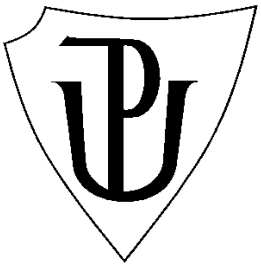
Univerzita Palackého v Olomouci
Přírodovědecká fakulta
Katedra ekologie a životního prostředí



Variabilita ve velikostech genomu a průduchů taxonů rodu orsej (*Ficaria*) v Evropě

Michaela Konečná

Bakalářská práce
předložená
na Katedře ekologie a životního prostředí
Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci

jako součást požadavků
na získání titulu Bc. v oboru Ekologie a ochrana životního prostředí

Vedoucí práce: Mgr. Ondřej Popelka

Konzultant: RNDr. Martin Duchoslav, Ph.D.

Olomouc 2018

© Michaela Konečná, 2018

Konečná M. 2018. Variabilita ve velikostech genomu a průduchů taxonů rodu orsej (*Ficaria*) v Evropě [bakalářská práce]. Olomouc: Katedra ekologie a ŽP PřF UP v Olomouci. 90 pp., 12 příloh. Česky.

Abstrakt

Rod orsej (*Ficaria)* je na území Evropy běžně rozšířený taxon, jedná se o skupinu geofytních rostlin, které vykazují značnou diverzitu v morfologii, reprodukčních systémech, karyologii a ekologii. Z důvodu vyskytujícího se intertaxonomického genového toku není taxonomická problematika rodu *Ficaria* stále vyřešena. V současné literatuře akceptované pojetí taxonomie rodu *Ficaria* je založeno na morfologických a geografických přístupech. Taxonomická hodnota těchto přístupů byla zhodnocena pomocí cytometrických (odhadnutí absolutní velikosti genomu) a morfometrických (velikost průduchů) metod. Rozdílné, geneticky vymezené velikosti genomů potvrdily existenci diploidních linií *F. verna* subsp. *calthifolia*, *F. verna* subsp. *fertilis*, *F. verna* subsp. *ficaroides* a tetraploidních linií *F. verna* subsp. *chrysocephala*, *F. verna* subsp. *verna* a pravděpodobně tetraploidní linie *F. verna* subsp. *kochii*. Zamítly existenci tetraploidní linie *F. verna* subsp. *ficariiformis*, patrně je součástí tetraploidní linie *F. verna* subsp. *verna*. Obsáhlou geografickou škálou u *Ficaria verna* subsp. *calthifolia* a *Ficaria verna* subsp. *verna* a existencí minoritních ploidních stupňů u studovaných taxonů byla potvrzena role polyploidizačních a hybridizačních procesů v evoluci rodu *Ficaria*. Velikost genomu byla pozitivně korelována s délkou průduchů, lze ji tedy využít jako znak pro klasifikaci ploidních stupňů.

Klíčová slova: hybridizace, polyploidizace, velikost genomu, délka průduchů

Konečná, M.: The variability in the size of the genome and of the stomata of Ficaria taxa in Europe [bachelor's thesis]. Olomouc: Department of Ecology and Environmental Sciences, Faculty of Science, Palacky University of Olomouc. 90 pp. 12 Appendices. Czech.

Abstract

Ficaria is a common genus in Europe. It is a group of geophytes, which shows considerable diversity in morphology, reproduction systems, karyology and ecology. Taxonomic issues in the genus *Ficaria* remain unresolved yet, owing to the occurrence of the inter-species gene flow. Taxonomic studies of the genus *Ficaria* accepted in the contemporary literature, have tended to take morphological and geographic approaches. The taxonomic value of these approaches was evaluated by using cytometric (estimation of the total genome size) and morphometric (measure of stomata size) methods. Different, genetically-defined genome sizes have confirmed the existence of diploid lines of *F. verna* subsp. *calthifolia*, *F. verna* subsp. *fertilis*, *F. verna* subsp. *ficaroides* and tetraploid lines of *F. verna* subsp. *chrysocephala*, *F. verna* subsp. *verna* and propably tetraploid line of *F. verna* subsp. *kochii*. They rejected the existence of tetraploid line *F. verna* subsp. *ficariiformis*, which is probably part of tetraploid line *F. verna* subsp. *verna*. An extensive geographical range of *F. verna* subsp. *calthifolia* and *F. verna* subsp. *verna*, and the existence of minor ploidy levels in the taxa studied confirmed the role of polyploidisation and hybridisation processes in the evolution of the genus *Ficaria*. The size of the genome was positively correlated with the length of the stoma, so it is feasible to use it as a criterion for the classification of the ploidy levels.

Key words: hybridisation, polyploidisation, genome size, stomata length

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně pod vedením Mgr. Ondřeje Popelky a jen s použitím citovaných literárních pramenů.

V Olomouci 3. května 2018 …….

podpis

Obsah

Seznam tabulek v
Seznam obrázků vi
Seznam příloh vii
Poděkování viii
ÚVOD 1
CÍLE PRÁCE 3
SUDOVANÁ PROBLEMATIKA 4
1.1 Hlavní evoluční mechanismy ovlivňující velikost genomu 4
1.1.1 Polyploidizace 4
1.1.2 Hybridizace 5
1.2 Rod Ficaria 16
1.2.1 Taxonomické zařazení rodu Ficaria 16
1.2.2 Popis a ekologie rodu Ficaria 17
1.3 Zástupci rodu Ficaria 19
1.3.1 Ficaria verna Huds. subsp. verna 20
1.3.2 Ficaria verna Huds. subsp. calthifolia (Rchb.) Rchb. ex Nyman 21
1.3.3 Ficaria verna Huds. subsp. chrysocephala (P.D.Sell) Stace 22
1.3.4 Ficaria verna Huds. subsp. fertilis (A.R.Clapham ex Laegaard) Stace 23
1.3.5 Ficaria verna Huds. subsp. ficariiformis (F.W.Schultz) Soó 23
1.3.6 Ficaria verna Huds. subsp. ficarioides (Bory&Chaub.) Veldk. 24
1.3.7 Ficaria verna Huds. subsp. kochii (Ledeb.) Veldk. 24
MATERIÁL A METODY 25
1.4 Rostlinný materiál 25
1.5 Stanovení absolutní velikosti genomu a DNA ploidní úrovně 25
1.6 Stanovení délky průduchů 26
1.7 Statistické zpracování dat 27
VÝSLEDKY 28
1.8 Absolutní velikost genomu a DNA ploidní úroveň 28
1.9 Délka průduchů 34
DISKUZE 37
ZÁVĚR 45
LITERATURA 46
PŘÍLOHY 60

Seznam tabulek

Tabulka 1: Zjištěné hodnoty absolutní velikosti genomu a DNA ploidní úrovně.....29

Tabulka 2: Srovnání průměrné délky průduchů mezi testovanými taxony na základě Tukey–Kramerova testu 35

Seznam obrázků

Obrázek 1: Příklad grafického výstupu z mikroskopu Olympus BX60 26
Obrázek 2:Příklady grafických výstupů z průtokového cytometru BD Accuri C6 30
Obrázek 3: Korelace mezi monoploidní velikostí genomu jedinců F. verna subsp. calthifolia a zeměpisnou šířkou..... 31
Obrázek 4: Korelace mezi monoploidní velikostí genomu jedinců F. verna subsp. calthifolia a zeměpisnou délkou. 31
Obrázek 5: Korelace mezi monoploidní velikostí genomu jedinců taxonů s pacibulkami a zeměpisnou délkou 32
Obrázek 6: Relativní monoploidní velikosti genomu populací F. verna subsp. calthifolia..... 33
Obrázek 7: Relativní monoploidní velikost genomu populací taxonů s pacibulkami. ..33
Obrázek 8: Variabilita velikosti průduchů 34
Obrázek 9: Korelace mezi délkou průduchů a monoploidní velikostí genomu u studovaných taxonů..... 36

Seznam příloh

Příloha 1: Přehled lokalit studovaných taxonů 60
Příloha 2: Přehled jedinců studovaných taxonů, u nichž byla stanovena absolutní velikost genomu 65
Příloha 3: Přehled jedinců studovaných taxonů, u nichž byla stanovena délka průduchů 68
Příloha 4: Přehled jedinců studovaných taxonů, u nichž byly stanoveny počty chromosomů (Šiková 2014, Jandová (nepublikováno) 72
Příloha 5: Diploidní cytotyp F. verna subsp. calthifolia 73
Příloha 6: Tetraploidní cytotyp F. verna subsp. calthifolia 74
Příloha 7: Diploidní cytotyp F. verna subsp. fertilis 75
Příloha 8: Diploidní cytotyp F. verna subsp. ficaroides 76
Příloha 9: Tetraploidní cytotyp F. verna subsp. chrysocephala 77
Příloha 10: Tetraploidní cytotyp F. verna subsp. verna 78
Příloha 11: Tetraploidní cytotyp F. verna subsp. ficariiformis 79
Příloha 12: Pentaploidní cytotyp F. verna subsp. ficariiformis 80

Poděkování

Na tomto místě chci poděkovat především svému vedoucímu Mgr. Ondřeji Popelkovi za nekonečnou trpělivost, motivující přístup, zasvěcení do laboratorních technik, pomoc v laboratořích, poskytnuté materiály, provedené statistické analýzy a konstruktivní připomínky, které vedly k stylistickým a obsahovým úpravám bakalářské práce. Dále chci poděkovat konzultantovi RNDr. Martinu Duchoslavovi, Ph.D. za kritickou revizi celého textu a grafickou analýzu. Rovněž děkuji Katedře Botaniky za poskytnutí laboratoří pro provedení potřebných analýz a všem pracovníkům, jmenovitě RNDr. Michalu Hroneši, Mgr. Michaele Jandové a Mgr. Michaele Švécarové, Ph. D. za pomoc v laboratoři průtokové cytometrie. Mé díky patří též všem sběratelům orsejů, bez nichž by tato práce vůbec nemohla vzniknout. V neposlední řadě děkuji svým rodičům za krásné dětství, které mi umožnilo dostat se až tam, kde jsem.

V Olomouci, 3. května 2018

ÚVOD

Rod orsej (*Ficaria*) zahrnuje široce rozšířené, časně kvetoucí geofyty běžné především na vlhkých stanovištích. Původní areál rodu zahrnuje Evropu (vyjma nejsevernější části) a přilehlé oblasti Asie a Afriky (Tutin 1964; Taylor & Markham 1978; Sell 1994). V posledních letech se ukazuje invazní potenciál tohoto rodu mimo jeho přirozený areál výskytu, tj. v některých regionech USA, Kanady (Post et al. 2009; Axtell et al. 2010; Marlow et al. 2014; Nesom 2015) a v pšeničných polích západního Íránu (Sohrabi Kertabad et al. 2013). V rámci rodu byl původně rozlišován jeden široce pojatý druh *Ranunculus ficaria* L. Jeho vysoká morfologická variabilita a existence několika ploidních úrovní vedla později k popisu velkého množství taxonů, často pochybné hodnoty (např. Allen 1958; Löve & Löve 1961; Clapham et al. 1962; Tutin 1964; Hess et al. 1997). Řada taxonů, byla pravděpodobně popsána opakovaně z různých částí Evropy, což vedlo ke značnému nomenklatorickému chaosu (Veldkamp 2015).

Nepřehledná taxonomie rodu vedla k pokusům ji revidovat (např. Metcalfe 1938; Lægaard 2001). První ucelenou práci na toto téma publikoval Sell (1994), který rozlišil 5 poddruhů druhu *Ranuculus ficaria* L. na základě velikosti listů a květů, fertility nažek a přítomnosti či absence pacibulek po odkvětu. Veldkamp (2015) pak na základě podrobného studia herbářového materiálu provedl revizi a rozlišil cekem 7 poddruhů druhu *Ficaria verna* Huds. Základním nedostatkem obou těchto prací je neznalost ploidní úrovně studovaného materiálu. Navíc většina znaků sloužící k identifikaci jednotlivých taxonů je silně plastická a ovlivněna prostředím (velikost květů a listů, fertilita nažek). Dále je pravděpodobné, že významnou evoluční roli uvnitř rodu hraje, kromě polyploidizace, také hybridizace generující další morfologickou variabilitu (Zonneveld 2015). Hybridizace, potažmo polyploidizace může být navíc akcelerována v souvislosti s globální změnou klimatu, tedy vznikem hybridních zón mezi dříve vzájemně izolovanými taxony (Vallejo-Marín & Hiscock 2016). Proto se taxonomickou problematiku tohoto složitého polyploidního komplexu pomocí cytologického přístupu (stanovení absolutní velikosti genomu a DNA ploidní úrovně) pokusil vyřešit Zonneveld (2015), který navrhl vyčlenit 8 druhů rodu *Ficaria*. Hlavním nedostatkem této práce je, že navržené taxony nejsou vyčleněny na základě morfologie a ani není provedena žádná detailní nomenklatorická studie nebo studie rozšíření studovaných taxonů. Taxonomická problematika není tedy stále uspokojivě vyřešena. Je patrné, že bez podrobné morfologické a cytologické studie

všech taxonů v rámci celé Evropy nebude tento problém vyřešen.

Pro identifikaci jednotlivých taxonů je tedy nezbytné využít holistický přístup k dané problematice. Jedním z vhodných přístupů může být studium variability velikosti genomu mezi taxony. Tato metoda umožňuje odfiltrovat morfologickou variabilitu, ale zároveň při využití pouze tohoto přístupu k definování taxonů je objektivita této metody těžko uchopitelná, protože se jedná o arbitrárně stanovené kritérium, podle kterého je taxonomická hodnota posuzována a zároveň tato metoda vychází z předpokladu nízké variability uvnitř konkrétní taxonomické jednotky (např. Zonneveld 2015). Dále je nutné pokusit se najít geneticky podmíněné znaky nevykazující přílišnou plasticitu ovlivněnou podmínkami prostředí (např. Post et al. 2009).

O zhodnocení využitelnosti vybraných morfologických znaků (tj. délka a šířka listů, délka řapíku, délka a šířka korunních lístků, délka a šířka nažek, přítomnost a absence pacibulek) k rozlišování taxonů rodu *Ficaria* se pokusili na herbářových položkách z USA Post et al. (2009). Výsledky této studie naznačují, že vybrané znaky jsou použitelné pouze pro některé taxony. Protože morfologické znaky se u některých taxonů prolínají, což zřejmě naznačuje nízké evoluční stáří jednotlivých taxonů, vyplývající ze zachovaného vysokého stupně homologie (Post et al. 2009). Pro determinaci jednotlivých taxonů je tedy nezbytné hledat další znaky. Marsden-Jones & Turrill (1952) naznačují možné rozlišení jednotlivých ploidií podle zubatosti okrajů listů a bělavých skvrn na svrchní straně listů. Potenciálním znakem pro rozřešení taxonomické problematiky se také jeví průměrná délka průduchů (Veselá 1969; Tröhler 1976).

Kombinací studia nových znaků a znalosti o velikosti genomu je tedy možné vytvořit nový taxonomický koncept rodu *Ficaria*. K objasnění taxonomické problematiky rodu *Ficaria* přispějí další taxonomické a morfologické studie.

CÍLE PRÁCE

Taxonomická problematika rodu *Ficaria* není v návaznosti na hybridizační a polyploidizační procesy stále vyřešena, což má i praktické důsledky pro determinaci a zhodnocení ochranářského významu taxonomických jednotek tohoto složitého komplexu.

Cílem této práce je (a) sepsat literární rešerši na téma polyploidizace, hybridizace a taxonomické problematiky rodu *Ficaria*; (b) na základě studia velikosti genomu přispět k objasnění evolučních vztahů uvnitř rodu a nastínit tak další směřování výzkumu; (c) ověřit vhodnost délky průduchů jako znaku využitelného k determinaci.

SUDOVANÁ PROBLEMATIKA

1.1 Hlavní evoluční mechanismy ovlivňující velikost genomu

1.1.1 Polyploidizace

Polyploidie neboli multiplikace celého genomu je jev, kdy jádra somatických buněk určitého organismu obsahují více než dvě kompletní sady chromosomů (Soltis et al. 2015). Podle konkrétního počtu chromozomových sad se polyploidie označuje jako triploidie (3), tetraploidie (4), pentaploidie (5) atd. (Kihara & Ono 1926). Ke vzniku polyploidie dochází procesem polyploidizace, jehož výsledkem je polyploidní jedinec (Soltis et al. 2015).

Polyploidie byla dříve řadou autorů považována za slepou evoluční uličku, i přestože se v rámci fylogeneze řady druhů vyskytovala opakovaně (Leitch & Bennett 1997; Soltis et al. 2009; Wood et al. 2009). Díky jejímu opakovanému výskytu došlo později k obecnému koncensu, že z dlouhodobého hlediska lze polyploidii považovat za evoluční výhodu generující genetickou variabilitu, tj. nové vlastnosti taxonů (Comai 2005; Soltis et al. 2015). Protože k polyploidizaci dochází za nepříznivých, stresujících podmínek prostředí, Freeling (2017) usuzuje, že evoluční výhoda polyploidie spočívá v jejich přečkání. Odeznění nepříznivých podmínek pak může být následováno diploidizací, tj. opětovným nabytím diploidního stavu a tedy i návratem k sexuální reprodukci (Wood et al. 2009). Některé genetické změny podmíněné polyploidizací navíc zůstávají po diploidizaci zachovány (Wolfe 2001). Freelingova hypotéza je podporována současnými poznatky naznačujícími, že v průběhu evoluce došlo k (opakované) polyploidizaci u většiny předků současných krytosemenných rostlin (Cui et al. 2006; Soltis et al. 2009).

Z evolučního hlediska je tedy polyploidie považována za významný speciační, adaptační, a tedy i diverzifikační mechanismus (např. Stebbins 1950 podle Soltis et al. 2000; Grant 1981 podle Soltis et al. 2009; Ramsey & Schemske 1998; Otto & Whitton 2000; Tank et al. 2015; Alix et al. 2017). Díky tomu je daná problematika v popředí zájmu mnoha odborníků. Přesto zůstávají odhady frekvence polyploidů v rostlinné říši nejisté a liší se v závislosti na (a) evolučních liniích (Leitch & Bennett 1997, Wood et al. 2009); (b) na datech, z nichž autoři analýz vychází; a (c) na metodice jednotlivých autorů. Například rané studie Stebbins (1950 podle Soltis et al. 2000) založené na počtech chromosomů (za předpokladu, že za polyploidní rostliny lze považovat rostliny s chromozomovým číslem

n = 12 a výše) odhadují, že 30 % až 35 % krytosemenných rostlin je polyploidního původu. Grant (1963, 1981 podle Soltis et al. 2009) stejnou, ale konzervativější metodikou (za polyploidní taxony lze považovat rostliny s chromozomovým číslem n = 14 a výše) odhadl, že polyploidního původu je 47 % všech kvetoucích rostlin, přičemž 58 % z nich patří mezi jednoděložné a 43 % mezi dvouděložné. Obdobnou, liberálnější metodikou (za polyploidního původu lze považovat rostliny s chromosomálním číslem n = 9 a výše) byly posléze stanoveny i vyšší odhady krytosemenných rostlin polyploidního původu, a to 70 % až 80 % jak pro jednoděložné (Goldblatt 1980 podle Soltis et al. 2009), tak pro dvouděložné (Lewis 1980 podle Soltis et al. 2009). Tyto odhady jsou v souladu s výsledky studie Masterson (1994) udávající na základě velikosti průduchů fosilních a recentních taxonů, že procesem polyploidizace prošlo 57 % až 70 % všech druhů krytosemenných rostlin. S rozvojem molekulárních metod se ale ukazuje pravděpodobná podhodnocenost starších odhadů polyploidizace (Wood et al. 2009). Tato hypotéza je podporována teorií sekundární diploidizace (Wolfe 2001). Ta naznačuje, že většina ne-li všechny druhy krytosemenných rostlin byly polyploidní v některé fázi fylogeneze (Cui et al. 2006; Soltis et al. 2009). Nicméně pro udržení vzniklého polyploida v evoluci je nutná jeho reprodukční izolace (Levin 1975; Fawcett 2010) a v případě alogamické reprodukce jeho slukovitý výskyt (Levin 1975). Z těchto důvodů jsou proto odhady druhů vzniklých polyploidizací nižší než odhady počtu druhů, které polyploidizaci podstoupily. Wood et al. (2009) na základě analýz fylogenetických stromů uvádí, že polyploidizace by mohla být zodpovědná za vznik 15 % druhů cévnatých rostlin. Protože v těchto případech dochází k okamžité reprodukční izolaci, je polyploidizace považována za hlavní způsob sympatrické speciace (Otto & Whitton 2000).

Vznik polyploidů a jeho dopady na genotyp

Vznik polyploidie je podmíněn třemi hlavními cytologickými mechanismy. Prvním je formace neredukovaných gamet v důsledku poruch v průběhu meiózy. Jedná se o geneticky podmíněný, dědičný znak, který je ale silně ovlivňován podmínkami prostředí (zejména teplotními fluktuacemi), jejichž vliv se liší v závislosti na určení pohlaví gamet. Neredukované gamety jsou pravděpodobně primární příčinou vzniku polyploidů (Bretagnolle & Thompson 1995; Ramsey & Schemske 1998; Storme & Mason 2014). Frekvence neredukovaných gamet je vyšší u hybridů (27 % až 52 %)

než u nehybridních jedinců (0,56 %) (Ramsey & Schemske 1998). Dle metaanalýzy Kreiner (2017) vyplývá, že produkce neredukovaných gamet se v přírodních, nehybridních populacích v průměru pohybuje od 0,1 % do 2,0 %, přičemž většina individuí v populacích produkuje neredukované gamety v malých, téměř nulových frekvencích a pouze malé množství jedinců vytváří podstatně více neredukovaných gamet. Produkce neredukovaných gamet je tedy vysoce individuální a patrně i druhově specifická. Druhým mechanismem je somatická duplikace způsobená endoreduplikací či endomitózou probíhající v somatických buňkách. Z těch se dále polyploidizace do dalších generací šíří buď přímo v případě vegetativní reprodukce, nebo nepřímo, odvozením reprodukčních pletiv ze somatických buněk v případě sexuální reprodukce. Posledním mechanismem jsou pak malé karyotypové změny v podobě aneuploidie nebo disploidie objevující se v důsledku poruch meiózy (Storme & Mason 2014).

Dle cytologických a taxonomických hledisek rozlišujeme dva základní typy polyploidů.

