrcholu Jodłowa Góra, v lese	BT	10	10,0	80,0	0,0	10,0	fac. apo
R 258/18	<i>R. guentheri</i> Weihe	50°15'59"N	16°40'26"E	Polsko, Bystrzyca Kłodzka, 3,5 km JV od středu obce, lesní mýtina	BT	10	30,0	70,0	0,0	0,0	fac. apo
R 272/18	<i>R. siemianicensis</i> Sprib.	50°16'49"N	17°33'53"E	Polsko, 2 km VJV od obce Dębowiec, lesní mýtina	BT	10	40,0	50,0	0,0	10,0	fac. apo
R 281/18	<i>R. siemianicensis</i> Sprib.	50°16'50"N	17°21'5"E	Polsko, Głuchołazy, Podlesie	BT	1	0,0	100,0	0,0	0,0	fac. apo
R 288/18	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°24'13"N	16°15'37"E	Polsko, Jarków, 300 m ZSZ od obce, u lesní cesty	BT	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
R 330/18	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°21'44"N	17°12'2"E	Česká republika, Vidnava, 1,5 km JV od náměstí, v lese	BT	10	40,0	50,0	10,0	0,0	fac. apo
R 334/18	<i>R. siemianicensis</i> Sprib.	50°21'44"N	17°12'2"E	Česká republika, Vidnava, 1,5 km JV od náměstí, v lese	BT	10	20,0	70,0	0,0	10,0	fac. apo
R 335b/18	<i>R. cf. posnaniensis</i> Sprib.	50°21'44"N	17°12'2"E	Česká republika, Vidnava, 1,5 km JV od náměstí, v lese	BT	9	44,4	55,5	0,0	0,0	fac. apo
R 337/18	<i>R. lucentifolius</i> Ziel. et Kosiński	50°20'30"N	17°13'48"E	Česká republika, Stará Červená Voda, 2 km SV od Kostelního vrchu, u lesní cesty	BT	1	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
R 394/18	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°14'11"N	17°55'49"E	Polsko, Jakubowice, 750 m od středu obce, lesní mýtina	BT	11	18,2	81,8	0,0	0,0	fac. apo
R 60/20	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°56'13"N	16°21'13"E	Česká republika, Horní Sloupnice, okraj lesa u silnice SSV od obce	BT	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex

Příloha 8. – pokračování.

Sběrový kód	Taxon	Zem. šířka	Zem. délka	Lokalita	Sběratel	Počet semen	Vznik semen (%)				Klasifikace vzorku
							Red. opl.	Nered. neopl.	Red. neopl.	Nered. opl.	
R 74/19	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°9'4"N	18°11'12"E	Polsko, Czerwięcice, les J od obce	BT	10	0,0	90,0	0,0	10,0	fac. apo
R 79/19	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°9'4"N	18°11'12"E	Polsko, Czerwiecice, 900 m J od obce, v lese	BT	10	40,0	60,0	0,0	0,0	fac. apo
R 85/18	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°06'03"N	18°30'42"E	Polsko, Rybnik, 2,2 km ZSZ od náměstí, okraj lesa	BT	9	0,0	55,5	0,0	44,4	fac. apo
R 85/19	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°11'14"N	18°8'34"E	Polsko, Slezsko, Witoslawice, les u silnice JV od obce	BT	10	20,0	60,0	0,0	20,0	fac. apo
R 88/19	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°10'42"N	18°4'9"E	Polsko, Koza, okraj lesa V od obce	BT	10	20,0	60,0	0,0	20,0	fac. apo
R 92/19	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°9'8"N	18°4'23"E	Polsko, Slezsko, Krowiarki, les u silnice SSZ od obce	BT	5	40,0	40,0	0,0	20,0	fac. apo
R 97/18	<i>R. aff. posnaniensis</i> Sprib.	50°20'26"N	18°29'29"E	Polsko, Bojszów, 900 m SV od středu obce, okraj lesa	BT	11	27,3	63,6	0,0	9,1	fac. apo
Rešáky	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°52'58"N	17°12'29"E	Česká republika, Rešov, NPR Rešovské vodopády, 400 m J od hradu Rešov, u cesty	MHR	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
RH 1/19	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°39'14"N	14°39'58"E	Česká republika, Kochnov, 350 m Z od vrchu Šišovka, v lese	RH, JH	10	40,0	50,0	10,0	0,0	fac. apo
Rohozná	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°21'43"N	15°22'58"E	Česká republika, Rohozná, 1,9 km SZ od kaple v obci, v lese	VF	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
Střížovice	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°7'50"N	15°8'12"E	Česká republika, Střížovice, 450 m JJV od žel. stanice, u žel. přejezdu, v lese	VF	10	60,0	30,0	0,0	10,0	fac. sex

Příloha 8. – pokračování.

Sběrový kód	Taxon	Zem. šířka	Zem. délka	Lokalita	Sběratel	Počet semen	Vznik semen (%)				Klasifikace vzorku
							Red. opl.	Nered. neopl.	Red. neopl.	Nered. opl.	
Vápenka	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°32'22"N	16°7'55"E	Česká republika, Vápenka, okraj lesa u JZ okraje obce	MHR	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
Vrchlabí	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	50°39'43"N	15°35'52"E	Česká republika, Vrchlabí, Herlíkovice, 700 m SZ od kaple, příkop u silnice	VF	1	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
Zselic 1	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	46°15'16"N	17°48'7"E	Maďarsko, Bószénfa, 4,5 km SZ od obce, bukový les	GK	3	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
Zvůle	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°5'42"N	15°13'54"E	Česká republika, Zvůle, rozcestí lesních cest, 65 m SZ od rozcestníku Zvůle	VF	10	100,0	0,0	0,0	0,0	sex
Žirovnice	<i>R. ser. Glandulosi</i> (Wimm. & Grab.) Focke	49°14'40"N	15°12'29"E	Česká republika, Žirovnice, 300 m VJV od autokempu Panistávka, v lese	VF	10	60,0	40,0	0,0	0,0	fac. apo