Autopolyploidi vznikají buď zdvojením chromozomových sad v rámci samotného individua nebo splynutím neredukovaných gamet (2n) v rámci téhož druhu (Ramsey & Schemske 1998; Soltis et al. 2015). V případě splynutí neredukovaných gamet (2n) může docházet k tzv. bilaterální polyploidizaci, tedy splynutí dvou neredukovaných gamet (2n) nebo k tzv. unilaterální polyploidizaci, tedy splynutí redukované (n) a neredukované (2n) gamety (Bretagnolle & Thompson 1995). Autopolyploidi jsou v ideálním případě charakterizováni polysomickou dědičností, tedy tvorbou multivalentů v průběhu meiózy v důsledku vysoké homologie rodičovských chromosomů. Nicméně bivalentní párování se u autopolyploidů může vyskytovat a je dokonce častější (63,7 %) než multivalentní párování (28,8 %) (Ramsey & Schemske 2002).

Alopolyploidi jsou buď formováni mezidruhovou hybridizací, kterou vzniká homoploidní hybrid trpící sníženou fertilitou a životaschopností, což je následně odstraněno polyploidizací spojenou se zvýšením fertility a reprodukční izolací, jedná se o vznik tzv. amfiploidů (Rieseberg & Willis 2007). Druhou možností je přímá mezidruhová hybridizace neredukovaných gamet, která je většinou realizována skrz unilaterální polyploidizaci, spíše než bilaterální polyploidizaci (Ramsey & Schemske 1998). Alopolyploidi jsou v ideálním případě charakterizováni disomickou dědičností, tedy tvorbou bivalentů v průběhu meiózy v důsledku vysoké homeologie splývajících rodičovských genomů (Ramsey & Schemske 2002). Nicméně v případě

zachované vysoké homologie mezi hybridizujícími se rodičovskými druhy může docházet i k tvorbě multivalentů během meiózy (Stebbins 1947).

Splýváním redukované (n) a neredukované gamety (2n) (unilaterální polyploidizací) vznikají triploidní jedinci, vyznačující se podstatnou sterilitou, která vede k zamezení genetického toku mezi diploidními a tetraploidními cytotypy, tedy k vzniku tzv. triploidního bloku. Působení triploidního bloku se liší v závislosti na druhu či pohlaví gamety. V malém, druhově specifickém množství tak množství může docházet k produkci euploidních gamet (n, 2n, 3n), čímž může docházet ke genovému toku z diploidů do tetraploidů skrz „fertilní“ triploidy a tento jev nazýváme tzv. triploidní most (Levin 1975, Bretagnolle & Thompson 1995; Ramsey & Schemske 1998). Úspěšnost přežití alogamických populací je determinována zastoupením triploidů v populaci (Levin 1975; Levin 2002) a velikostí populace. V menších populacích je pravděpodobnost přežití odlišných cytotypů vyšší (Thompson & Lumaret 1992). Vzhledem k nízké produkci redukovaných gamet (n) triploidy (Levin 1975; Bretagnolle & Thompson 1995; Ramsey & Schemske 1998) dochází, pokud vůbec, k jednosměrnému genetickému toku od diploidů k tetraploidům (Duara & Stebbins 1952; Balao et al. 2016). Triploidní most zprostředkovává především vznik autotetraploidů v závislosti na způsobu reprodukce (Ramsey & Schemske 1998). Některá data indikují, že liché ploidní stupně, např. triploidi, mohou tvorbu polyploidů spíše akcelerovat než ji zpomalovat (Husband 2004).

Toto vymezení pojmů není absolutní, mezi nimi existuje kontinuum (Leitch & Bennett 1997), které Stebbins (1947) označuje termínem segmentální alopolyploid. Segmentální alopolyploid v důsledku pouze částečně diferencovaných tzv. homeologických chromosomů vytváří během meiózy bivalenty a multivalenty (Stebbins 1947; Sybenga 1996). Stupeň homeologického párování chromozomů může být tedy nepřímo spojen s genetickou příbuzností mezi křížícími se taxony (Liu 2001). Nicméně byla zaznamenána i tvorba bivalentů u autopolyploidů (Sybenga 1996; Soltis et al. 2009). Navíc studie založená na počítačových simulacích (Comber 2010) naznačuje, že může docházet k transformaci multisomické dědičnosti k disomické dědičnosti v průběhu existence polyploida. Tato transformace je podporována subfunkcionalizací (tj. obě alely přejímají pouze část funkce původního, rodičovského genu) i neofunkcionalizací (tj. jedna alela určitého genu získá novou funkci) a sníženou mírou rekombinace mezi chromozomy rodičů. Takže starší hypotézy o nepatrném zastoupení autopolyploidů, a tedy i o jejich nevýznamné roli

v evoluci ve srovnání s alopolyploidy, byly přehodnoceny. Současné studie odhalují, že autopolyploidie se může významně podílet na evoluci a diverzifikaci taxonů (Otto 2007; Soltis et al. 2007; Spoelhof et al. 2017) prostřednictvím přechodu k disomické dědičnosti (Otto 2007), což je spjato s její těžkou detekcí (Soltis et al. 2007). U starých událostí polyploidizace, tj. paleopolyploidů, kde jsou diploidní předci neznámí či vyhynulí a sekvence DNA se liší, tak nelze rozlišit mezi autooplyploidií a alopolyploidií (Jackson & Chen 2010; Alix et al. 2017). Kromě toho vyšší polyploidi mohou být kombinacemi autopolyploidních a alopolyploidních událostí, proto je označujeme jako "auto-alo-polyploidy" (obvykle shrnuto jako polyploid) (Alix et al. 2017).

Po polyploidizaci dochází v důsledku znásobení množství genetického materiálu k značným změnám ve struktuře a funkcích genomu, jako jsou chromosomové přestavby, aktivace transpozibilních elementů (tj. elementů potlačených u každé parentální linie, u hybridů pak usnadňujících pohyb genů a podporujících nerovnoměrný crossing–over), retence a ztráta duplikovaných genů, změna exprese genů, neofunkcionalizace a subfunkcionalizace. Všechny tyto procesy vedou ke tvorbě genetické variability a zamaskování účinku recesivních, často škodlivých alel, a tak působí proti ztrátě fitness (Adams & Wendel 2005; Jackson & Chen 2010; Soltis et al. 2016). Polyploidi ale zároveň podléhají vyšší míře mutací. U nově formovaných polyploidů tak může opravdu docházet k zmírnění účinků recesivních alel, nicméně pouze do doby, než nově vznikající mutace dosáhnou vyšší frekvence očekávané u polyploidů (Otto & Whitton 2000). Kromě toho může být větší množství genetického materiálu spojeno s produkcí abnormalit (včetně aneuploidie) z důvodu vyšší komplexnosti párování a segregace chromosomů během mitózy a meiózy. Uvedené procesy snižují adaptabilnost, potažmo heterozygotnost polyploidů (Comai 2005). To je ale kompenzováno expresí genů řízenou epigenetickými mechanismy, tj. mechanismy nezahrnujícími změny genotypu, pravděpodobně umožňujícími funkční diverzifikaci a vývoj adaptivních znaků v polyploidech (Jackson & Chen 2010).

Některé změny jsou rychlé a fixované ihned po polyploidizaci, jiné se vyskytují stochasticky, postupně u paleopolyploidů a stabilních alopolyploidů (Adams & Wendel 2005; Leitch & Leitch 2008; Jackson & Chen 2010), jejich rozsah a rychlost se značně liší v jednotlivých polyploidních systémech (Soltis et al. 2010, 2016). Vyšší dopady polyploidizace jsou zřetelné především u alopolyploidů, protože dochází

k fixaci heterozygotnosti vyplývající z disomické dědičnosti. Fixovaná heterozygotnost alopolyploidům zprostředkovává vyšší genomovou flexibilitu, na které může výběr fungovat. Z toho tedy vyplývá, že významná je v procesu polyploidizace především hybridizace (potažmo disomická dědičnost) nikoli samotná duplikace celého genomu (Ramsey & Schemske 2002; Comai 2005; Jackson & Chen 2010; Storme & Mason 2014). Změny v genotypu pak mají za za následek zvýšenou fenotypovou variabilitu především u alopolyploidů, která umožňuje rychlou adaptaci na změněné podmínky prostředí a v některých případech i speciaci (Comai 2005; Hegarty & Hiscock 2008; Madlung 2013; Tank et al. 2015)

Projevy genotypu u polyploidů

Změna ploidie spojená s výše popsanými změnami genotypu a epigenetickými účinky je obecně zodpovědná za tvorbu odlišné morfologie, fyziologie a ekologie polyploidů (Comai 2005).

Z morfologického i fyziologického hlediska je polyploidizace spojena s tzv. „gigas efekt“, kdy v důsledku multiplikace celého genomu dochází k zvětšení buněk a tím i velikosti celé rostliny ve srovnání s diploidním předkem (Stebbins 1971), což následně vede ke změnám ve fyziologii. Například dochází k zvětšování průduchů v závislosti na ploidii (Masterson 1994; Beaulieu et al. 2008), ale jejich hustota se s rostoucí velikostí genomu, potažmo ploidií snižuje (Li et al. 1996; Beaulieu et al. 2008). Výše popsaný vztah mezi velikostí a hustotou průduchů na jednotku plochy listu může mít vliv na hospodaření s vodou a oxidem uhličitým, protože malé průduchy jsou flexibilnější v reakci na vodní stres a v kombinaci s jejich zvýšenou hustotou je rostlině zajištěna i maximální difúze oxidu uhličitého (Beaulieu et al. 2008). Studie Li (1996) provedená na *Betula papyrifera* ale udává schopnost polyploida více snížit vodní potenciál během vodního deficitu ve srovnání s diploidem a tím si i přes menší hustotu průduchů zajistit dostatečné množství oxidu uhličitého pro fotosyntézu. Kromě toho studie Ristic (2002) zaznamenala u druhu *Zea mays* zvýšenou tloušťku kutikuly v korelaci s polyploidií, což snižuje ztráty vody během sucha. Nicméně obecně se přímý vztah mezi ploidií a objemem buněk (Otto 2007), fyziologií (Soltis et al. 2015) liší mezi prostředím a taxony (Otto 2007; Soltis et al. 2015).

Změny v genotypu jsou spojeny i s evolucí široké škály reprodukčních systémů,

které jsou významným faktorem umožňujícím reprodukční izolaci nově vzniklého polyploida a překonání principu tzv. vyloučení minoritního cytotypu v populacích jeho diploidních předků (Levin 1975). V případě sexuální reprodukce se u polyploidů vyskytuje většinou autogamie, přičemž se předpokládá, že s rostoucí ploidií roste i schopnost autogamie. Výskyt autogamie u polyploidů by dle studie Barringer (2007) založené na 235 druzích krytosemenných rostlin mohl být způsoben sníženou autoinkompatibilitou polyploidů a jejich vyšší tolerancí vůči inbrední depresi (Soltis et al. 2000). Barringer (2007) také uvádí, že zastoupení polyploidie liší v rámci jednotlivých životních forem (u jednoletek je vyšší než u vytrvalých rostlin). Baack (2005) uvádí, že pravděpodobnost vytvoření autogamie u polyploidů se zvyšuje i se snižujícím se disperzním potenciálem semen i pylu. Dále byl zkoumán i vztah mezi apomixií a polyploidizací, z důvodu sdílení produkce neredukovaných gamet v případě gametofytické reprodukce (Ramsey & Schemske 1998). Z asexuální reprodukce k přežití polyploidů přispívá i schopnost vegetativního rozmnožování, které je u polyploidních jedinců rovněž častější než u diploidů (Ramsey & Schemske 1998; Fawcett & Van de Peer 2010). Herben et al. (2017) pak na fylogeneticky rozsáhlém vzorku 900 druhů evropských krytosemenných rostlin uvádí korelaci mezi mírou vegetativní reprodukce a polyploidie v závislosti na zvyšujících se disperzních schopnostech druhů. Tato studie také ukazuje, že řada diploidních druhů se schopností vegetativní reprodukce může častěji podstoupit polyploidizaci, a tak zvýšit míru polyploidní speciace.

Ekologické studie ukázaly, že polyploidie může mít vliv i na interakce mezi rostlinami a živočichy (herbivory a opylovači) (Soltis et al. 2003). V důsledku změn ve fenologii a květní morfologii může docházet k specializaci opylovačů na polyploidní a diploidní rostliny. To může přispívat k reprodukční izolaci cytotypů, a tedy i ke koexistenci různých cytotypů na téže lokalitě (Segraves & Thompson 1999).

Polyploidi na rozdíl od diploidních předků obsazují často nové ekologické niky v nepříznivém a nestabilním prostředí (Fawcett & Van de Peer 2009, 2010), protože nepříznivé a nestabilní prostředí poskytuje polyploidům prostor pro využití adaptivního potenciálu polyploidizace (Fawcett 2009). Tomuto tvrzení odpovídá pozorované vyšší množstvím polyploidů ve vyšších zeměpisných šířkách a nadmořských výškách nebo v arktických oblastech (Brochmann 2004). Nicméně tento fenomén patrně také souvisí s vyšší produkcí neredukovaných gamet za extrémních podmínek (Bretagnolle & Thompson 1995; Ramsey & Schemske 1998; Storme & Mason 2014). Obecně

se tedy předpokládá, že polyploidi mají širší ekologickou amplitudu (Oto & Whiton 2000; Fawcett & Van de Peer 2010), která může být spjata až s nabytím invazivního potenciálu (např.Te Beest et al. 2012). Nicméně recentní studie Soltis et al (2014) naznačují nutnost provedení dalších studií zakládajících se na novějších metodických postupech a teprve na jejich základě bude možné posoudit ekologickou amplitudu studovaných taxonů (Soltis et al. 2014).

1.1.2 hybridizace

Mezidruhová hybridizace je jev, kdy dochází k reprodukci mezi členy geneticky odlišných populací (Barton & Hewitt 1985), čímž se rozumí odlišnost jedinců v populacích na základě jednoho nebo více dědičných znaků (Harrison 1990, 1993 podle Harrison & Larson 2014). Z podstaty definice hybridizace tento jev obvykle zahrnuje dva taxony, nicméně vzácně k němu může docházet mezi třemi (nebo více) taxony (Kaplan & Fehrer 2007). Výsledkem hybridizace je pak vznik hybridních jedinců. Za hybrida lze pravděpodobně považovat jedince, u něhož je tok genů mezi rodičovskými taxony omezen nebo znemožněn vnitřními bariérami, a i přes potenciální hybridizaci a introgresi (tj. včlenění alel jednoho druhu do genofondu druhého druhu prostřednictvím hybridizace a zpětného křížení) zůstává jedinec diferencovaný (Harrison & Larson 2014).

Hybridizace bývá občas považována za slepou evoluční uličku (Seehausen 2013), což je zřejmě podmíněno nízkou frekvencí její formace a semipermabiliním charakterem bariér genetického toku mezi jinak geneticky odlišenými populacemi (Harrison & Larson 2014). Recentní studie ale naznačují, že z evolučního hlediska lze hybridizaci považovat za významný speciační, adaptační, a tedy i diverzifikační mechanismus (např. Rieseberg 1997; Barton 2001; Abbot et al. 2013). Protože údaje o výskytu hybridizace jsou pravděpodobně podhodnocené v důsledku těžké detekovatelnosti hybridů (hybridi s hybridizací prodělanou v evoluční minulosti, kryptické hybridy, tj. pro mezidruhový kontakt existují značné překážky) (Whitney et al. 2010). Odhady frekvence hybridů v rostlinné říši zůstávají tedy nejisté a liší se v závislosti na evolučních liniích (Ellstrand et al. 1996; Whitney et al. 2010). Například ranná studie Ellstrand (1996) odhaduje, že alespoň jeden hybrid je přítomen v 25 % čeledí a v těch se pouze u 11 % rodů se vytváří hybridy. Recentní studie Whitney (2010) naznačuje, že hybridi se vyskytují u 40 %

čeledí a 16 % rodů (Whitney et al. 2010). Pro stanovení přesnějších odhadů zastoupení hybridů je nutný rozvoj metod podmiňujících jejich detekci (Abbott et al. 2013).

Vznik hybridů a jeho dopady na genotyp

Hybridi nejčastěji vznikají v rámci periferních populací určitého taxonu, kde je nízká populační hustota a s tím spojená nízká míra reprodukce, která má za následek mírnou až téměř nulovou konkurenci rodičovských taxonů vůči jejich hybridům, tj. nízký selekční tlak (Barton & Hewitt 1985; Rieseberg 1997). Kromě toho obecně platí, že v menší populaci je relativně vyšší podíl cizího pylu, semen nebo spor a zvyšuje se pravděpodobnost interpopulační a mezidruhové reprodukce vlivem kratší doby setrvání opylovače v populaci (Ellstrand 1993). Klíčovou roli hrají i přírodní a antropogenní disturbance umožňující rozpad prereprodukčních bariér (Ellstrand & Schierenbeck 2000; Orians 2000). Na formaci hybridů se tedy podílejí jak genetické faktory, tak enviromentální podmínky.

Hybridi vznikají homoploidní a polyploidní hybridizací spojenou se změnou ploidie (viz kapitola Polyploidie). Podle nejjednoduššího modelu jsou homoploidní hybridi formováni splýváním genomů rodičovských taxonů stejné ploidní úrovně, rozlišitelných na základě dvou nebo i více vzájemně nezávislých, tj. separovatelných chromosomálních přesmyků. Hybridní potomstvo rodičovských taxonů je převážně neživotaschopné (Rieseberg 1997; Yakimowski & Rieseberg 2014) v důsledku (a) genetických jevů, jako jsou delece, inzerce (Rieseberg 1997), genetické inkompatibility, změna struktury chromosomů (Yakimowski & Rieseberg 2014) omezujících rekombinaci a (b) v důsledku enviromentálních faktorů odrážejících se genetickým driftem (Yakimowski & Rieseberg 2014). Část potomstva je ale životaschopná a je buď karyologicky shodná s jedním z rodičovských taxonů nebo je tvořena oběma rekombinantními karyotypy rodičovských taxonů. Pokud gamety vyprodukované jedinci s rekombinantními karyotypy rodičovských taxonů splynou vznikne malá část potomstva s novým karyotypem, která je fertilní i stabilní a zároveň částečně sterilní při reprodukci s rodičovskými taxony (Rieseberg 1997). Množství hybridů s vysokým fitness je variabilní v závislosti na taxonu a podmínkách prostředí a fluktuuje v prostoru i v čase (Yakimowski & Rieseberg 2014).

Doba nutná pro reprodukční izolaci nově formovaného hybrida za předpokladu stejné ploidní úrovně hybrida a rodičovských taxonů a nevyvinutí čistě apomiktické

reprodukce u hybrida trvá několik stovek až milionů generací (Abbott et al. 2013). Vznikající hybridi tak musí překonat chromozomové a genové inkompatibility bez reprodukční izolace (Rieseberg 1997; Barton 2001; Yakimowski & Rieseberg 2014). Vlivem neúplně vyvinutých reprodukčních bariér proto dochází i k zpětnému křížení hybridů s rodičovskými taxony, uplatňuje se introgrese. Zpětné křížení v případě produkce sterilního potomstva F1 hybridy může vést k obnovení fertility hybridů (Rieseberg & Carney 1998). Speciace skrz homoploidní hybridizaci ale může být akcelerována faktory jako je prostorová izolace nově vzniklé hybridní linie, ekologická divergence nebo rychlejší evoluce karyotypu, případně kombinací všech faktorů (Rieseberg 1997; Rieseberg & Willis 2007). Z genetického hlediska je tedy úspěšný průběh hybridizace snadnější u autogamických taxonů, nicméně z hlediska ekologického je méně pravděpodobný (Rieseberg 1997; Yakimowski & Rieseberg 2014). Z výše uvedených důvodů je proces homoploidní hybridizace považován za málo pravděpodobný ve srovnání s polyploidizací (Rieseberg 1997), ale počet detekovaných případů homoploidní hybridizace se s rostoucím počtem studií zvyšuje, což je reflektováno rozvojem metod umožňujících její detekci (Abbott et al. 2013).

V sympatrických populacích rodičovských taxonů tak může tzv. primárním kontaktem dvou rodičovských taxonů docházet k příbuzenskému křížení za vzniku hybrida. K příbuzenskému křížení ale může docházet i mezi dříve alopatrickými taxony, u nichž nejsou dostatečně vyvinuty reprodukční bariéry, a to k tzv. sekundárním kontaktem hybridního taxonu s rodičovským taxonem. Primárním i sekundárním kontaktem tak za předpokladu zachované fertility dávající vzniknout fertilnímu potomstvu u hybridů často vznikají tzv. hybridní zóny. Hybridní zóny jsou mimo rodičovských taxonů a jejich hybridů různých generací tvořeny i hybridy zpětného křížení s jedním rodičovským taxonem (Barton & Hewitt 1985; Abbott 2017). Rozlišení původu zformovaných hybridních zón je ve většině případů nemožné. Nicméně Abbott (2017) na základě literární rešerše uvádí, že většina hybridních zón je projevem sekundárního kontaktu. Ekologická speciace s genetickým tokem mezi odlišnými, reprodukčně neizolovanými taxony tedy může být vzácný fenomén (Abbott 2017). Charakter a doba trvání hybridní zóny je tedy determinována disperzními schopnostmi daného taxonu a selekčním tlakem vůči hybridům (Barton & Hewitt 1985). Dle charakteru lze hybridní zóny klasifikovat do čtyř typů: (a) Tension zone, (b) Bounded hybrid superiority zone, (c) Mosaic hybrid zone a (d) Novelty hybrid zone. (a) Tension

zone je charakterizována rovnovážným stavem mezi intenzitou produkce hybridů a selekčním tlakem vůči nim, přičemž hybridi mají nižší fitness oproti rodičovským taxonům (Barton & Hewitt 1985; revidováno Abbott 2017). (b) Bounded hybrid superiority zone se vyznačuje vyšším fitness u hybridů v přechodných habitatech, tedy na ekotonech a vyšším fitness rodičovských taxonů v jejich přirozených habitatech (Moore 1977 podle Abbott 2017). (c) Mosaic hybrid zone je kombinací dvou výše uvedených modelů, tedy hybridi mohou vykazovat nižší i vyšší fitness ve srovnání s rodičovskými taxony, vznikají tak hybridní roje s širokou škálou generací hybridů, spojenou s variabilním fitness (Harrison & Rand 1989 podle Abbott 2017). (d) Novelty hybrid zone je charakterizována vyšším fitness některých hybridů, které jim umožňuje obsadit nové ekologické niky a zároveň umožňuje postupné nahrazení rodičovského taxonu hybridním taxonem v oblastech přiléhajících k hybridní zóně (Arnold 1997 podle Abbott 2017). Metaanalýza Abbott (2017) udává, že nejvíce autoři studií, v tomto pořadí, detekují Mosaic hybrid zone, Tension zone, Bounded hybrid superiority zone a Novelty hybrid zone.

Po hybridizaci dochází ke změnám ve struktuře a funkcích genomu, jako jsou chromosomální přestavby, aktivace transpozibilních elementů (tj. elementů potlačených u každé parentální linie, u hybridů pak usnadňujících pohyb genů a podporujících nerovnoměrný crossing-over), delece a duplikace genů, změna exprese genů vlivem epigenetických mechanismů (tj. mechanismů nezahrnujících změny genotypu). Navíc u hybridů dochází v případě alopatrických populací k diverzifikaci alel jednotlivých lokusů, což se v sekundárním kontaktu dříve alopatrických taxonů projevuje inkompatibilitami mezi alelami jednotlivých lokusů, tento jev popisuje Dobzhansky Muller model (Johnson 2008). Mimo to v důsledku zpětného křížení hybridů s rodičovskými taxony hybridi neobsahují stejné množství genetické informace od každého rodičovského taxonu (Abbott et al. 2013). To vše nepřímo podmiňuje tvorbu prezygotických bariér a nepřímo/přímo určuje tvorbu postzygotických bariér (Rieseberg & Willis 2007; Abbott et al. 2013). Mezi prezygotické bariéry řadíme ekologickou izolaci (např. prostřednictvím odlišných opylovačů, odlišného prostředí či fenologie), naopak postzygotické bariéry lze členit na vnitřní (na prostředí nezávislé bariéry jako je neživotaschopnost hybridů, jejich sterilita) a vnější (na prostředí závislé bariéry jako je ekologická neživotaschopnost, minoritní zastoupení cytotypu) (Vallejo-Marín & Hiscock 2016). Sterilita hybridů je často podmíněna radikálními chromosomovými přestavbami. Proto pro proces speciace jsou klíčové menší,

tj. mikrochromosomální přestavby vedoucí k reprodukční izolaci bez ztráty fitness, nicméně časté jsou i mírné chromosomové přestavby příliš nenarušující fitness hybrida, ale nevedoucí k silné reprodukční izolaci (Rieseberg & Willis 2007; Abbott et al. 2013). Reprodukční izolace se tedy mohou u hybridů vytvářet v době nulového genetického toku v důsledku prostorové izolace nebo fyzických překážek. Nicméně je běžné, že za těchto podmínek vytvořené reprodukční bariéry jsou pouze neúplné a vlivem sekundárního kontaktu, nastávajícího v určité fázi divergence v důsledku změn podmínek prostředí vedoucích k posunu areálu taxonu, dochází buď k posílení reprodukčních bariér nebo zániku hybridního taxonu (Abbott et al. 2013). Mladší taxony v případě překonání ekologických bariér snáze kříží v důsledku vzácně vyvinutých či úplně chybějících vnitřních reprodukčních bariér (Brennan et al. 2014)

S homoploidní hybridizací je spjata i introgrese neboli introgresivní hybridizace, tedy přenos alel jednoho rodičovského taxonu do hybrida, schopnost introgrese se u různých alel liší (Anderson & Hubricht 1938 podle Abbott et al. 2013). Introgrese je mimo genetických faktorů ovlivňována i enviromentálními faktory jako je disperze organismů v prostředí a selekční tlak. Introgrese podmiňuje adaptivní potenciál a zvýšenou reprodukční izolaci mezi populacemi, což vede k selekčnímu zvýhodnění hybridů. Změny genotypu vyvolané homoploidní hybridizací (Rieseberg & Ellstrand 1993) a introgresí (Abbott et al. 2013).se projevují v F1 generaci (Rieseberg & Ellstrand 1993) a především v dalších generacích (Abbott et al. 2013) transgresí, tj. tvorbou extrémních fenotypů, které jsou zdrojem evoluční novosti, na níž může selekce fungovat (Rieseberg & Ellstrand 1993; Abbott et al. 2013).

Projevy genotypu u hybridů

Z morfologického, fyziologického a ekologického hlediska hybridi vykazují širokou mozaiku přechodných znaků, znaků typických pro jeden rodičovský taxon, velmi často ale také vykazují znaky nové spíše než pouze znaky přechodné. Frekvence výskytu nových znaků je pozitivně korelována s rostoucím počtem generací hybridů (Riseberg & Ellstrand 1993; Rieseberg 1995; Mallet 2007). Koherence rodičovských znaků zodpovědných za intermediální charakter hybridů byly potvrzeny pouze u některých populací a výsledky řady studií naznačují, že se jedná spíše o vzácný fenomén (Rieseberg 1995).

Hybridizace je často spjata s produkcí sterilních, a tedy i neživotaschopných

jedinců. Nicméně řada hybridů může být plně fertilních, případně často dochází k obnovení fertility hybridů v následujících generacích (Rieseberg 1995). Obnovení fertility u hybridů potvrzuje i studie Seehausen (2004) udávající, že odvozenější hybridi mají vyšší podíl životaschopného pylu.

Hybridizace může mít i ekologický dopad v podobě pozitivního, neutrálního i negativního vlivu na interakce mezi rostlinami a herbivory či na interakce mezi rostlinami a patogeny, Tyto interakce se mohou měnit v důsledku produkce odlišných chemických substancí v návaznosti na prodělanou hybridizaci. Produkce chemických substancí je navíc vysoce kvantitativně i kvalitativně variabilní i mezi jedinci stejné hybridní generace, přičemž s rostoucím počtem hybridních generací se tato variabilita dále zvyšuje. Mechanismy podmiňující syntézu těchto látek jsou tedy vysoce komplexní (Rieseberg & Ellstrand 1993; Orians 2000).

Změny genotypu jsou také reflektovány častou schopností hybridů kolonizovat volné ekologické niky (Seehausen 2004). Tento potenciál může být v případě nepůvodnosti určitého taxonu na jisté lokalitě spjat až s možnou invazitou, která je akcelerována antropogenní činností (Ellstrand & Schierenbeck 2000).

1.2 Rod Ficaria

1.2.1 Taxonomické zařazení rodu *Ficaria*

Taxonomie rodu *Ficaria* a jemu příbuzných rodů z čeledi Ranunculaceae je již dlouhou dobu předmětem karyologického (např. Pogan & Wcisło 1974; 1981a, 1981b, 1986; Trinajstić 1979; Zonneveld 2015; Drenckhahn et al. 2017), morfologického (např. Veselá 1969; Marchant & Brighton 1974; Tröhler 1976; Taylor &Markham 1978; Trinajstić 1979; Sell 1994; Post et al. 2009; Vazquez 2016; Veldkamp 2015; Drenckhahn 2016) a ekologického (např. Marsden–Jones 1935; Metcalfe 1938; Marchant & Brighton 1974; Nicholson 1983) studia. Jako první ho vyčlenil z rodu *Ranunculus* Ovczinnikov (1937). Později byl tento rod řadou taxonomů opět zařazen do široce pojatého rodu *Ranunculus* na úrovni podrodu (Tamura 1995; Whittemore 1997), popř. sekce (Tutin & Cook 1993).

Tyto klasifikační systémy založené především na vybraných morfologických podobnostech a rozdílech (Tutin 1964; Hörandl et al. 2005) často nevypovídaly nic o fylogenetických vztazích a projevily se existencí široké škály klasifikačních systémů akcelerovaných vysokou fenotypovou variabilitou, intermediálními (Sell 1994), analogickými (Hörandl et al. 2005; Emazde et al. 2010) a homologickými znaky

(Metcalfe 1936).

Pohled na rostlinnou systematiku se radikálně změnil poté, co se začaly využívat molekulární metody umožňující sekvenovat chloroplastové a jaderné markery (např. Johansson 1998). Na základě těchto metod byly sesterské rody *Ficaria* a *Coptidium* vyčleněny z rodu *Ranunculus* sensu stricto jako samostatné rody (Hörandl et al. 2005; Paun et al. 2005; Emadzade et al. 2010, 2011). Rod *Ficaria* se od rodu *Ranunculus* liší i morfologickými znaky: dimorfní charakter kořene, klíčení jednou dělohou, nejčastěji 3 četný kalich a 8 i vícečetná koruna a nažky s dobře vyvinutou sklerenchymatickou vrstvou (Emadzade et al. 2010; Hörandl et al. 2005).

1.2.2 Popis a ekologie rodu *Ficaria*

Rod *Ficaria* (Huds.) L. (čeleď Ranunculaceae) zahrnuje vytrvalé, geofytní byliny, které jsou na svůj rychlý životní cyklus specificky adaptovány. Touto adaptací rozumíme existenci dimorfních kořenů, a to konkrétně bílých, tenkých, vláknitých adventivních kořenů, které se později metamorfují do podoby četných, bělavě až světle hnědě zbarvených, kyjovitě ztlustlých, 5–100 mm dlouhých kořenových hlíz, plnících funkci rezervoáru zásobních látek (Taylor &Markham 1978; Křísa in Hejný & Slavík 1988; Sell 1994) stejně jako pacibulky v paždí listů (Metcalfe 1938).

Lodyhy jsou 3–20 (40) cm dlouhé, na bázi někdy bělavě až nafialověle zbarvené, lysé, větvené, vystoupavé či vzpřímené, někdy kořenující s přisedajícími na bázi blanitě pochvatými, dlouze řapíkatými listy. U diploidních forem listy většinou v horní polovině lodyhy i s nody podléhají silné redukci, rostliny jsou tedy více vzpřímené, ale květní stopky se po odkvětu ohýbají. Naopak polyploidní formy mají většinou prodloužené, poléhavé lodyhy s větším počtem lodyžních listů. Listová růžice je tvořena 2–4 bazálními listy. Listová čepel je celistvá, lysá, robustní, středně až tmavě zelená se světlejšími žilkami, někdy na svrchní straně s morfologicky variabilními malými, tmavými, nebo bělavými antokyanovými skvrnami (Marsden–Jones & Turrill 1952; Marchant & Brighton 1974; Taylor & Markham 1978). Tvar listové čepele je srdčitý až vejčitý, 40–80 mm široký a 40–90 mm dlouhý. Po odkvětu se v paždí listů u některých taxonů vytváří pacibulky, které jsou považovány za důležitý determinační znak (Taylor & Markham 1978; Křísa in Hejný & Slavík 1988; Sell 1994).

Květy o průměru 2–3 cm se vytváří jednotlivě na konci dlouhých květních stopek (Taylor & Markham 1978). Zpravidla jsou složeny z 3, vyjímečně až z 5 (Ludwig 1901) konkávních, zelenavě zbarvených kališních lístků a typicky 8 žlutých korunních lístků, které jsou dvakrát delší než lístky kališní (Janchen 1947;

Andreas 1954; Taylor & Markham 1978). Květy obsahují velké množství tyčinek i plodolistů (5–72), jsou tedy oboupohlavné (Andreas 1954; Taylor & Markham 1978) a slabě proterandrické (Taylor & Markham 1978). Studie Marsden–Jones (1935) zaznamenala výskyt androdioecie u diploidů, gynodioecie u tetraploidů a čistě hermafroditní formy v rámci obou typů (Marsden–Jones 1935; Marsden–Jones & Turrill 1952). Rostliny jsou entomogamní (Marsden–Jones 1935). Souplodím je kulovitý soubor vejcovitých, kýlnatých, pýřitých, u diploidů převážně vyvinutých, zatímco u polyploidů často nevyvinutých nažek (Taylor & Markham 1978; Křísa in Hejný & Slavík 1988; Sell 1994).

U rodu *Ficaria* existuje široká škála reprodukčních systémů. U všech taxonů bez ohledu na stupeň ploidie je vyvinuta schopnost vegetativního rozmnožování rozpadem kořenových hlíz (Marsden–Jones 1935), nicméně podíl sexuální reprodukce se liší v závislosti na ploidii. Zatímco sexuální reprodukce převládá především u diploidů (Marsden–Jones 1935; Andreas 1966), tak u polyploidních taxonů převažuje vegetativní reprodukce prostřednictvím pacibulek v paždí listů (Metcalfe 1939). Tvorba pacibulek často koreluje s výskytem polyploidie (Anders–Gasser 1985; Zonneveld 2015), což zřejmě platí pouze v případě, že se jedná o alopolyploidy, protože u experimentálně vytvořených autotetraploidů pacibulky pozorovány nebyly (Nicholson 1983). Tvorba pacibulek je v souladu s dalším zjištěním, týkajícím se vyšší abundance životaschopných pylových zrn u diploidů než u teraploidů (Metcalfe 1939; Neves 1942; Pogan & Wcislo 1981a). Kromě toho květy rostlin s pacibulkami v paždí listů i po opylení životaschopným pylem podléhají častěji degradaci zárodečného vaku i vajíčka (Metcalfe 1939; Pogan & Wcislo 1981a). Nepříliš metodicky spolehlivě provedené opylovací pokusy naznačují, že rostliny s absencí pacibulek v paždí listů jsou autogamní, alogamní i apomiktické (Metcalfe 1939). Nicméně množství vyprodukovaných životaschopných embryí se mezi jednotlivými způsoby reprodukce značně liší, a navíc po prozkoumání životaschopnosti semen nebyly provedeny experimenty testující klíčivost těchto semen. U rostlin s pacibulkami v paždí listů opylovací pokusy vedou k závěru, že tyto rostliny mají schopnost autogamie či apomixie a alogamie, ale zároveň se zde vytváří velké množství abnormálně vyvinutých zárodečných vaků (Metcalfe 1939). Z toho tedy vyplývá, že polyploidní taxony vytvářejí plošně rozsáhlejší, geneticky uniformní porosty (Marchant & Brighton 1974; Taylor & Markham 1978; Gadella 1977).

Taxony rodu *Ficaria* mají základní chromosomové číslo x = 8. V rámci rodu

existuje široká škála ploidií (od 2x po 6x) (např. Sell 1994; Soó & Borhidi 1964; Anders–Gasser 1985; Zonneveld 2015; Drenckhahn et al. 2017). Nejvíce zastoupeny, a tedy i plošně nejvíce rozšířeny jsou tetraploidní populace, následované diploidními populacemi, nejméně zastoupeny jsou pak liché ploidní stupně, tedy triploidi a pentaploidi (Pogan & Wcisło 1974; Sell 1994), jejichž původ je dosud nejasný (např. Sell 1994; Drenckhahn et al. 2017).

Diploidní jedinci se navíc vyznačují možnou přítomností 1–7(8) B chromosomů (Pogan & Wcisło 1981b; Sell 1994), tj. fragmentů vzniklých reduplikací segmentů normálních chromosomů (Larter 1932; Martis 2012). Frekvence jejich zastoupení se liší v závislosti na místě výskytu dané populace a jejich maximální možný počet je zřejmě taxonomicky podmíněný znak (Pogan & Wcisło 1981b; Sell 1994). O jejich vlivu na svého nositele se vedou spory. Dle některých studií byl zjištěn jejich neutrální vliv (Gill et al. 1972; Marchant & Brighton 1974). Pozdější studie ale naznačují pozitivní vliv v podobě lepších disperzních vlastností v důsledku vyššího rozpadu kořenových hlíz a posunu fenologie (Pogan & Wcisło 1981b). Nicméně výsledky některých studií naznačují i negativní vliv v případě počtu 3 (Marchant & Brighton 1974) a 8 (Pogan & Wcislo 1981b) B chromozomů na životaschopnost pylových zrn. Diploidní jedinci s B chromosomy byli poprvé zdokumentováni na území Velké Británie, kde byly B chromosomy v somatických buňkách přítomny v počtu 2n = 16+2, 2n = 16+ 4, 2n = 16+5 (Larter 1932; Marsden–Jones &Turrill 1952).

Zástupci rodu *Ficaria* obecně preferují vlhké půdy (Taylor & Markham 1978), některé studie uvádí ekologickou diferenciaci jednotlivých ploidií (Taylor & Markham 1978; Popelka nepublikováno). Zdá se, že diploidní taxony preferují nedisturbované, mírně zastíněné nebo otevřené plochy, zatímco tetraploidi mají tendenci se vyskytovat spíše ve stínu, na disturbovaných stanovištích. Preference nezastíněných stanovišť diploidními cytotypy rodu *Ficaria* by mohla být způsobena jejich vazbou na opylovače, jejichž abundance je na světle vyšší (Mardsen–Jones 1935). Preference nezastíněných stanovišť diploidními formami je v rozporu s dalšími studiemi neudávajícími ekologickou diferenciaci mezi studovanými cytotypy (např. Marchant & Brighton 1974; Nicholson 1983). Zdá se tedy, že distribuce obou forem je především determinována souborem faktorů jako jsou vlhkostní a teplotní podmínky spíše než světelný režim (Gill et al. 1972; Post et al. 2009).

1.3 Zástupci rodu *Ficaria*

Vzhledem k vysoké plastičnosti morfologických znaků jednotlivých rostlin, nacházíme

v literatuře velké množství synonym a případných nepřesností (Vázquez 2016). O zhodnocení morfologických znaků pro taxonomickou klasifikaci se pokusil Post et al. (2009) na herbářových položkách z USA, výsledky analýz ukazují možné prolínání znaků zkoumaných taxonů, ale i přesto studie Post et al. (2009) akceptuje vyčlenění 5 poddruhů dle Sell (1994). Akceptace konceptu Sell (1994) dle studie Post et al. (2009) by mohla být artefaktem práce s herbářovými položkami. Případy prolínání znaků mezi jednotlivými taxony lze chápat jako důsledek zachované vysoké homologie mezi studovanými taxony (Post et al. 2009). Proto následující charakteristika jednotlivých zástupců rodu *Ficaria* vychází ze studie Veldkamp (2015), která na základě morfologie a geografické distribuce navrhuje prozatím vyčlenit 7 poddruhů v rámci široce pojatého druhu *Ficaria verna*.

1.3.1 *Ficaria verna* Huds. subsp. *verna*

Tento taxon vytváří malé kulovité, tupě zaoblené pacibulky v paždí listů vyrůstajících na vícečlánkovaných, kořenujících, tenkých lodyhách. Listová růžice se nevytváří. Listy vyrůstají až na 15 cm dlouhých řapících, tvar listové čepele je srdčitě vejčitý nebo okrouhle ledvinitý, stejně dlouhý jako široký (až 4 x 4 cm). Z jedné lodyhy obvykle vyrůstá jedna olistěná květní stopka s listy zmenšujícími se směrem ke květu, tvořenému úzkými, vzájemně se nepřekrývajícími korunními lístky, květ má průměr 1,3–3 cm. Souplodím je 10–15 kýlnatých, na povrchu řídce jemně chlupatých a často zakrnělých či chybějících nažek (Sell 1994; Křísa in Hejný & Slavík 1988; Kubát et al. 2002; Veldkamp 2015; Vazquez 2016), což je dokladem téměř převažujícího vegetativního rozmnožování prostřednictvím pacibulek v paždí listů a rozpadem kořenových hlíz (Marsden–Jones 1935; Pogan & Wcislo 1981a; Křísa in Hejný & Slavík 1988; Kubát et al. 2002). Tento trend je patrný především v lesích, kde se vytvářejí vlivem malých disturbancí rozsáhlé geneticky uniformní porosty, zatímco na loukách vlivem disturbancí podporujících distribuci hlíz je genetická variabilita vyšší (Reisch & Scheitler 2008).

Jedná se o polyploidní taxon, majoritně se vyskytující jako tetraploid (2n = 4x = 32) (Sell 1994). Dle Drenckhahn et al. (2017) se na území Evropy vyskytují dvě geograficky separované linie tetraploidního cytotypu, tj. západní a východní. Východní linie se překrývá s areálem rozšíření *F. verna* subsp. *calthifolia*, západní linie se překrývá s areálem rozšíření taxonů *F. verna* subsp. *fetilis* a *F. verna* subsp. *calthifolia*. V místě jejich kontaktu pak vzniká hybridní zóna. Na základě této geografické distribuce v kombinaci s daty velikostí genomů

jednotlivých taxonů Drenckhahn et al. (2017) usuzuje na autotetraploidní původ východních populací *F. verna* subsp. *verna* s *F. verna* subsp. *calthifolia* jako rodičovským taxonem a zřejmě autotetraploidní původ západních populací *F. verna* subsp. *verna* s rodičovským taxonem *F. verna* subsp. *fetilis*. Nicméně patrně nelze vyloučit ani alotetraploidní původ západní linie hybridizací mezi *F. verna* subsp. *calthifolia* a *F. verna* subsp. *fetilis*. Dle Sell (1994) navíc do tohoto taxonu náleží i triploidní cytotyp (2n = 3x = 24) a v Evropě Anders–Gasser (1985) zaznamenal i pentaploidní cytotypy (2n = 5x = 40), dle autorova popisu pravděpodobně náležející k tomuto taxonu. Drenckhahn et al. (2017) ale ve svých 77 vzorcích triploidní a pentaploidní jedince nezaznamenal. Původ a distribuce těchto 3 ploidií tedy vyžaduje další studium.

Charakteristická stanoviště zahrnují vlhké listnaté lesy, suťové lesy, vlhké louky a křoviny (Křísa in Hejný & Slavík 1988; Kubát et al. 2002). Taxon je široce rozšířen od západní Evropy po střední Asii a druhotně zavlečen do Kanady, USA (Post et al. 2009; Veldkamp 2015) a Nového Zélandu (Veldkamp 2015; Zonneveld 2015). Rozšíření ve Francii, Rusku a Střední Asii není dostatečně prostudované (Veldkamp 2015).

1.3.2 *Ficaria verna Huds. subsp. calthifolia (Rchb.) Rchb. ex Nyman*

Dalším taxonem, který náleží do rodu *Ficaria* je *Ficaria verna* Huds. *subsp. calthifolia*. Pro morfologii tohoto taxonu je typická absence pacibulek v paždí listů. Několik nekořenujících, nevětvených, krátkých lodyh, na nichž se ve vzdálenosti několika centimetrů od báze vytváří růžice. Čepel u všech listů je téměř stejně velká (4 cm dlouhá i široká), vejčitá, na bázi ztlustlá se srdčitým výřezem u řapíku. Květní stopky jsou krátké, neolistěné, po odkvětu obloukovitě se zahýbající a za tvorby plodů se prodlužující, zakončené malým květem o průměru 2,3–5 cm (typicky 4 cm) tvořeném vzájemně se překrývajícími korunními lístky. Souplodím 12–25 dobře vyvinutých, kýlnatých, na povrchu hustě chlupatých nažek o šířce od 3,5 mm a délce do 2,2 mm, zakončených krátkým (0,1 mm dlouhým) zobánkem (Sell 1994, Křísa in Hejný & Slavík 1988; Kubát 2002; Banfi et al. 2011; Veldkamp 2015; Vazquez 2016), což je v souladu s produkcí vysoce životaschopných pylových zrn (Pogan & Wcislo 1981a).

Dle převážné většiny studií se ukazuje, že by se mělo jednat o diploidní cytotyp (2n = 2x = 16) (Pogan & Wcisło 1981b; Sell 1994; Veldkamp 2015) s možnou přítomností od 1 do 8 B chromosomů (Pogan & Wcisło 1981b).

Drenckhahn et al. (2016, 2017) navrhuje do *F. verna* subsp. *calthifolia* přiřadit i triploidní cytotyp nalezený na území Německa, lišící se dle Drenckhahn (2016) také morfologicky. Nicméně častý výskyt triploidních jedinců v sympatrických populacích s tetraploidní *F. verna* subsp. *verna* a jejich intermediální charakter naznačují spíše jejich hybridní původ (Pogan & Wcisło 1974). Kromě toho výsledky starší studie Soó & Borhidi (1964) naznačují výskyt dalších dvou možných stupňů ploidie, a to tetraploidní (2n = 4x = 32) a hexaploidní (2n = 6x = 48), nicméně správná determinace těchto rostlin je nejistá. Na základě velikosti genomu navrhli Zonneveld (2015) a Drenckhahn et al. (2017) přiřadit některé 4x rostliny s pacibulkami do tohoto taxonu, čímž by došlo k radikální změně dosavadní taxonomické koncepce (celkem měřeno 9 jedinců).

Vyskytuje se zejména na loukách, sušších stráních a v světlých lesích. Tento taxon je rozšířen v oblastech od střední po východní až jihovýchodní Evropu (Veldkamp 2015), (jižní část Ruska, Ukrajina), na Zakavkazku (Veldkamp 2015; Sell 1994), druhotně pak byl zavlečen do USA a na Nový Zéland (Post et al. 2009).

1.3.3 *Ficaria verna* Huds. subsp. *chrysocephala* (P.D.Sell) Stace

Mezi taxony rodu *Ficaria* patří i *Ficaria verna* Huds. subsp. *chrysocephala*. Typickými morfologickými znaky tohoto taxonu jsou chybějící pacibulky v paždí listů. Robustní, vzpřímené a až téměř 40 cm dlouhé lodyhy. Čepel listů delší (9 cm) než široká (8 cm), vyrůstající z řapíku dlouhého až 21 cm. Velké květy o průměru 4–6 cm, tvořené těsně k sobě přiléhajícími až téměř se překrývajícími korunními lístky. Nažky četně, velmi krátce chlupaté o šířce od 5 mm a délce do 3,5 mm (Sell 1994; Banfi et al. 2011; Veldkamp 2015).

Dle Sell (1994) a Zonneveld (2015) je taxon považován za tetraploida (2n = 4x = 32), odlišujícího se od ostatních tetraploidních forem absencí pacibulek, která je spojena s vyšším podílem životaschopného pylu (Sell 1994).

Tento taxon je přirozeně rozšířen v západním Mediteránu (v Řecku včetně Kréty) (Sell 1994; Veldkamp 2015), druhotně byl pěstován v USA, kde následně i zplaněl (Post et al. 2009). Nejistý výskyt tohoto druhu byl zaznamenán i v Portugalsku, Španělsku, Bulharsku, Srbsku, Lotyšsku a Irsku. Rostliny v těchto zemích měly podobnou velikost genomu, ale o jejich příslušnosti do tohoto druhu se vedou spory (Zonneveld 2015).

1.3.4 *Ficaria verna* Huds. subsp. *fertilis* (A.R.Clapham ex Laegaard) Stace

Tento taxon byl ze západního mediteránu popsán pod jménem *Ficaria verna* Huds. subsp. *grandiflora* Hayek, což komplikuje nomenklatoriku, používající stejné jméno odlišného autora k označení odlišného taxonu. Rostliny tohoto taxonu neprodukují pacibulky v paždí listů. Lodyhy jsou vzpřímené i podléhavé, dlouhé s téměř stejně dlouhými jako širokými (5 cm x 5 cm), na lodyze početnými listy s až 15 cm dlouhými řapíky. Květy mají často velikost o průměru 2–4,5 cm a jsou složeny z navzájem k sobě přiléhajících korunních lístků. Nažky bývají dobře vyvinuty, řídce až hustě, krátce chlupaté, o velikosti 2,5–3,5 mm na šířku a 1,7–2,2 mm na délku (Sell 1994; Veldkamp 2015; Vázquez 2016), což je v souladu s vysokou produkcí životaschopných pylových zrn (Pogan & Wcislo 1981a)

Dle Sell (1994), Zonneveld (2015) a Drenckhahn et al. (2017) se jedná o diploidní cytotyp (2n = 2x = 16), jehož karyotyp je spjat s možnou přítomností od 1 do 7 B chromozomů. Do tohoto taxonu se řadí i rostliny s triploidním cytotypem (2n = 3x = 24) (Sell 1994), o jejichž původu se vedou spory. Studie Mardsen–Jones & Turrill (1952) a Gill et al. (1972) naznačují hybridní původ triploidů *F. verna* subsp. *fertilis* na území Velké Británie s *F. verna* subsp. *fertilis* a *F. verna* subsp. *verna* jako rodičovskými taxony.

Svým výskytem je taxon lokalizován v oblasti západní a jihozápadní Evropy (Sell 1994), a to v Dánsku (Jutsku), Belgii, Velké Británii, Irsku, Portugalsku, Španělsku, Itálii (včetně Elby, Sardinie a roztroušeně na Sicílii), Maltě. Rozšíření ve Francii vyžaduje další studium (Veldkamp 2015).

1.3.5 *Ficaria verna* Huds. subsp. *ficariiformis* (F.W.Schultz) Soó

Ze zavedených synonym se nejběžněji užívá jméno *Ficaria verna* Huds. subsp. *grandiflora* Robert (Veldkamp 2015). *F. verna* Huds. subsp. *ficariiformis* se vyznačuje přítomností elipsoidních pacibulek v paždí listů. Robustní, ale zároveň vyklenutou, poléhavou lodyhou s listy majícími listovou čepel delší než širokou (9–7 cm x 8–7 cm) a vyrůstejícími na až 28 cm dlouhých řapících. Květy o průměru 3,5–5,5 cm tvořené těsně k sobě přiléhajícími až se překrývajícími korunními lístky. Dobře vyvinuté nažky pokryté četnými, velmi krátkými, světlými chlupy, velikost nažek na šířku je 4-5 mm a na délku 2,5–3,5 mm (Sell 1994; Veldkamp 2015; Vazquez 2016). Podle Sell (1994) se jedná o tetraploidní taxon (2n = 2x = 32).

Tento taxon bývá nalézán na organickou hmotu bohatých, podmáčených půdách v listnatých lesích kolem řek a též na půdách s písčitou texturou (Vazquéz 2016), což je

podporováno studiemi Post et al. (2009) naznačujícími, že *F.* verna subsp. *ficariiformis* je více tolerantní vůči xerickým podmínkám prostředí oproti jiným zástupcům rodu (Post et al. 2009). Taxon je široce rozšířen v oblasti mediteránu (konkrétně na území Maroka, Alžírska, Tuniska, Libye, Portugalska, Španělska, Itálie, Malty, východního pobřeží Jaderského moře, jihovýchodního Balkánu a okolí Egejského moře, Kréty, Turecka, Kypru, Západní Sýrie, Libanonu a Severní Izraele, rozšíření v jižní Francii není dostatečně známé) (Veldkamp 2015). Druhotně byl zavlečen do Velké Británie (Stace 2010), do USA (Post et al. 2009) a na Nový Zéland (Veldkamp 2015).

1.3.6 *Ficaria verna* Huds. subsp. *ficarioides* (Bory&Chaub.) Veldk.

Ficaria verna Huds. subsp. *ficarioides* se vyznačuje vzpřímenými lodyhami. Čepelemi listů, jež jsou přibližně stejně dlouhé jako široké (na šířku mají 1,5–4 cm a na délku 1,2–4,5 cm). Květy o průměru 1,7–2,3 cm, jsou tvořené vzájemně se nepřekrývajícími korunními lístky. Souplodí tvoří lysé nažky (Veldkamp 2015). Taxon se podle Zonneveld (2015) vyskytuje ve dvou cytotypech, a to diploidním cytotypu (2n = 2x = 32) charakterizovaném absencí pacibulek v paždí listů (měřeno na 5 rostlinách) a tetraploidním cytotypu (2n = 2x = 32) produkujícím pacibulky v paždí listů, nicméně v tomto případě se poznatek zakládá pouze na 1 změřené rostlině, která navíc pochází z Portugalska (Zonneveld 2015), kde se vyskytuje i pacibulkatý taxon *F. verna* subsp. *ficariiformis* (Veldkamp 2015).

Taxon je rozšířen v horských oblastech Řecka (zejména na ostrově Karpathos, Kasos), v horských oblastech jižního Turecka (pohoří Anti-Taurus, Cilicia) a na Kavkaze (Gruzie, Arménie, Ázerbájdžán), ale zde se pravděpodobně jedná o *F. verna* subsp. *kochii* (Veldkamp 2015)

1.3.7 *Ficaria verna* Huds. subsp. *kochii* (Ledeb.) Veldk.

Tento taxon je nejznámější s přívlastkem “kochii“ (Veldkamp 2015). Pro tento druh je typická absence pacibulek v paždí listů. Lodyhy jsou krátké. Listová čepel je kratší (1,5–3 cm) než široká (2–4 cm). Květy o průměru 2,2–4,5 cm jsou složeny z těsně k sobě přiléhajících až se vzájemně překrývajících korunních lístků. Souplodím je soubor téměř 2 mm dlouhých a lysých nažek (Veldkamp 2015). Podle Zonneveld (2015) by se mělo jednat o tetraploida (2n = 4x = 32), ale vzhledem k nepříliš spolehlivě velkému počtu rostlin měřených na velikost genomu (1) je nutné provést další studie.

Taxon je nalézán v horských oblastech Kavkazu a v horských oblastech na území od jižního Turecka (v Anatolii) po Irák a Irán (Veldkamp 2015).

MATERIÁL A METODY

1.4 Rostlinný materiál

V této bakalářské práci bylo celkově analyzováno 212 rostlin z 63 populací na území Evropy (podrobný popis lokalit (Příloha 1). Z tohoto počtu byla u 183 rostlin z 59 populací stanovena velikost genomu, tj. pro *F. verna* subsp *calthifolia* u 36 rostlin z 8 populací, pro *F. verna* subsp. *fertilis* u 9 rostlin z 5 populací, pro *F. verna* subsp. *ficaroides* u 2 rostlin z 1 populace, pro *F. verna* subsp. *kochii* u 1 rostlina z 1 populace, pro *F. verna* subsp. *chrysocephala* u 3 rostlin z 1 populace, pro *F. verna* subsp. *verna* 109 rostlin z 36 populací, pro *F. verna* subsp. *ficariirormis* 9 rostlin z 3 populací a pro hybrida *F. verna* subsp *calthifolia* x *F. verna* subsp. *verna* u 10 rostlin z 3 populací. Z celkového počtu byla u 166 rostlin z 53 populací stanovena délka průduchů, tj. pro *F. verna* subsp *calthifolia* u 27 rostlin z 12 populací, pro *F. verna* subsp. *fertilis* u 20 rostlin z 6 populací, pro *F. verna* subsp. *verna* 102 rostlin z 37 populací, pro *F. verna* subsp. *ficariirormis* 8 rostlin z 2 populací a pro hybrida *F. verna* subsp *calthifolia* x *F. verna* subsp. *verna* u 9 rostlin z 3 populací. Velikost genomu i délka průduchů byla současně stanovena u 133 rostlin z 49 populací, tj. pro *F. verna* subsp *calthifolia* u 23 rostlin z 11 populací, pro *F. verna* subsp. *fertilis* u 8 rostlin z 4 populací, pro *F. verna* subsp. *verna* 93 rostlin z 36 populací, pro *F. verna* subsp. *ficariirormis* 7 rostlin z 2 populací a pro hybrida *F. verna* subsp *calthifolia* x *F. verna* subsp. *verna* u 9 rostlin z 3 populací

Každá rostlina byla na základě dostupných klíčů přiřazena ke konkrétnímu taxonu. Všechny analyzované vzorky jsou kultivovány na experimentálním pozemku Katedry botaniky Přf UP v Olomouci. Délky průduchů byly měřeny na vzorcích, které byly kultivovány ve standartních podmínkách nejméně jeden rok.

1.5 Stanovení absolutní velikosti genomu a DNA ploidní úrovně

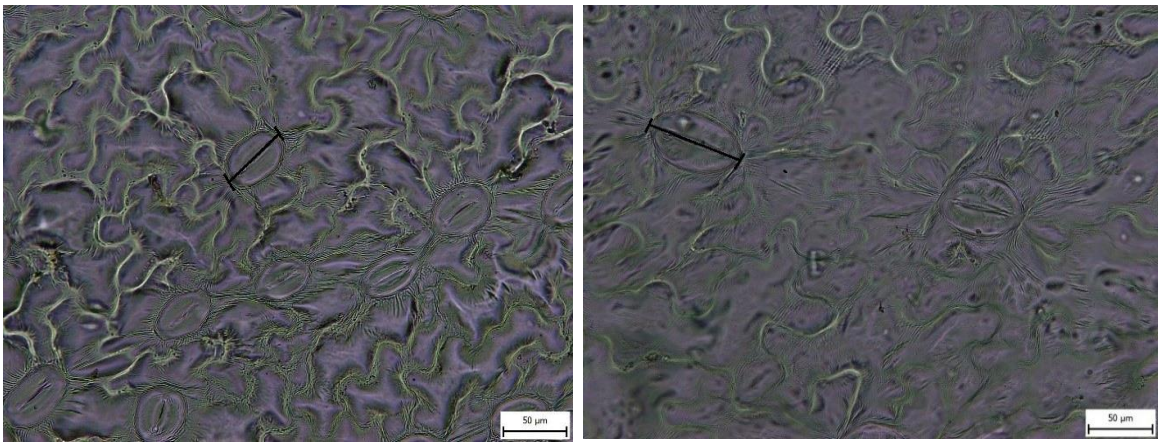
Absolutní velikost genomu byla odhadována pomocí průtokového cytometru za použití metody vnitřního standardu se známým obsahem DNA (Doležel et al. 1998, 2007). Vlastní měření bylo provedeno na přístroji BD Accuri C6 (BD Biosciences, San Jose) s modrým laserem BD Accuri™ C6 Blue Laser (488 nm, 20 mW). Jako primární standard se známým obsahem DNA bylo pro měření triploidních, tetraploidních a pentaploidních jedinců použito žito (*Secale cereale* L.‘ Daňkovské’ 2C = 16,19 pg) (Doležel et al. 1998, 2007). Pro měření diploidních jedinců byl použit bob (*Vicia faba* L.‘ Inovec’). Velikost genomu (2C DNA) bobu (*Vicia faba*) byla stanovena z referenční hodnoty 2C DNA žita (*Secale cereale*) na 26,03 pg.

Příprava vzorků probíhala podle standardního protokolu Doležel et al. (2007). Část čerstvého listu vzorku o ploše 0,5 cm^2 byla společně s přibližně stejně velkým množstvím standardu na Petriho misce nasekána ostrou žiletkou v 550 µl LB01 pufru o pH 7,5. Vzniklá suspenze byla přefiltrována přes nylonový filtr do kyvety. Poté bylo přidáno 30 µl RNA-sy (50 µg-ml^{-1}) čímž byla odstraněna RNA a nakonec byl vzorek obarven 30 µl fluorochromu PI (propidium jodid, 50 µg-ml^{-1}) a krátce vortexován. U každého vzorku bylo vždy změřeno 5000 jader. Odhadovaná velikost genomu vzorku byla stanovena na lineární stupnici grafického výstupu na základě poměrů vzdáleností vrcholů (peaků) standardu a vzorku v G1 fázi. Odlehlá měření, tj. s rozdílem v hodnotě nejvyššího a nejnižšího měření v rámci jedné rostliny vyšším než 2 % nebo s variačním koeficientem (CV) vyšším než 4 % byla z dalších analýz vyloučena a dané měření bylo opakováno. Výsledná velikost genomu dané rostliny je tedy průměrem 3 měření z různých listů téže rostliny.

Ploidie jednotlivých rostlin byla odvozena z velikosti genomu. Odhad příslušné ploidie vycházel z velikostí genomů rostlin, pro které byly už dříve stanoveny počty chromozomů (Šiková 2014, Jandová nepublikováno) (Příloha 4).

1.6 Stanovení délky průduchů

Délka průduchů byla stanovena pomocí mikroskopu za použití metody trvalých otiskových preparátů ze spodní strany listů (Pazourek 1963). Vlastní měření bylo provedeno v programu ImageJ (Rasband, W.S., ImageJ, U. S. National Institutes of



Obrázek 1: Příklad grafického výstupu z mikroskopu Olympus BX60, úsečka demonstruje způsob stanovení délky průduchů, vlevo *F. verna* subsp. *calthifolia*, vpravo *F. verna* subsp. *verna*

Health, Bethesda, Maryland, USA, https://imagej.nih.gov/ij/, 1997-2016.).

Příprava preparátů probíhala podle standardního postupu (Pazourek 1963). Na spodní stranu čepele tří náhodně vybraných přízemních listů byla nanesena tenká vrstva bezbarvého laku, která byla pomocí izolepy strhnuta a přilepena na podložní sklo. Odběr listů probíhal na konci vegetační sezony v době, kdy byl růst rostlin ukončen. Délka průduchů (Obr. 1) byla stanovena ze snímků pořízených na přístroji Olympus BX60 (Olympus Optical Co. Europa GmbH) pomocí softwaru Quick PHOTO CAMERA 3. Výsledná délka průduchů dané rostliny je průměrem 20 měření na list, tedy celkem 60 měření na rostlinu.

1.7 Statistické zpracování dat

Získaná data byla vyhodnocena v programu NCSS 9 (NCSS 9 Statistical Software (2013). NCSS, LLC. Kaysville, Utah, USA, ncss.com/software/ncss). Do statistických analýz byly zahrnuty pouze taxony s dostatečným množstvím získaných dat. Rozdíly v délce průduchů mezi jednotlivými taxony byly testovány za použití jednocestné ANOVy a mnohonásobného porovnávání za použití Tukey–Kramerova testu. Jako promněnné byly použity průměrné hodnoty 3 měření monoploidních velikostí genomu na rostlinu a průměrné hodnoty 3 vzájemně nezávislých průměrů 20 měření délek průduchů na list (Příloha 2, 3). Vztah mezi velikostí genomu jednotlivých taxonů a zeměpisnou délkou nebo šířkou a vztah mezi délkou průduchů a monoploidní velikostí genomu, podle které byly jednotlivé taxony klasifikovány byl popsán za použití Pearsonova lineárního koeficientu. Mapy rozložení průměrných hodnot monoploidních velikostí genomu pro populaci studovaných taxonů byly vytvořeny v programu Qgis (QGIS Development Team (2018). QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. http://qgis.osgeo.org).

VÝSLEDKY

1.8 Absolutní velikost genomu a DNA ploidní úroveň

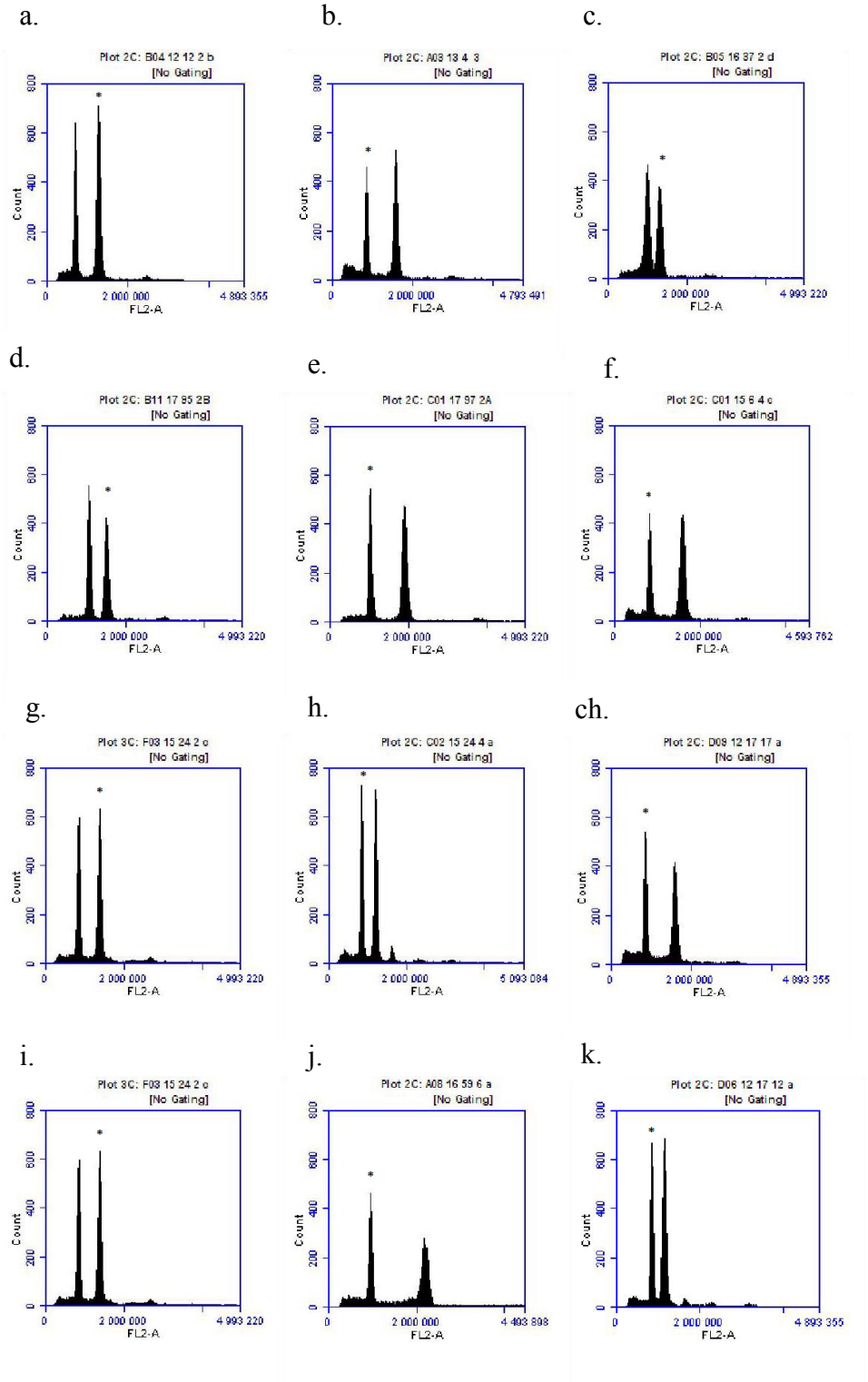
Velikosti genomu identifikují geneticky vymezené, dle morfologických a geografických přístupů na území Evropy rozlišované taxony. Velikost genomu *F. verna* subsp. *chrysocephala* je blízká hodnotě velikosti genomu tetraploidního cytotypu morfologicky přiřazeného k *F. verna* subsp. *calthifolia*. Velikost genomu tetraploidního cytotypu *F. verna* subsp. *ficariiformis* je přibližně stejná jako velikost genomu *F. verna* subsp. *verna.* Velikost genomu triploidních cytotypů se liší v závislosti na taxonu, k němuž byly triploidní cytotypy přiřazeny. Intrataxonomická variabilita absolutních (2C DNA) i monoploidních (1Cx DNA) velikostí genomu studovaných taxonů se zvyšuje s rostoucí ploidií, u *F. verna* subsp. *verna* je intrataxonomická variabilita 2C DNA navíc akcelerována přítomností diploidního a triploidního cytotypu (Tab. 1). Jedinci, u kterých byly už dříve stanoveny počty chromosomů metodou roztlakových preparátů (Šiková 2014; Jandová nepublikováno) (Příloha 4), byly v případě různých jedinců ze dvou 2 populací měřených v práci Šiková (2014) a v případě dvou jedinců Jandová (nepublikováno) přeměřeny na velikost genomu rovněž v této práci. Na základě souladu velikostí genomu (2C DNA) s v pracích (Šiková 2014, Jandová nepublikováno) uvedenými počty chromosomů a ploidiemi, tak byly u v této práci studovaných taxonů odhadnuty celkem čtyři ploidní úrovně (diploidní, triploidní, tetraploidní a pentaploidní). Přítomnost pacibulek není vázána na ploidii studovaného taxonu (Tab. 1). Odhadovaná velikost genomu studovaných taxonů se lišila v závislosti na poměrech vzdáleností vrcholů (peaků) standardu a vzorku v G1 fázi (Obr. 2). Monoploidní velikost genomu diploidního cytotypu *F. verna* subsp. *calthifolia* byla průkazně negativně korelována s zeměpisnou šířkou ($r = -0.836$, $n = 36$, $p<0.001$) (Obr. 3) a pozitivně průkazně korelována zeměpisnou délkou ($r = 0.500$, $n = 36$, $p<0.001$) (Obr. 4). Průměrná monoploidní velikost genomu populací diploidního i tetraploidního cytotypu *F. verna* subsp. *calthifolia* tedy vykazovala vzestupný, jednosměrný, lineární gradient monoploidních velikostí genomu ve směru ze severu na jih (Obr. 6). Monoploidní velikost genomu *F. verna* subsp. *verna* nebyla průkazně korelována se zeměpisnou šířkou ($r = 0{,}179$, $n = 103$, $p = 0.069$) ale byla průkazně negativně korelována se zeměpisnou délkou ($r = 0.848$, $n = 103$, $p = 0.001$) (Obr. 5). Průměrná monoploidní velikost genomu populací taxonů s pacibulkami *F. verna* subsp. *verna* s výskytem diploidních, triploidních a tetraploidních cytotypů a *F. verna* subsp.

ficariiformis s výskytem tetraploidních a pentaploidních cytotypů tedy vykazovala 3 vzestupné lineární gradienty ve směru z východu na západ (Obr. 7).

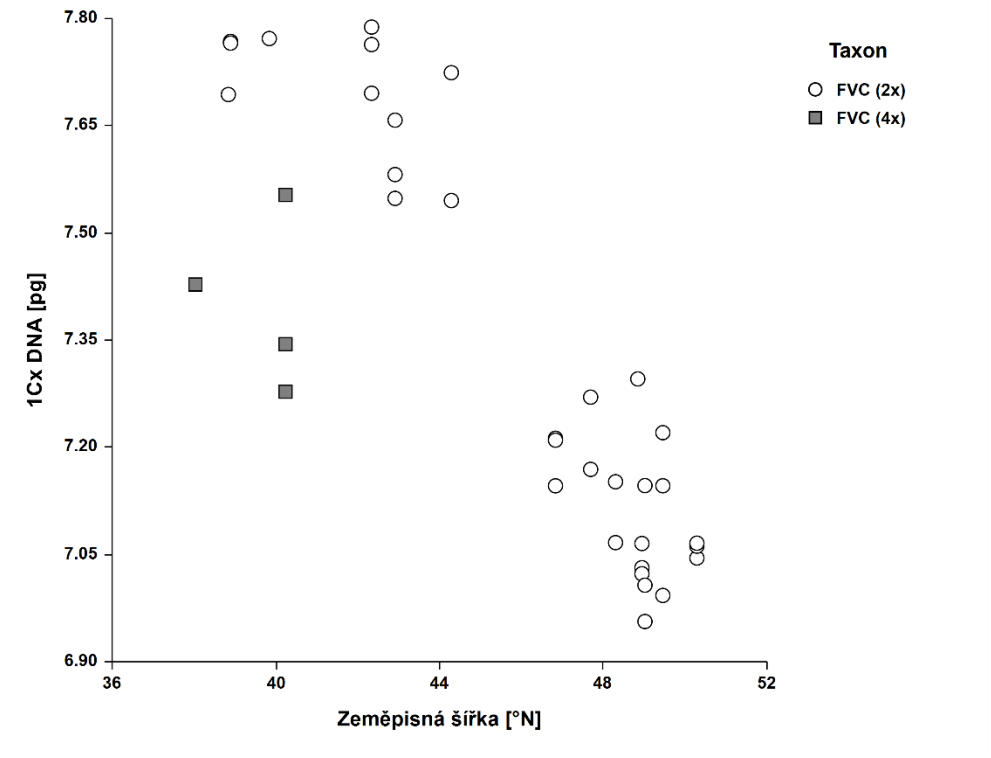
Tabulka 1: Zjištěné hodnoty absolutní velikosti genomu a DNA ploidní úrovně.

taxon	přítomnost pacibulek	ploidie	počet populací	počet jedinců	2C DNA [pg] průměr	±SD	minimum	maximum	1Cx DNA [pg] průměr	±SD	minimum	maximum
F. verna subsp. *calthifolia*	NE	2x	13	32	14,70	0,598	13,9	15,6	7,33	0,299	7,0	7,8
F. verna subsp. *calthifolia*	NE	4x	2	4	29,60	0,475	29,1	30,2	7,40	0,119	7,3	7,6
F. verna subsp *fertilis*	NE	2x	4	9	19,56	0,412	19,0	20,4	9,78	0,206	9,5	10,2
F. verna subsp. *ficaroides*	NE	2x	1	2	18,20	0,001	18,2	18,2	9,08	0,000	9,1	9,1
F. verna subsp. *chrysocephalla*	NE	4x	1	3	30,28	0,232	30,1	30,5	7,57	0,058	7,5	7,6
F. verna subsp. *kochii*	NE	?	1	1	27,30	–	–	–	?	–	–	–
F. verna subsp. *verna*	ANO	2x	2	2	15,80	0,025	15,7	15,8	7,89	0,013	7,9	7,9
F. verna subsp. *verna*	ANO	3x	2	8	24,40	1,022	23,3	25,4	8,12	0,341	7,8	8,5
F. verna subsp. *verna*	ANO	4x	36	81	31,32	1,635	28,6	35,5	7,83	0,409	7,2	8,9
F. verna subsp. *ficariiformis*	ANO	4x	3	8	31,62	2,255	29,5	34,6	7,90	0,564	7,4	8,7
F. verna subsp. *ficariiformis*	ANO	5x	1	1	37,20	–	–	–	7,44	–	–	–
F. verna subsp. *calthifolia* a *F. verna* subsp. *verna*	ANO	3x	3	10	21,82	0,692	20,5	22,8	7,27	0,231	6,8	7,6

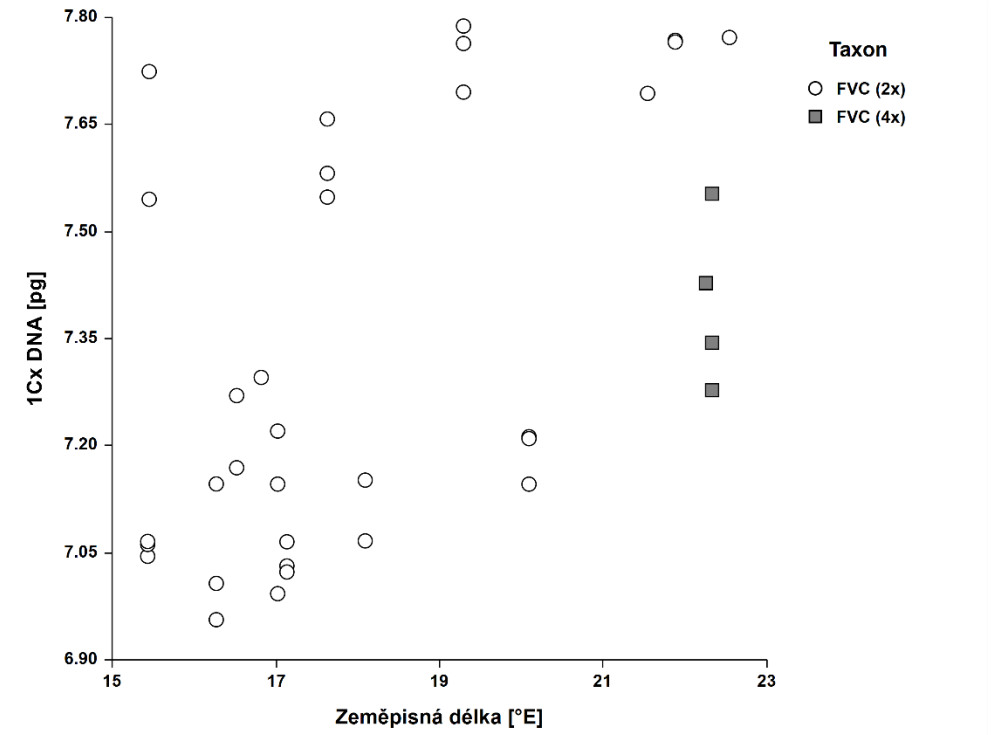
2C DNA (absolutní velikost genomu)
1Cx DNA (monoploidní velikost genomu)



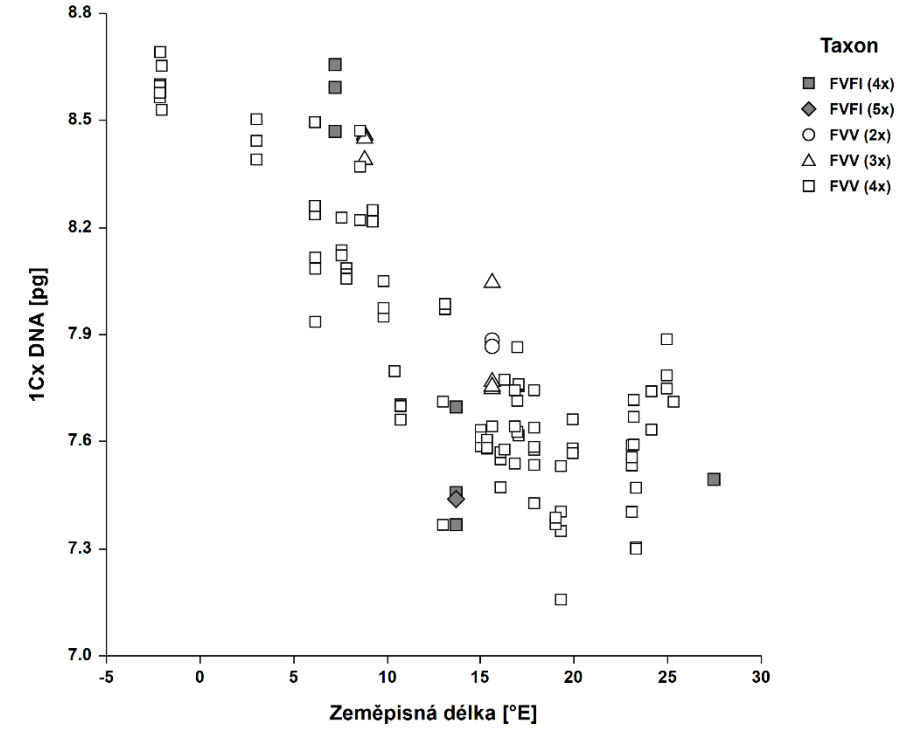
Obrázek 2::Příklady grafických výstupů z průtokového cytometru BD Accuri C6. * označuje píky vnitřních standardů, **a.** diploid *F. verna* subsp. *calthifolia* s *Vicia faba*, **b.** tetraploid *F. verna* subsp. *calthifolia* s *Vicia faba,* **c.** diploid *F. verna* subsp. *fertilis* s *Vicia faba*, **d.** diploid *F. verna* subsp. *ficaroides* s *Vicia faba*, **e.** tetraploid *F. verna* subsp. *chrysocephala* s *Secale cereale*, **f.** tetraploid *F. verna* subsp. *kochii* s *Secale cereale*, **g.** diploid *F. verna* subsp. *verna* s *Vicia faba*, **h.** triploid *F. verna* subsp. *verna* s *Secale cereale*, **ch.** tetraploid *F. verna* subsp. *verna* s *Secale cereale*, **i.** tetraploid *F. verna* subsp. *ficariiformis* s *Secale cereale*, **j.** pentaploid *F. verna* subsp. *ficariiformis* s *Secale cereale*, **k.** triploidní hybrid *F. verna* subsp. *calthifolia* a *F. verna* subsp. *verna* s *Secale cereale*



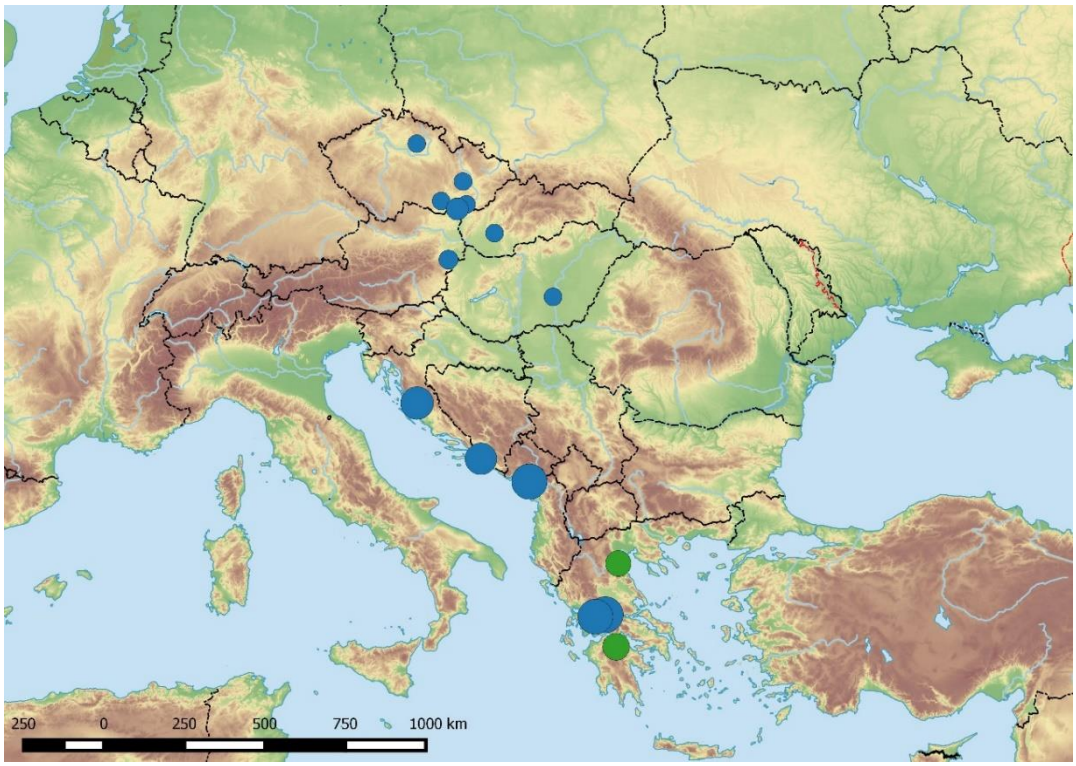
Obrázek 3: Korelace mezi monoploidní velikostí genomu jedinců *F. verna* subsp. *calthifolia* a zeměpisnou šířkou. **FVC (2x)** (diploidní cytotyp *F. verna* subsp. *calthifolia*), u **FVC (4x)** (tetraploidní cytotyp *F. verna* subsp. *calthifolia*) **1Cx DNA** (monoploidní velikost genomu)



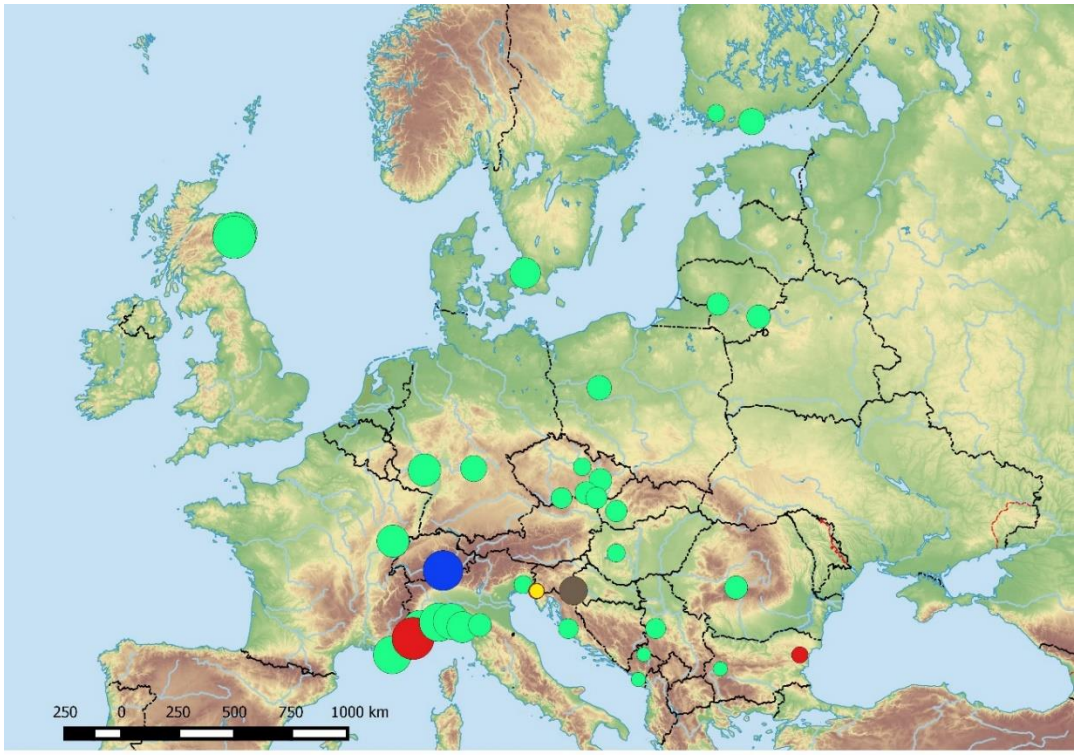
Obrázek 4: Korelace mezi monoploidní velikostí genomu jedinců *F. verna* subsp. *calthifolia* a zeměpisnou délkou. u **FVC (2x)** (diploidní cytotyp *F. verna* subsp. *calthifolia*), u **FVC (4x)** (tetraploidní cytotyp *F. verna* subsp. *calthifolia*) **1Cx DNA** (monoploidní velikost genomu)



Obrázek 5: Korelace mezi monoploidní velikostí genomu jedinců taxonů s pacibulkami a zeměpisnou délkou (korelace *F. verna* subsp. *ficariiformis* nebyla z důvodu nedostatečného množství dat testována). **FVFI (4x)** (tetraploidní cytotyp *F. verna* subsp. *ficariiformis*), **FVFI (5x)** (pentaploidní cytotyp *F. verna* subsp. *ficariiformis*), **FVV (2x)** (diploidní cytotyp *F. verna* subsp. *verna*), **FVV (3x)** (triploidní cytotyp *F. verna* subsp. *verna*), **FVV (4x)** (tetraploidní cytotyp *F. verna* subsp. *verna*) **1Cx DNA** (monoploidní velikost genomu)



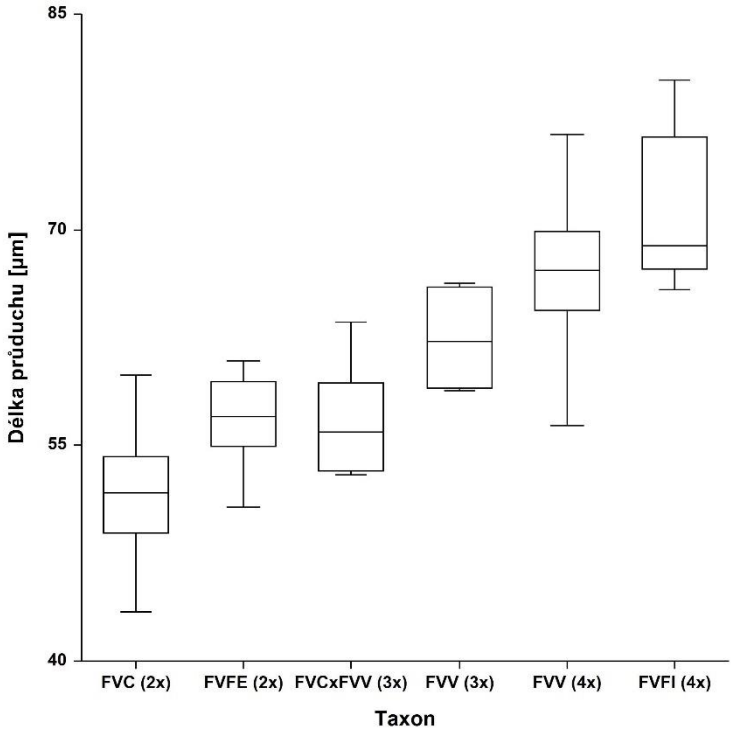
Obrázek 6: Relativní monoploidní velikosti genomu (1Cx DNA) populací *F. verna* subsp. *calthifolia*. Velikost kruhu odpovídá relativní hodnotě monoploidní velikosti genomu. **modré kruhy** – diploidní cytotypy, **zelené kruhy** – tetraploidní cytotypy



Obrázek 7: Relativní monoploidní velikost genomu (1Cx DNA) populací taxonů s pacibulkami. Velikost kruhu odpovídá relativní hodnotě monoploidní velikosti genomu. **zelené kruhy** – tetraploidní cytotypy *F. verna* subsp. *verna*, **modré kruhy** – triploidní cytotypy *F. verna* subsp. *verna*, **hnědý kruh** – tetraploidní, triploidní, diploidní cytotypy *F. verna* subsp. *verna*, **červené kruhy** – tetraploidní cytotypy *F. verna* subsp. *ficariiformis*, **žlutý kruh** – pentaploidní cytotypy *F. verna* subsp. *ficariiformis*

1.9 Délka průduchů

U testovaných taxonů se délka průduchů průkazně lišila ($F_{5,\ 156} = 75{,}93$, $p<0{,}001$) (Obr. 6). Následné mnohonásobné porovnání (Tukey–Kramerova test) identifikovaly významné rozdíly mezi diploidními, triploidními a tetraploidními cytotypy (Tab. 2). Byla zjištěna silná pozitivní korelace délky průduchů s velikostí genomu (2C DNA) bez ohledu na taxon ($r = 0{,}829$, $n = 140$, $p<0{,}001$) (Obr. 8).

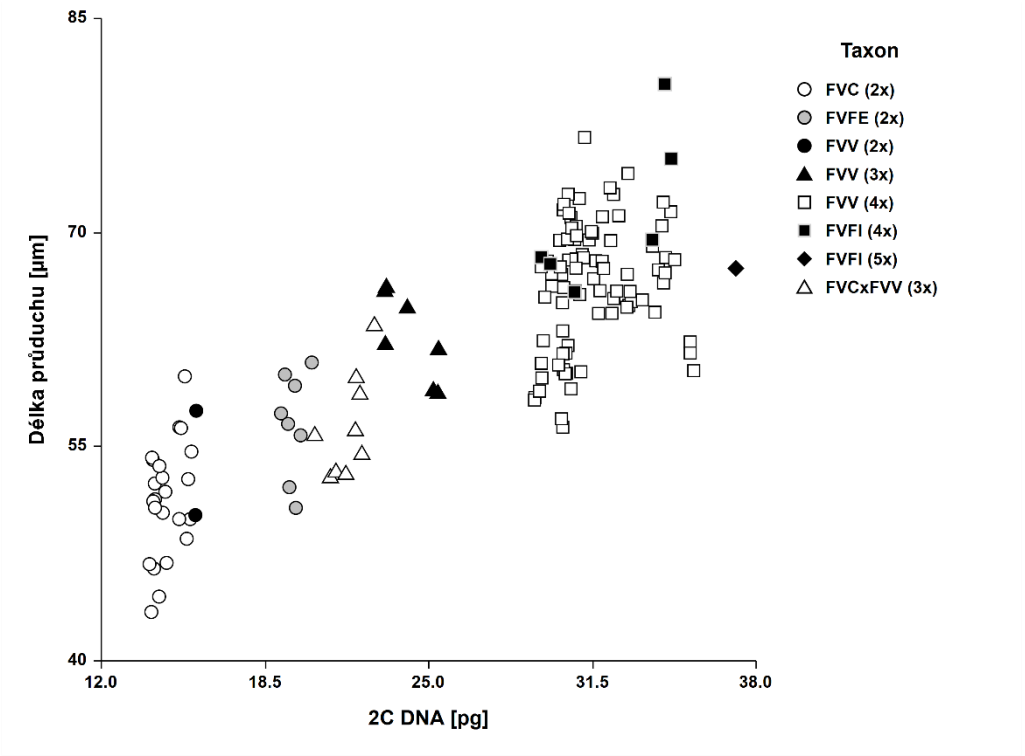


Obrázek 8: Variabilita velikosti průduchů (tělo box plotu znázorňuje 25-75 % rozpětí variability, vousy značí zbytek variability). **FVC (2x)** (diploidní cytotyp *F. verna* subsp. *calthifolia*), **FVFE (2x)** (diploidní cytotyp *F. verna* subsp. *fertilis*), **FVC x FVV (3x)** (triploidní cytotyp hybrida *F. verna* subsp. *calthifolia* a *F. verna* subsp. *verna*, **FVV (3x)** (triploidní cytotyp *F. verna* subsp. *verna*), **FVV (4x)** (tetraploidní cytotyp *F. verna* subsp. *verna*), **FVFI (4x)** (tetraploidní cytotyp *F. verna* subsp. *ficariiformis*)

Tabulka 4: Srovnání průměrné délky průduchů mezi testovanými taxony na základě Tukey–Kramerova testu

taxon	ploidie	počet měřených individuí	prům. délka průduchů [µm]	±SD	Průkazně (na P = 0.05) se liší od:
F. verna subsp. *calthifolia*	2x	28	51,55	3,95	diploidního cytotypu *F. verna* subsp. *fertilis,* triploidního cytotypu hybrida *F. verna* subsp. *calthifolia* x *F. verna* subsp. *verna,* triploidního cytotypu *F. verna* subsp. *verna,* tetraploidního cytotypu *F. verna* subsp. *verna*, tetraploidního cytotypu *F. verna* subsp. *ficariiformis*
F. verna subsp. *fertilis*	2x	20	56,79	2,90	diploidního cytotypu *F. verna* subsp. *calthifolia,* triploidního cytotypu *F. verna* subsp. *verna,* tetraploidního cytotypu *F. verna* subsp. *verna*, tetraploidního cytotypu *F. verna* subsp. *ficariiformis*
F. verna subsp. *calthifolia* x *F. verna* subsp. *verna*	3x	9	56,49	3,63	diploidního cytotypu *F. verna* subsp. *calthifolia,* triploidního cytotypu *F. verna* subsp. *verna,* tetraploidního cytotypu *F. verna* subsp. *verna, tetraploidního cytotyp F. verna* subsp. *ficariiformis*
F. verna subsp. *verna*	3x	7	62,73	3,09	diploidního cytotypu *F. verna* subsp. *calthifolia,* diploidního cytotypu *F. verna* subsp. *fertilis,* triploidního cytotypu hybrida *F. verna* subsp. *calthifolia* x *F. verna* subsp. *verna* tetraploidního cytotypu *F. verna* subsp. *ficariiformis*
F. verna subsp. *verna*	4x	92	66,68	4,36	diploidního cytotypu *F. verna* subsp. *calthifolia,* diploidního cytotypu *F. verna* subsp. *fertilis,* triploidního cytotypu hybrida *F. verna* subsp. *calthifolia* x *F. verna* subsp. *verna*
F. verna subsp. *ficariiformis*	4x	6	71,17	5,52	diploidního cytotypu *F. verna* subsp. *calthifolia,* diploidního cytotypu *F. verna* subsp. *fertilis,* triploidního cytotypu hybrida *F. verna* subsp. *calthifolia* x *F. verna* subsp. *verna,* triploidního cytotypu *F. verna* subsp. *verna*

prům. (průměr)



Obrázek 9: Korelace mezi délkou průduchů a absolutní velikostí genomu u studovaných taxonů. **FVC (2x)** (diploidní cytotyp *F. verna* subsp. *calthifolia*), **FVFE (2x)** (diploidní cytotyp *F. verna* subsp. *fertilis*), **FVV (2x)** (diploidní cytotyp *F. verna* subsp. *verna*), **FVV (3x)** (triploidní cytotyp *F. verna* subsp. *verna*), **FVV (4x)** (tetraploidní cytotyp *F. verna* subsp. *verna*), **FVFI (4x)** (tetraploidní cytotyp *F. verna* subsp. *ficariiformis*), **FVFI (5x)** (pentaploidní cytotyp *F. verna* subsp. *ficariiformis*), **FVC x FVV (3x)** (triploidní cytotyp hybrida *F. verna* subsp. *calthifolia* a *F. verna* subsp. *verna*) **2C DNA** (absolutní velikost genomu)

DISKUZE

U studovaných rostlin byla pomocí průtokové cytometrie změřena absolutní velikost genomu (2C DNA), z níž byla odvozena i jejich ploidie. Takto byla v této práci potvrzena cytotypová diverzita vybraných taxonů. Byly identifikovány vztahy mezi velikostí genomu a geografickým rozšířením studovaných taxonů a vztahy mezi délkou průduchů a ploidií studovaných taxonů, což ukazuje na důležitost velikosti genomu i délky průduchů pro taxonomické studium studovaných taxonů. Získaná data tedy přispívají k bližšímu pochopení taxonomické problematiky a k potvrzení působení evolučních mechanismů, tj. polyploidizace a hybridizace na vznik jednotlivých taxonů v rámci Evropy.

Jedinci, u kterých byly už dříve stanoveny počty chromosomů metodou roztlakových preparátů (Šiková 2014; Jandová nepublikováno) (Příloha 4) potvrdili existenci diploidního cytotypu *F. verna* subsp. *calthifolia* (2n = 2x = 16), triploidního cytotypu (2n = 2x = 16) (Šiková 2014) hybrida *F. verna* subsp. *calthifolia* a *F. verna* subsp. *verna* (Popelka et al. nepublikováno) a diploidního (2n = 2x = 16), triploidního (2n = 2x = 24) (Jandová nepublikováno) i tetraploidního cytotypu *F. verna* subsp. *verna* (2n = 4x = 32) (Šiková 2014). Z velikosti genomu v této práci odhadované ploidní úrovně u studovaných taxonů jsou v souladu s výsledky uvedené karyologické analýzy Na tomto základě byla identifikována cytotypová diverzita (2x, 3x, 4x, 5x) v rámci rodu *Ficaria*. Vlastní absolutní velikost genomu a variabilitu ve velikosti genomů u některých taxonů rodu *Ficaria* uvádí rovněž Zonneveld (2015) a Drenckhahn et al. (2017). Relevantnost srovnávání námi zjištěných hodnot s daty uvedenými v těchto pracích (většina dat je v obou pracích shodná) je podporována v této práci zjištěnou, téměř stejnou velikostí genomu u *F. verna* subsp. *ficaroides* (2C DNA = 18,4 pg, viz Tab. 1) s hodnotou udávanou Zonneveldem (Zonneveld 2015: 2C DNA = 18,6 pg). Obě měření byly provedeny na jedincích *F. verna* subsp. *ficaroides* pocházejících z lokality Mnt Chelmos v Řecku. Takže lze předpokládat, že odhalený vyšší rozptyl ve velikostech genomů u jednotlivých taxonů není artefaktem použití jiných standardů, jiné značky průtokového cytometru atd., ale je důsledkem vyššího počtu studovaných populací i geograficky obsáhlejším vzorkováním populací jednotlivých taxonů. Z absolutní velikosti genomu (2 C DNA) pak stanovené monoploidní velikosti genomu (1 Cx DNA) odhalují geografický patern kombinovaný s prostorovou autokorelací. Pozorovaná variabilita je tedy na velké geografické škále

reflektována geografií patrně v návaznosti na polyploidizační i hybridizační procesy (Obr. 6, 7). Monoploidní velikost genomu polyploidů krytosemenných rostlin obecně podléhá v průběhu času snižování, tzv. downsizing (Leitch & Bennett 2004). V případě nepřítomnosti tohoto jevu se patrně jedná o neopolyploidy (Cosendai et al. 2011).

Výsledky měření velikosti genomu diploidů potvrdily existenci, v literatuře uváděných diploidních taxonů, tj. *F. verna* subsp. *calthifolia*, *F. verna* subsp. *fertilis a F. verna* subsp. *ficaroides* (Zonneveld 2015). Na základě geneticky vymezených hodnot velikosti genomů, tj. 14,7 pg, 19,6 pg a 18,2 pg v tomto pořadí, tak byla potvrzena existence tří diploidních linií. Do rozsahu stanovených velikostí genomů jednotlivých taxonů zapadají velikosti genomů stanovené ve studiích autorů Zonneveld (2015) a Drenckhahn et al. (2017) Nicméně Drenckhahn et al. (2017) a Zonneveld (2015) dále na základě fenotypu a monoploidní velikosti genomu přiřazují k *F. verna* subsp. *calthifolia* i tetraploidní cytotypy popsané na území Řecka. Také v této práci byl zjištěn tetraploidní cytotyp u rostlin z Řecka, které byly na základě morfologie přiřazeny k taxonu *F. verna* subsp. *calthifolia* (Příloha 6). Nicméně v této oblasti roste i *F. verna* subsp. *chrysocephala* (Příloha 9), která je tetraploidní a od diploidního cytotypu *F. verna* subsp. *calthifolia* se rozlišuje hlavně na základě velikosti vzrůstu (Sell 1994; Trinajstić et al. 1979). Vzhledem k tomu, že velikost rostlin je silně plastický znak, který je ovlivňován podmínkami prostředí, uváděný tetraploidní cytotyp *F. verna* subsp. *calthifolia* by tedy ve skutečnosti mohl patřit k *F. verna* subsp. *chrysocephala*. Tudíž bez dalšího studia morfologie těchto rostlin nelze zhodnotit, ke kterému taxonu tetraploidní cytotyp fenotypicky odpovídající *F. verna* subsp. *calthifolia* patří, tj. je třeba najít nějaký nový rozlišovací, morfologický nebo genetický znak.

Diploidní linie *F. verna* subsp. *calthifolia* vykazuje značnou intrataxonomickou variabilitu ve velikostech genomu. Tato variabilita je u diploidního cytotypu *F. verna* subsp. *calthifolia* (rozdíl ve velikostech genomů o výši 1,7 pg s rozsahem 13,9–15,6 pg) ve srovnání s Drenckhahn et al. (2017) (rozdíl ve velikostech genomů o výši 0,2 pg s rozsahem 14,9–15,1 pg) vyšší o 1,5 pg. Zonneveld (2015) pak z taxonu *F. verna* subsp. *calthifolia* vyčleňuje na území Kavkazu a Ruska nový taxon *F. stepporum* (s velikostí genomu 12,5 pg), fenotypově odpovídající *F. verna* subsp. *calthifolia* (s velikostí genomu 15,5 pg). V souvislosti s námi prokázanou variabilitou ve velikostech genomu u *F. verna* subsp. *calthifolia* je třeba provést geograficky obsáhlejší vzorkování reflektující celý areál rozšíření *F. verna* subsp. *calthifolia*. Teprve na tomto základě bude možné spolehlivě zhodnotit taxonomické postavení *F. stepporum*

zakládající se na 1 změřené rostlině, ačkoli odlišný evoluční původ *F. stepporum* nelze vyloučit.

Diploidní cytotyp *F. verna* subsp. *fertilis* vykazoval podstatně menší variabilitu ve velikosti genomu než výše zmíněný cytotyp *F. verna* subsp *calthifolia*, přestože byl také studován na značné geografické škále. Zjištěná variabilita (rozdíl o výši 1,4 pg s rozsahem 19–20,4 pg) je srovnatelná s variabilitou udávanou Zonneveldem (Zonneveld 2015). Na variabilitě ve velikostech genomů by se u diploidních cytotypů *F. verna* subsp. *caltifolia* a *F. verna* subsp. *fertilis* mohla mimo jiné podílet zejména možná přítomnost B chromosomů. Ty u *F. verna* subsp. *calthifolia* na území Maďarska ve svých studiích prokázali např. Pogan & Wcisło (1974, 1981) a u *F. verna* subsp. *fertilis* na území Velké Británie pak Gill et al. (1972). Za předpokladu vyšší abundance B chromosomů u rostlin s vyšší velikostí genomu lze pak predikovat jejich roli v evolučních procesech. Tomu odpovídá u *F. verna* subsp. *calthifolia* pozorovaná akcelerovaná míra vegetativní reprodukce a především posun fenologie o cca. 2 týdny dříve ve srovnání s rostlinami bez B chromosomů (Pogan &Wcislo 1981b). S tím patrně souvisí i omezení některých hybridizačních a polyploidizačních procesů, které je navíc u *F. verna* subsp. *calthifolia* podporováno sníženým množstvím životaschopného pylu v případě přítomnosti 8 B chromosomů (Pogan &Wcislo 1981b), u *F. verna* subsp. *fertilis* pak v případě přítomnosti 3 B chromosomů (Marchant & Brighton 1974).

Variabilitu ve velikostech genomu v rámci diploidní linie *F. verna* subsp. *ficaroides* nelze spolehlivě zhodnotit z důvodu nedostatečného množství dat. Nicméně Zonneveld (2015) k diploidní linii *F. verna* subsp. *ficaroides* přiřazuje tetraploidní cytotyp s pacibulkami v paždí listů nalezený v nížinné oblasti v okolí města Elvas v Portugalsku. Výsledky velikostí genomu v této práci ale naznačují, že tetraploidní cytotyp přiřazený k *F. verna* subsp. *ficaroides* je ve skutečnosti součástí tetraploidní linie *F. verna* subsp. *ficariiformis*.

Měření velikosti genomu vybraných taxonů potvrdilo i existenci v literatuře uváděných tetraploidních taxonů, tj. *F. verna* subsp. *chrysocephala*, *F. verna* subsp. *verna* a *F. verna* subsp. *kochii* (Zonneveld 2015). Taxonomická hodnota posledního, v literatuře na základě morfologie z území Francie popsaného tetraploidního taxonu *F. verna* subsp. *ficariiformis* Sell (1994) se dle výsledků této práce jeví jako pochybná. Přestože není dostatek dat k statistickým analýzám, z Obr. 5 je patrné, že monoploidní velikost genomu populací přiřazených k taxonu *F. verna* subsp. *ficariiformis* má stejný

geografický patern jako *F. verna* subsp. *verna*. Tyto taxony se od sebe rozlišují morfologickými znaky, jako je velikost květů a listů (Sell 1994; Veldkamp 2015; Vazquez 2016). K taxonu *F. verna* subsp. *verna* byly tedy přiřazeny jen morfologicky jasně odlišitelné typy (obr. 16, 17). Nicméně velikost květů i listů jsou značně plastické znaky (Post et al. 2009) podléhající vlivům podmínek prostředí (Atamov 2006). Klasifikace *F. verna* subsp. *ficariiformis* jako samostatného taxonu je tedy pravděpodobně artefaktem role klimatických podmínek. Do rozsahu námi stanovených velikostí genomů jednotlivých taxonů zapadají velikosti genomů stanovené ve studiích autorů Zonneveld (2015) a Drenckhahn et al. (2017) s výjimkou *F. verna* subsp. *kochii,* kde je v této práci zjištěná velikost genomu 27,3 pg o cca 9 pg nižší než uvádí Zonneveld (2015: 36,2 pg). Patrně se jedná o atrefakt způsobený malým vzorkem (v obou případech jde o 1 měření) a odlišnými, v obou případech ale horskými lokalitami. Pozorovaný rozdíl ve velikostech genomu by mohl naznačovat rozdílné ploidie měřených rostlin.

V rámci tetraploidní linie *F. verna* subsp. *verna* byla zaznamenána značná intrataxonomická variabilita, tj. rozdíl ve velikostech genomů o výši 6,9 pg (rozsah 28,6–35,5 pg), zatímco Zonneveld (2015) uvádí 4,2 pg velký rozdíl ve velikostech genomu (rozsah 31,8–36 pg), v této práci prokázaný rozdíl ve velikostech genomu je tedy ve srovnání se Zonneveld (2015) vyšší o 2,7 pg. Variabilitu ve velikosti genomu *F. verna* subsp. *chrysocephala* a *F. verna* subsp. *kochii* nelze relevantně zhodnotit z důvodu malého počtu vzorků (dvě lokality, jedna lokalita).

Vysoká variabilita u *F. verna* subsp. *verna* je patrně podmíněna zejména působením rozdílných evolučních mechanismů, které naznačuje i cytotypová diverzita (2n = 2x, 3x, 4x). O původu tetraploidních rostlin byla recentně publikována nová hypotéza (Zonneveld 2015; Drenckhahn et al. 2017), predikující alotetraploidní původ západní linie *F. verna* subsp. *verna* s *F. verna* subsp. *calthifolia* a *F. verna* subsp. *fertilis* jako rodičovskými taxony na základě areálu rozšíření *F. verna* subsp. *calthifolia* a *F. verna* subsp. *fertilis*. Drenckhahn et al. (2017) dále na základě získaných dat velikostí genomu *F. verna* subsp. *verna* a areálu rozšíření *F. verna* subsp. *fertilis* usuzuje, že nelze vyloučit ani autotetraploidní původ západních populací *F. verna* subsp. *verna* s rodičovským taxonem *F. verna* subsp. *fetilis*. Nicméně Nicholson (1983) popisuje experimentálně vytvořené autotetraploidy *F. verna* subsp. *fertilis* bez pacibulek. Pro východní populace *F. verna* subsp. *verna* Drenckhahn et al. (2017) dle areálu rozšíření *F. verna* subsp. *calthifolia* navrhuje jejich autotetraploidní původ

s *F. verna* subsp. *calthifolia* jako rodičovským taxonem. Ten ale neodpovídá pozorovanému gradientu v monoploidní velikosti genomu u *F. verna* subsp. *verna*, u níž se velikost genomu směrem na Balkán zmenšuje, zatímco u *F. verna* subsp. *calthifolia* se velikost genomu směrem na Balkán zvětšuje. Jinými slovy, pokud by *F. verna* subsp. *verna* vznikla z *F. verna* subsp. *calthifolia*, měl by být geografický patern v monoploidní velikosti genomu stejný. Tento paradox může být zčásti podmíněn podmínkami prostředí (Knight 2005), reflektovanými tendencí snižovat velikost genomu v návaznosti na znaky ovlivňující evapotranspiraci (Knight & Beaulieu 2008). To je podporováno v této práci zaznamenanou chorvatskou populací obsahující diploidní, triploidní a tetraploidní jedince fenotypově odpovídající *F. verna* subsp. *verna*. Monoploidní velikost genomu diploidů a triploidů *F. verna* subsp. *verna* odpovídá monoploidní velikosti genomu u *F. verna* subsp. *calthifolia*. Monoploidní velikost genomu tetraploida *F. verna* subsp. *verna* se ale liší, což by naznačovalo soulad s hypotézou adaptivního charakteru velikosti genomu na podmínky prostředí. Alternativně ale diploid *F. verna* subsp. *verna* může naznačovat odlišné evoluční interakce v rámci rodu *Ficaria*. Pozorovaný tetraploidní cytotyp *F. verna* subsp. *verna* by tedy mohl vzniknout autotetraploidizací diploidního cytotypu *F. verna* subsp. *verna*, podlehnout snížení monoploidní velikosti genomu (tzv. downsizing) (Leitch & Bennett 2004). a následně díky obecně lepším kolonizačním schopnostem polyploidů (např. Oto & Whiton 2000; Fawcett & Van de Peer 2010) převládnout. To je podporováno nalezenými triploidy fenotypově náležejícími k *F. verna* subsp. *calthifolia* z Řecka (Drenckhahn et al. 2017) a z Německa (Drenckhahn 2016). Pozorovaná existence jednotlivých linií v rámci *F. verna* subsp. *verna* tedy může být důsledkem specifických vzájemně nezávislých mechanismů vzniku, interakcí mezi liniemi s odlišným evolučním původem, působením podmínek prostředí, případně jejich kombinací. Tato hypotéza je podporována existencí intertaxonomického genového toku (Popelka et al. nepublikováno) a možnou přítomností rozdílného množství repetitivních sekvencí, retrotranspozonů, tj. žádné funkce nekódující DNA či dalších chromosomálních mutací v genomech jednotlivých rostlin (Knight et al. 2005; Dodsworth et al. 2015). Výskyt retrotranspozonů přitom reflektuje heterogenitu podmínek prostředí (Murray 2005).

Role genového toku naznačujícího odlišné evoluční interakce v rámci tetraploidního cytotypu *F. verna* subsp. *verna* je podporována měřením velikosti genomu triploidů. Dle monoploidních velikostí genomu lze usuzovat na 3 možné

způsoby vzniku triploidů. Prvním způsobem vzniku triploidů je pravděpodobně autotriploidizace s diploidním a tetraploidním cytotypem nebo pouze s diploidním cytotypem *F. verna* subsp. *verna*. Uvedené mechanismy vzniku v souvislosti se zjištěným geografickým paternem jsou podporovány existencí chorvatské populace s výskytem diploidních, triploidních a tetraploidních cytotypů *F. verna* subsp. *verna* a švýcarské populace s výskytem triploidních cytotypů *F. verna* subsp. *verna*. Rovněž ze Švýcarska Anders–Gasser (1985) popisuje sympatrické populace s výskytem triploidů, tetraploidů a pentaploidů *F. verna* subsp. *verna* bez přítomnosti diploidů, Tröhler (1976) pak také ze Švýcarska popisuje populace s výskytem diploidů, triploidů, tetraploidů a sympatrické populace diploidů a triploidů *F. verna* subsp. *verna*. V této práci prokázaná přítomnost pouze triploidů v švýcarské populaci by tedy mohla být artefaktem malého vzorku. Alternativně diploidní a tetraploidní cytotyp *F. verna* subsp. *verna* mohl vymizet v důsledku odlišných nároků na podmínky prostředí. Ekologické vymezení alotriploidů *F. verna* subsp. *calthifolia* a *F. verna* subsp. *verna* popisuje Popelka et al. (nepublikováno). Druhým způsobem vzniku triploidů je tedy alotriploidizace *F. verna* subsp. *calthifolia* s *F. verna* subsp. *verna.*v kombinaci s reciprokou hybridizací s rodičovskými taxony. To je podporováno intermediálním charakterem triploidů v České republice (výsledky této práce) a v Polsku (Pogan & Wcislo 1974, 1986). Alotriploidní původ triploidů s *F. verna* subsp. *calthifolia* a *F. verna* subsp. *verna* na území České republiky molekulárními analýzami potvrzuje Popelka et al. (nepublikováno). Fenotypová podobnost triploidů s *F. verna* subsp. *calthifolia,* které z Řecka uvádí Drenckhahn et al. (2017) je patrně důsledkem introgrese, protože monoploidní velikost genomu těchto triploidů naznačuje alotriploidní původ s *F. verna* subsp. *calthifolia* a *F. verna* subsp. *verna*. Posledním v literatuře uváděným způsobem vzniku triploidů je alotriploidizace *F. verna* subsp. *verna* s *F. verna* subsp. *fertilis* jako rodičovskými taxony (Mardse–Jones & Turrill 1952; Gill et al. 1972), což na území Velké Británie uvádí Mardsen–Jones & Turrill (1952) a Gill et al. (1972). Sympatrické populace *F. verna* subsp. *verna* a *F. verna* subsp. *fertilis* byly zjištěny i v této práci. Nepřítomnost triploidů je zřejmě artefaktem malého vzorku.

Genetický tok reflektují i rozdílné gradienty ve velikostech genomů v rámci areálu rozšíření *F. verna* subsp. *calthifolia* a *F. verna* subsp. *verna*. Tyto gradienty patrně souvisí se změnami klimatu a prostředí během posledních dvou milionů let (Hewitt 1996). Studie Taberlet et al. (1998) uvádí tři oblasti fungující během glaciálů

jako refugia, konkrétně Pyrenejský, Italský a Balkánský poloostrov. Z těchto oblastí pak během interglaciálů docházelo k migracím s následným obsazováním volných nik (např. Webb & Bartlein 1992). Rozdílné gradienty ve velikostech genomů u *F. verna* subsp. *calthifolia* a *F. verna* subsp. *verna* lze pak zřejmě vysvětlit různými počty refugií, potažmo různým počtem migračních vln. Vlastní způsob migrace, naznačující možný odlišný evoluční původ rostlin v různých oblastech v důsledku nezávislých hybridizačních a polyploidizačních procesů je pravděpodobně značně ovlivněn i ekologií samotného taxonu, která má za následek odlišný kolonizační potenciál a tím i odlišnou míru role izolace v evoluci studovaných taxonů.

Zjištěné hodnoty délek průduchů jsou v souladu s obecným trendem spočívajícím v pozitivní korelaci velikosti průduchů s velikostí genomu, potažmo ploidií (Masterson 1994; Beaulieu et al. 2008; Hodgson et al. 2010). U některých druhů je délka průduchů dokonce považována za druhově specifický znak (např. Rayburn et al. 2009). Vhodnost délky průduchů na abaxiální straně kališních lístků (Veselá 1969) a spodní straně listů (Tröhler 1976), jako pomocného determinačního znaku popisuje pro klasifikaci *F. verna* subsp. *calthifolia* a *F. verna* subsp. *verna* Veselá (1969), pro klasifikaci diploidních, triploidních a tetraploidních cytotypů *F. verna* subsp. *verna* pak Tröhler (1976). Veselá (1969) zaznamenala delší průduchy u *F. verna* subsp. *calthifolia* ve srovnání s *F. verna* subsp. *verna*. Tomu odpovídají výsledky studie Tröhler (1976) udávající delší průduchy na spodní straně listů u triploidů v srovnání s tetraploidy.

Výsledky studií Veselá (1969) a Tröhler (1976) jsou v rozporu s v této práci prokázanou silnou pozitivní korelací velikosti genomu s délkou průduchů na spodní straně listů. Rozpor se studií Veselá (1969) udávající delší průduchy u *F. verna* subsp. *calthifolia* ve srovnání s *F. verna* subsp. *verna* by mohl být vysvětlen měřením délky průduchů na odlišných orgánech (kališní lístky vs. spodní strana listů) a zjištěnými širšími kališními lístky u *F. verna* subsp. *calthifolia* nesoucími průduchy s užšími svěracími buňkami, užší svěrací buňky pak dle Franks et al. (2012) dokládají menší velikost genomu. V případě studie Tröhler (1976) je pak rozpor s prokázanou silnou pozitivní korelací délky průduchů s velikostí genomu patrně důsledkem odlišného metodického postupu, protože v této práci byly listy pro zhotovení preparátů odebrány na konci vegetační sezóny, tj. v době kdy rostliny nepokračují v růstu. Zatímco odběr listů v práci Tröhler (1976) dle uváděných delších průduchů na spodní straně listů u triploidů ve srovnání s tetraploidy naznačuje pravděpodobně odběr listů v průběhu

vegetační sezóny, protože rostliny s menší velikostí genomu začínají růst dříve (Šiková 2014) a jejich průduchy jsou tedy v jiném stádiu vývoje ve srovnání s vyššími ploidiemi. Na délku průduchů během růstu rostliny tak mohou mít vliv i podmínky prostředí (Knight a Beaulieu 2008; Hodgson et al. 2010). Významnou roli meteorologických (úhrn srážek) a ekologických (typ půdy, vlhkost) podmínek prostředí na produkci nadzemní (ovlivňující délku průduchů) i podzemní biomasy u rodu *Ficaria* popisuje i Atamov (2006). Jednim z hlavních faktorů ovlivňujících délku průduchů by pak dle studie Hetherington a Woodward (2003) mohly být i vyšší nároky na dostupnost vody v prostředí u taxonů s vyšší velikostí genomu. Nicméně dle výsledků v této práci měřených délek průduchů na spodní straně listů, které byly odebrány na konci vegetační sezóny z rostlin pěstovaných za uniformních podmínek na experimentálním pozemku katedry Botaniky Přf. UP se zdá, že velikost genomu je silně korelována s délkou průduchů. Délku průduchů lze tedy využít jako znak pro identifikaci jednotlivých ploidií, ale pro determinaci na úrovni taxonů se jedná o příliš plastický znak. To je v souladu s výsledky studie Marinho et al. (2014) provedené u rodu *Eriotheca.*

ZÁVĚR

Výsledky této bakalářské práce přispívají k objasnění taxonomické problematiky rodu *Ficaria* na území Evropy. Odhadované velikosti genomu podporují existenci diploidních linií, tj. *F. verna* subsp. *calthifolia*, *F. verna* subsp. *fertilis*, *F. verna* subsp. *ficaroides* a tetraploidních linií *F. verna* subsp. *chrysocephala*, *F. verna* subsp. *verna*. Potvrdily pravděpodobně tetraploidní linii *F. verna* subsp. *kochii*. V literatuře uváděná tetraploidní linie *F. verna* subsp. *ficariiformis* nebyla zjištěna, patrně byla v návaznosti na morfologické znaky podmíněné klimatickými podmínkami prostředí vyčleněna jako samostatný taxon z tetraploidní linie *F. verna* subsp. *verna*. Byl odhalen diploidní cytotyp v rámci *F. verna* subsp. *verna*, který naznačoval radikální změnu koncepce fylogenetických vztahů v rámci tetraploidní linie *F. verna* subsp. *verna.* Zjištěná variabilita ve velikostech genomu na široké geografické škále u *F. verna* subsp. *calthifolia* a *F. verna* subsp. *verna* poukazuje na působení procesů hybridizace a polyploidizace v evoluci rodu *Ficaria.* Pozitivní korelace mezi délkou průduchů a velikostí genomu (2 C DNA) odhalila využitelnost délky průduchů jako znaku pro taxonomickou klasifikaci ploidních stupňů.

Monoploidní velikosti genomu (1Cx DNA) naznačily možné různé evoluční stáří v rámci samotných linií. Pro pochopení taxonomické problematiky je tedy dále nezbytné využít sofistikovanější molekulární metody např. provést analýzy chloroplastových a jaderných úseků DNA, případně v návaznosti na globální změnu klimatu provést experimenty testující případné reprodukční bariéry mezi taxony.

LITERATURA

Abbott R, Albach D, Ansell S, Arntzen JW, Baird SJE, Bierne N, Boughman J, Brelsford A, Buerkle CA, Buggs R, et al. 2013. Hybridization and speciation. J. Evol. Biol. 26: 229–246.

Abbott RJ. 2017. Plant speciation across environmental gradients and the occurrence and nature of hybrid zones. J. Syst. Evol. 55: 238–258.

Adams KL, Wendel JF. 2005. Polyploidy and genome evolution in plants. Curr. Opin. Plant Biol. 8: 135–141.

Allen DE. 1958. Ranunculus Ficaria L. Proc. Bot. Soc. Brit. Isl. 3:45

Alix K, Gérard PR, Schwarzacher T, Heslop-Harrison JSP. 2017. Polyploidy and interspecific hybridization: Partners for adaptation, speciation and evolution in plants. Ann. Bot. 120: 183–194.

Anders–Gasser I. 1985. Cytotaxonomische Untersuchungen an Ranunculus ficaria L. Mitt. Naturforsch 42: 79–85.

Anderson E, Hubricht L. 1938. Hybridization in Tradescantia. III. The evidence for introgressive hybridization. Am. J. Bot. 25: 396–402 [podle Abbott 2013]

Andreas C H. 1954. Notes on Ranunculus Ficaria l. in the Netherlands. Acta Bot. Neerl. 3: 446–453.

Andreas C. H. 1966. Enkele infraspecifieke taxa bij Ranunculus ficaria L. Gorteria 3: 11–12.

Anfi E, Galasso G, Soldano A. 2011. Notes on systematics and taxonomy for the Italian vascular flora. 2. Nat. Hist. Sci. 152: 85–106.

Arnold ML. 1997.Natural hybridization and evolution. Oxford: Oxford University Press [podle Abbott 2017]

Atamov V. 2006. Structure of the phytomass of Azerbaijan’s steppe vegetation. Phytol. Balc. 12:391–399.

Axtell AE, DiTommaso A, Post AR. 2010. Lesser Celandine (Ranunculus ficaria): A Threat to Woodland Habitats in the Northern United States and Southern Canada. Invasive Plant Sci. Manag. 3: 190–196.

Baack EJ. 2005 To succeed globally, disperse locally: effects of local pollen and seed dispersal on tetraploid establishment. Heredity. 94: 538–46.

Balao F, Tannhäuser M, Lorenzo MT, Hedrén M, Paun O. 2016. Genetic differentiation and admixture between sibling allopolyploids in the Dactylorhiza majalis complex. Heredity (Edinb). 116: 351–361.

Barringer BC. 2007. Polyploidy and self-fertilization in flowering plants. Am. J. Bot. 94: 1527–1533.

Barow M, Meister A. 2003. Endopolyploidy in seed plants is differently correlated to systematics, organ, life strategy and genome size. Plant, Cell Environ. 26:571–584.

Barton GM, Hewitt NH. 1985. Analysis of Hybrid Zones. Annu. Rev. Ecol. Syst. 16: 113–148.

Barton, NH. 2001. The role of hybridization in evolution.Mol. Ecol. 10: 551–568.

Beaulieu JM, Leitch IJ, Patel S, Pendharkar A, Knight CA. 2008 Genome size is a strong predictor of cell size and stomatal density in angiosperms. New Phytol. 179: 975–986.

Brennan AC, Woodward G, Seehausen O, Muñoz-Fuentes V, Moritz C, Guelmami A, Abbott RJ, Edelaar P. 2015. Hybridization due to changing species distributions: adding problems or solutions to conservation of biodiversity during global change? Evol. Ecol. Res. 16: 475–491.

Bretagnolle FA, Thompson JD. 1995. Gametes with the somatic chromosome number: mechanisms of their formation and role in the evolution of autopolyploid plants. New Phytol. 129: 1–22.

Brochmann C, Brysting AK, Alsos IG, Borgen L, Grundt HH, Scheen AC, Elven R. 2004. Polyploidy in arctic plants. Biol. J. Linn. Soc. 82: 521–536.

Clapham AR, Tutin TG, Warburg EF. 1962. Flora of the British isles, 2. ed. Cambridge

Comai L. 2005. The advantages and disadvantages of being polyploid. Nat. Rev. Genet. 6: 836–846.

Cosendai A, Ho E. 2018. Cytotype stability, facultative apomixis and geographical parthenogenesis in Ranunculus kuepferi (Ranunculaceae). :457–470.

Cui L, Wall PK, Leebens-Mack JH, Lindsay BG, Soltis DE, Doyle JJ, Soltis PS, Carlson JE, Arumuganathan K, Barakat A, et al. 2006. Widespread genome duplications throughout the history of flowering plants. Genome Res. 16: 738–749.

Dodsworth S, Leitch AR, Leitch IJ. 2015. Genome size diversity in angiosperms and its influence on gene space. Curr. Opin. Genet. Dev. 35:73–78.

De Storme N, Mason A. 2014. Plant speciation through chromosome instability and ploidy change: Cellular mechanisms, molecular factors and evolutionary relevance. Curr. Plant Biol. 1: 10–33.

J. Doležel J. Greilhuber A. Meister, M. A. Lysák, L. Nardi, R. Obermayer SL. 1998. Plant Genome Size Estimation by Flow Cytometry: Inter-laboratory Comparison. Ann. Bot. 82: 17–26.

Doležel J, Greilhuber J, Suda J. 2007. Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. Nat. Protoc. 2: 2233–2244.

Drenckhahn D, Baumgartner W, Zonneveld B. 2017. Different genome sizes of Western and Eastern Ficaria verna lineages shed light on steps of Ficaria evolution. Forum geobotanicum. 7: 27–33.

Drenckhahn D. 2016. Morphologie und Jahreszyklus von Ficaria calthifolia Rchb. – eine neu etablierte Sippe in Deutschland Morphology and annual cycle of Ficaria calthifolia Rchb. – a recently established species for Germany. Forum geobotanicum. 7: 1–17.

Duara BN, Stebbins GL. 1952. A polyhaploid obtained from a hybrid derivative of Sorghum halepense S. vulgare var. sudanense. Genetics. 37: 369–374.

Ellstrand NC, Elam DR. 1993. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. Annu. Rev. Ecol. Syst. 24: 217–42.

Ellstrand NC, Schierenbeck KA. 2000. Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants? Euphytica. 148: 35–46.

Ellstrand NC, Whitkus R, Rieseberg LH. 1996. Distribution of spontaneous plant hybrids. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 93: 5090–5093.

Emadzade K, Gehrke B, Peter Linder H, Hörandl E. 2011. The biogeographical history of the cosmopolitan genus Ranunculus L. (Ranunculaceae) in the temperate to meridional zones. Molecular Phylogenetics and Evolution 58: 4–21.

Emadzade K, Lehnebach C, Lockhart P, Hörandl E. 2010. A molecular phylogeny, morphology and classification of genera of Ranunculeae (Ranunculaceae). Taxon 59: 809–828.

Fawcett JA, Maere S, Van de Peer Y. 2009. Plants with double genomes might have had a better chance to survive the Cretaceous-Tertiary extinction event. Proc. Natl. Acad. Sci. 106: 5737–5742.

Fawcett JA, van de Peer Y. 2010. Angiosperm polyploids and their road to evolutionary success. Trends Evol. Biol. 2: 16–21.

Franks PJ, Freckleton RP, Beaulieu JM, Leitch IJ, Beerling DJ. 2012. Megacycles of atmospheric carbon dioxide concentration correlate with fossil plant genome size. Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 367:556–564.

Freeling M. 2017. Picking up the Ball at the K/Pg Boundary: The Distribution of Ancient Polyploidies in the Plant Phylogenetic Tree as a Spandrel of Asexuality with Occasional Sex. Plant Cell 29: 202–206.

Gadella T. W. 1977. Diploid Ranunculus ficaria L. in the Netherlands. Proc. K. Ned. Akad. Wet. 80: 80–82.

Gill J, Jones B, Marchant C, McLeish J, Ockendon D. 1972. Distribution of chromosome races of Ranunculus ficaria L. in the British Isles. Annals of Botany 36: 31–47.

Goldblatt P. 1980. Polyploidy in angiosperms: Monocotyledons. In W. H. Lewis [ed.], Polyploidy: Biological relevance, 219–239. Plenum Press, New York, New York, USA. [podle Soltis et al. 2009]

Grant V. 1963. The origin of adaptations. Columbia University Press, New York, New York, USA. [podle Soltis et al. 2009]

Grant V. 1981. Plant speciation, 2nd ed. Columbia University Press, New York, New York, USA. [podle Soltis et al. 2009]

Harrison RG. 1990. Hybrid zones: windows on evolutionary process. In: Futuyma D, Antonovics J, editors. Oxford surveys in evolutionary biology. Vol. 7. New York: Oxford University Press. 69–128. [podle Harrison & Larson 2014]

Harrison RG, editor. 1993. Hybrid zones and the evolutionary process. New York: Oxford University Press. [podle Harrison & Larson 2014]

Harrison RG, Larson EL. 2014. Hybridization, introgression, and the nature of species boundaries. J. Hered. 105: 795–809.

Harrison RG, Rand DM. 1989. Mosaic hybrid zones and the nature of species boundaries. In Otte D, Endler J eds.Speciation and its consequences. Sunderland MA: Sinauer Associates. 111–133 [podle Abbott 2017]

Hasterok R, Jenkins G, Langdon T, Jones RN, Maluszynska J. 2001. Ribosomal DNA is aneffective marker of Brassica chromosomes. Theoretical and Applied Genetics 103: 486–490.

Hegarty MJ, Hiscock SJ. 2008. Genomic Clues to the Evolutionary Success of Polyploid Plants. Curr. Biol. 18: 435–444.

Herben T, Suda J, Klimešová J. 2017. Polyploid species rely on vegetative reproduction more than diploids: A re-examination of the old hypothesis. Ann. Bot. 120: 341–349.

Hetherington AM, Woodward FI. 2003. The role of stomata in sensing and driving environmental change. Nature.424: 901–908.

Heslop-Harrison J, Heslop-Harrison Y. 1970. Evaluation of pollen viability by enzymatically induced fluorescence; intracellular hydrolysis of fluorescein diacetate. Biotech. Histochem. 45: 115–120.

Hewitt GM. 1996. Some genetic consequences of ice ages. Biol. J. Linn. Soc. 58: 247–276.

Heß HE, Landolt E, Hirzel R. 1977. Ranunculáceae. In Flora der Schweiz und angrenzender Gebiete. Birkhäuser Basel. 13–103.

Hodgson JG, Sharafi M, Jalili A, Díaz S, Montserrat-Martí G, Palmer C, Cerabolini B, Pierce S, Hamzehee B, Asri Y, et al. 2010. Stomatal vs. genome size in angiosperms: The somatic tail wagging the genomic dog? Ann. Bot. 105:573–584.

Hörandl E, Paun O, Johansson JT, Lehnebach C, Armstrong T, Chen L, Lockhart P. 2005. Phylogenetic relationships and evolutionary traits in Ranunculus s.l. (Ranunculaceae) inferred from ITS sequence analysis. Molecular Phylogenetics and Evolution 36: 305–327.

Husband BC. 2004 The role of triploid hybrids in the evolutionary dynamics of mixed-ploidy populations. Biol. J. Linn. Soc. 82: 537–546.

Jackson S, Chen ZJ. 2010. Genomic and expression plasticity of polyploidy. Curr. Opin. Plant Biol. 13: 153–159.

Janchen E. 1974. Die systematische Gliederung der Ranunculaceen und Berberidaceen. Denkschr. Akad. Wiss. Wien. Math-Naturw. 108: 1–82.

Johansen DA. 1940. Plant Microtechnique. New York. McGraw-Hill Book Company, Inc.

Johanson N. 2008. Hybrid incompatibility and speciation. Nature. 1:1–20

Johansson J. 1998. Systematics and Evolution Chloroplast DNA restriction site mapping and the phylogeny of Ranunculus (Ranunculaceae). Pl. Syst. Evol. 213: 1–19.

Kaplan Z, Fehrer J. 2007. Molecular Evidence for a Natural Primary Triple Hybrid in Plants Revealed from Direct Sequencing. Ann. Bot. 99: 1213–1222.

Kihara H, Ono T. 1926. Chromosomenzahlen und systematische gruppierung der rumex-arten. Mikrob. Anat. 4: 475–481.

Knight CA, Molinari NA, Petrov DA. 2005. The large genome constraint hypothesis: Evolution, ecology and phenotype. Ann. Bot. 95:177–190.

Knight CA, Beaulieu JM. 2008. Genome size scaling through phenotype space. Ann. Bot. 101:759–766.

Kreiner JM, Kron P, Husband BC. 2017. Evolutionary Dynamics of Unreduced Gametes. Trends. Genet. 33: 583–593.

Křísa B. 1988. Ficaria Guett.–orsej. –In: Hejný S. & Slavík B. (eds.). Květena České republiky 1. 456–458.

Laegaard S. 2001. Validation of Ranunculus ficaria L. ssp. fertilis Clapham ex Laegaard (Ranunculaceae). Nord. J. Bot. 20: 525–526.

Larter L.N.H. 1932. Chromosome variation and behaviour in Ranunculus L. J. Genet. 26: 255.

Le Comber SC, Ainouche ML, Kovarik A, Leitch AR. 2010. Making a functional diploid: From polysomic to disomic inheritance. New Phytol. 186: 113–122.

Leitch AR, Leitch IJ. 2008. Genomic plasticity and the diversity of polyploid plants. Science 320: 481–8

Leitch IJ, Bennett MD. 2004. Genome downsizing in polyploid plants. Biol. J. Linnean. Soc. 82: 651–663.

Leitch IJ, Bennett MD. 1997. Polyploidy in angiosperms. Trends. Plant. Sci. 2: 470–476.

Levin DA. 1975. Minority cytotype exclusion in local plant populations. Taxon. 24: 35–43.

Lewis WH. 1980. Polyploidy in angiosperms: Dicotyledons. InW. H. Lewis [ed.], Polyploidy: Biological relevance. 241–268. Plenum Press, New York, New York, USA. [podle Soltis et al. 2009]

Li WL, Berlyn GP, Ashton PMS. 1996 Polyploids and their structural and physiological characteristicsrelative to water deficit in Betula papyrifera (Betulaceae). Am. J. Bot.83:15–20.

Liu B, Brubaker G, Cronn RC, Wendel JF. 2001. Polyploid formation in cotton is not accompanied by rapid genomic changes. Genome. 44: 321c330.

Löve A, Löve D. 1961: Chromosome numbers of central and northwest European plant species. Opera Bot. 5:1–581.

Ludwig F. 1901. Variations statistische probleme und materialien. Biometrika. 1: 11–29.

Madlung A. 2013. Polyploidy and its effect on evolutionary success: Old questions revisited with new tools. Heredity (Edinb). 110: 99–104.

Mallet J. 2007. Hybrid speciation. Nature 446: 279–283.

Marchant CJ, Brighton CA. 1974. Cytological diversity and triploid frequency in a complex population of Ranunculus ficaria L. Ann. Bot. 38: 7–15.

Marinho RC, Bonetti AM, Oliveira PE. 2014. Pollen and stomata morphometrics and polyploidy in Eriotheca. Plant. Biol. 16: 508–511.

Marlow JK, Beacham JL, Stringer WC. 2014. Under the radar? Ficaria verna. 11–13.

Marsden–Jones E. M. 1935. Ranunculus Ficaria Linn.: life – history and pollination. Bot. J. Linn. Soc. 50: 39–55.

Marsden–Jones E.M., Turrill W.B. 1952. Srtudies on Ranunculus Ficaria. J. Genet. 50: 522–542.

Martis MM, Klemme S, Banaei-Moghaddam AM, Blattner FR, Macas J, Schmutzer T, Scholz U, Gundlach H, Wicker T, Simkova H, et al. 2012. Selfish supernumerary chromosome reveals its origin as a mosaic of host genome and organellar sequences. Proc. Natl. Acad. Sci. 109:13343–13346.

Masterston J. 1994. Stomatal size in fossil plants: evidence for polyploidy in majority of angiosperms. Science 264: 421–423.

Metcalfe C. R. 1939. The sexual reproduction of Ranunculus ficaria. Ann. Bot. 9: 91–103.

Metcalfe C.R. 1938. The morphology and mode of development of the axillary tubercles and root tubers of Ranunculus ficaria. Ann. Bot. 2: 145–57

Metcalfe CR. 1936. An interpretation of the morphology of the single cotyledon of Ranunculus ficaria based on embryology and seedling anatomy. Ann. Bot. 50: 103–120.

Moore WS. 1977. An evaluation of narrow hybrid zones in vertebrates. Q. Rev. Biol. 52: 263–278. [podle Abbott 2017]

Murray. 2005. When does Intraspecific C-value Variation become Taxonomically Significant? Ann. Bot. 95:119–125.

Nesom G. L. 2015. Ranunculus ficaria (Ranunculaceae) naturalized in Texas: Update. Phytoneuron. 27: 1–7.

Neves J. B. 1942. Sobre a cariologia de Ranunculus Ficaria L. 243.

Nicholson G. G. 1983. Studies on the distribution and the relationship between the chromosome races of Ranunculus ficaria L. in SE Yorkshire. Watsonia. 14: 321-328.

Orians CM. 2000. The effects of hybridization in plants on secondary chemistry: Implications for the ecology and evolution of plant–Herbivore interactions. Am. J. Bot. 87: 1749–1756.

Otto SP, Whitton J. 2000 Polyploid incidence and evolution. Annu. Rev. Genet. 34: 401–437.

Otto SP. 2007. The Evolutionary Consequences of Polyploidy. Cell 131: 452–462.

Ovczinnikov P.N. 1937. Ranunculus. In: Komarow W.A. (Ed.) Flora URSS. vol. VII. Ranales and Rhoeadales. Botanicheskii Institut Akademii Nauk USSR. pp. 351–509.

Paun O, Lehnebach C, Johansson JT, Lockhart P, Hörandl E. 2005. Phylogenetic Relationships and Biogeography of Ranunculus and Allied Genera (Ranunculaceae) in the Mediterranean Region and in the European Alpine System. Taxon 54: 911.

Pogan E, Wcisło H. 1974. Studies in Ranunculus ficaria L. II. Further karyological studies. Acta. Biol. Crac. Ser. Bot. 27: 165–173.

Pogan E, Wcislo H. 1981a. Studies in Ranunculus ficaria L. IV. Cyto-embryological studies. Acta. Biol. Crac. Ser. Bot. 23: 37–57.

Pogan E, Wcisło H. 1981b. Studies in Ranunculus ficaria L. V. Cytoembryological analysis of Ranunculus ficaria L. subp. calthifolius (Rchb.) Arc. with B–chromosomes. Acta Biol. Crac. Ser. Bot. 28: 83–97.

Pogan E, Wcislo H. 1986. Studies in Ranunculus ficaria L. VII. Additions to chromosome numbers. Acta. Biol. Crac. Ser. Bot. 28: 87–92.

Post AR, Krings A, Wall WA, Neal JC. 2009. in the United States : A morphometric analysis. 1867: 193–209.

Ramsey J, Schemske DW. 1998. Pathways, Mechanisms, and Rates of Polyploid Formation in Flowering Plants. Annual Review of Ecology. Ecol. Syst.29: 467–501.

Ramsey J, Schemske DW. 1998. Pathways, Mechanisms, and Rates of Polyploid Formation in Flowering Plants. Annu. Rev. Ecol. Syst. 29: 467–501.

Ramsey J, Schemske DW. 2002. Neopolyploidy in Flowering Plants. Annu. Rev. Ecol. Syst. 33: 589–639.

Rayburn AL, Crawford J, Rayburn CM, Juvik JA. 2009. Genome size of three Miscanthus species. Plant Mol. Biol. Report. 27:184–188.

Reisch C., Scheitler S. 2008 Disturbance by mowing affects clonal diversity: the genetic structure of *Ranunculus ficaria* (Ranunculuaceae) in meadows and forests. Plant. Ecol. 201: 699–707

Rieseberg L. 1995. The role of hybridization in evolution: old wine in new skins. Am. J. Bot. 82: 944–953.

Rieseberg LH, Carney SE. 1998. Tansley Review No. 102 Plant hybridization. New. Phytol. 140: 599–624.

Rieseberg LH, Willis JH. 2007. Plant speciation. Science. 317: 910–914.

Rieseberg LH. 1997. Hybrid Origins of Plant Species. Annu. Rev. Ecol. Syst. 28: 359–389.

Ristic Z, Jenks MA. 2002. Leaf cuticle and water loss in maize lines differing in dehydration avoidance. J. Plant. Physiol. 159: 645–651.

Seehausen O. 2004. Hybridization and adaptive radiation. Trends Ecol. Evol. 19: 198–207.

Seehausen O. 2013. Conditions when hybridization might predispose populations for adaptive radiation. J. Evol. Biol. 26: 279–281

Segraves KA, Thompson J. 1999. Plant polyploidy and pollination: Floral traits and insect visits to diploid and tetraploid Heuchera grossulariifolia. Evolution (N.Y). 53: 1114–1127.

Sell P. D. 1994. Ranunculus ficaria L. sensu lato. Watsonia 20: 41–50.

Sohrabi Kertabad S, Rashed Mohassel MH, Nasiri Mahalati M, Gherekhloo J. 2013. Some biological aspects of the weed Lesser celandine (Ranunculus ficaria). Planta Daninha. 31: 577–585.

Soltis DE, Albert VA, Leebens-Mack J, Bell CD, Paterson AH, Zheng C, Sankoff D, DePamphilis CW, Wall PK, Soltis PS. 2009. Polyploidy and angiosperm diversification. Am. J. Bot. 96: 336–348.

Soltis DE, Buggs RJA, Doyle JJ, Soltis PS, Soltis DE, Buggs RJA, Doyle JJ, Soltis PS. 2010. What we still don‘ t know about polyploidy. Taxon. 59: 1387–1403.

Soltis DE, Soltis PS, Schemske DW, Hancock JF, Thompson JN, Husband BC, Judd WS. 2007. Autopolyploidy in angiosperms: have we grossly understimated the number of species? Taxon. 56: 13–30.

Soltis DE, Soltis PS, Tate JA. 2003. Advances in the study of polyploidy since Plant speciation. New. Phytol. 161: 173–191.

Soltis DE, Visger CJ, Blaine Marchant D, Soltis PS. 2016. Polyploidy: Pitfalls and paths to a paradigm. Am. J. Bot. 103: 1146–1166.

Soltis PS, Marchant DB, Van de Peer Y, Soltis DE. 2015. Polyploidy and genome evolution in plants. Curr. Opin. Genet. Dev. 35: 119–125.

Soltis PS, Soltis DE. 2000. The role of genetic and genomic attributes in the success of polyploids. Proc. Natl. Acad. Sci. 97: 7051–7057.

Soltis PS, Soltis DE. 2009. The Role of Hybridization in Plant Speciation. Annu. Rev. Plant. Biol. 60: 561–588.

Soltis DE, Visger CJ, Soltis PS. 2014. The polyploidy revolution then...and now: Stebbins revisited. Am. J. Bot. 101:1057–1078. doi:10.3732/ajb.1400178.

Soó R., Borhidi A. 1964 Über einige Formenkreise der Ungarischen und Karpatischen Flora. IV. Ficaria. Ann. Univ. Sci. Budap. Rolando. Eotvos. Nominatae. Biol. 8: 297-300.

Stace C. A. 2010. New flora of the British Isles. 3 ed. Cambridge University Press

Stebbins GL.1950. Variation and evolution in plants. Columbia University Press, New York, New York, USA. [podle Soltis et al. 2000]

Stebbins GL. 1971. Chromosomal evolution in higher plants. Chromosomal evolution in higher plants. London: Addison Wesley

Sybenga J. 1996. Chromosome pairing affinity and quadrivalent formation in polyploids: do segmental allopolyploids exist? Genome. 39: 1176–1184

Šiková P. 2014. Mezidruhová hybridizace v rodu Ficaria v prostoru střední Evropy. [diplomová práce]. UPOL 97 s.

Taberlet P, Fumagalli L, Wust-Saucy AG, Cosson JF. 1998. Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe. Mol. Ecol. 7: 453–464.

Tamura M. 1995. Angiospermae. Ordnung Ranunculales. Fam. Ranunculaceae. II. vol. 17aIV. Duncker & Humblot: 223–519.

Tank DC, Eastman JM, Pennell MW, Soltis PS, Soltis DE, Hinchliff CE, Brown JW, Harmon LJ. 2015. Progressive radiations and the pulse of angiosperm diversification. New. Phytol. 207: 454-467.

Taylor K, Markham B. 1978. Ficaria L. (Ficaria verna Huds.; F. ranunculoides Moench). J. Ecol. 66: 1011–1031.

Te Beest M, Le Roux JJ, Richardson DM, Brysting AK, Suda J, Kubešová M, Pyšek P. 2012. The more the better? The role of polyploidy in facilitating plant invasions. Ann. Bot. 109:19–45.

Thompson JD, Lumaret R. 1992. The evolutionary dynamics of polyploid plants: origins, establishment, and persistence. Trends Eco. Evol. 7: 302–7.

Trinajstić I., Papeš D., Ladika D. 1979. Morfološka i kariološka analiza vrsta roda Ficaria Dill. (Ranunculaceae) u flori Jugoslavije. Acta Biol. Jugosl. 5: 23–31.

Tröhler A. 1976. Zytotaxonomische Untersuchungen an Ranunculus ficaria L. 33: 21-28

Tutin T. G. Heywood V. H. Burges N. A. Valentine D. H. Walters S. M. & Webb D. 1964. Flora Europaea. Vol. 1. Cambridge University Press: 269–286.

Tutin T.G., Cook C.D.K. 1993. Ranunculus. In: Tutin T.G., Heywood V.H., Burges N.A., Valentine D.H., Walters S.M., Webb D.A. (Eds.) Flora Europaea I: Psilotaceae to Platanaceae. second ed. Cambridge University Press: 269–290.

Vallejo-Marín M, Hiscock SJ. 2016. Hybridization and hybrid speciation under global change. New Phytol. 211: 1170–1187.

Vázquez F. M. 2016. Aproximación al conocimiento del género Ficaria Huds., (Ranunculaceae) en Extremadura, España. Folia Botanica Extremadurensis 9: 16-23

Veldkamp J-F. 2015. De nomenclatuur van Speenkruiden (Ficaria verna Huds. sl, Ranunculaceae). Gorteria 37: 84–116.

Veselá E. 1969. Beitrag zur Taxonomie der Art Ficaria verna Huds. Preslia. 41: 313–322.

Verheyen K, Hermy M. 2004. Recruitment and growth of herb-layer species with different colonizing capacities in ancient and recent forests. J. Veg. Sci. 15: 125–134.

Webb T. Bartlein JP. 1992. Global changes during the last 3 million years: climatic climatic controls and biotic responses. Annu. Rev. Ecol. Syst. 23: 141–173

Whitney KD, Ahern JR, Campbell LG, Albert LP, King MS. 2010. Paterns of hybridization in plants. Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst. 12: 175–182.

Whittemore A. 1997. Ranunculus. In: Flora of North America Committee (Eds.), Flora of North America, North of Mexico. vol. 3. Magnoliophyta: Magnoliidae and Hamamelidae. Oxford University Press. New York. 88–135

Wolfe KH. 2001. Yesterday's polyploids and the mystery of diploidization. Nat. Rev. Genet. 2: 333–341.

Wood TE, Takebayashi N, Barker MS, Mayrose I, Greenspoon PB, Rieseberg LH. 2009. The frequency of polyploid speciation in vascular plants. Proc. Natl. Acad. Sci. 106: 13875–13879.

Yakimowski SB, Rieseberg LH. 2014. The role of homoploid hybridization in evolution: A century of studies synthesizing genetics and ecology. Am. J. Bot. 101: 1247–1258.

Zonneveld B. 2015. De verschillende genoomgewichten van Europese Ficaria Huds. (Ranunculaceae) duiden op acht soorten. Grteria 37: 118–139.

Příloha 1: Přehled lokalit studovaných taxonů

Taxon	Ploidie	Populace	Stát	Obec	GPS	Nadm. výška	Popis lokality
FVC	2x	11_01	CZ	Plumlov	49°27'17.000" 17°1'19.000"	280	mezofilní okraj křovin podél potoka
FVC	2x	12_12	CZ	Vinary	50°17'13.000" 15°26'1.000"	268	mezofilní louka
FVC	2x	12_16	CZ	Horky u Milotic	48°56'37.000" 17°8'5.000"	225	trávník v amfiteátru
FVC	2x	12_17	CZ	Dobelice	49°1'1.000" 16°16'19.000"	257	listnatý les (akátina) kolem silnice na okraji obce
FVC	2x	12_21	H		47°41'25.000" 16°31'15.000"	250	mezofilni louka
FVC	2x	14_01	H	Tiszasas	46°49'52.000" 20°5'31.000"	90	suchý trávník
FVC	2x	14_03	SK	Nitra	48°17'55.000" 18°5'28.000"	500	suchý trávník
FVC	2x	15_17	MNE	Vladni	42°20,262" 019°17,516"	30	slabě mezofilní louka na úpatí xerotermní stráně, heliofilní
FVC	2x	15_19	MNE	Cetinje	42°23,742" 018°50,528"	1466	xerotermní, skalnatá stráň
FVC	2x	15_22	BiH	Neum	42°54'43.260" 17°37'41.940"	27	okraj řídkých až roztroušených křovin podél luční cesty, heliosciofilní až heliofilní
FVC	2x	16_05	HR	Starigrad	44°17'12.22" 15°27'8.10"	11	zahradní trávník na okraji města
FVC	4x ?	17_85A	GR	Kato Milia	40°14'10.304" 22°19'43.294"	190	řídký pastevní les podél potoka
FVC	4x	17_88	GR	Agios Nikolaos	38°53'31.0" 21°52'42.8"	1174	travnatá deprese kolem silnice, heliofilní
FVC	2x	RA	GR		38°02'07.2" 22°15'11.8"	940	sad s přilehající loukou, heliosciofilní
FVC	2x	17_92	GR	Chouni	38°50'17.1" 21°32'27.2"	610	travnatý svah u silnice, heliofilní

FVC	4x ?	17_96	GR		38°02'07.2"	22°15'11.8"	940	sad s přilehající loukou, heliosciofilní
FVC	2x	RA*	CZ	Rakvice	48°50'32.900"	16°49'13.700"	161	protipovodňový val zarostlý křovinami u polní cesty poblíž jezera
FVFE	2x	12_01	GB	Aberdeen	57°8'16.000"	-2°3'2.160"	47	okraj města
FVFE	2x	12_03	GB	Newtonhill	57°2'12.000"	-2°8'49.000"	-	pás listantých stromů v obci
FVFE	2x	14_11	I	Sicily	37°51'39"	14°04'24"	-	okraj silnice podél listnatého lesa
FVFE	2x	14_12	I	Sicily	37°35'29.507"	14°11'7.053"	260	listnatý les (habřina na svahu), sciofilní
FVFE	2x	16_27	F	Chuzelles	45°35'35.304"	4°51'25.128"	266	travnatý okraj silnice u skupiny listnatých stromů, heliosciofilní
FVFE	2x	16_30	F	Mercurol	45°5'40.236"	4°53'36.996"	28	břeh potoka lemovaného olšemi, sciofilní
FVFE	2x	16_37	F	Gassin	43°13'28.776"	6°34'17.184"	28	břeh potoka lemovaného olšemi, sciofilní
FVFO	2x	17_96	GR	Kato Lousi	38°01'01.3"	22°12'58.3"	11	okraj silnice
FVCH	4x?	17_98	GR	Velo	37°59'40.5"	22°45'51.5"	3	trávník podél strouhy
FVK	?	15_07	TR	Palandöken	39°50'56.000"	41°17'3.000"	2100	alpinský trávník
FVV	4x	11_01*	CZ	Plumlov	49°27'17.000"	17°1'19.000"	280	mezofilní okraj křovin podél potoka
FVV	4x	11_02	A	Nagelberg near Gmünd	48°50'28.000"	14°59'46.000"	510	okraj lesní cesty v lužním lese u jezera
FVV	4x	12_01**	GB	Aberdeen	57°8'16.000"	-2°3'2.160"	48	okraj města
FVV	4x	12_02	GB	Aberdeen	57°7'42.000	-2°7'31.000"	22	centrum města
FVV	4x	12_04	GB	Newtonhill	57°1'57.000"	-2°8'55.000"	59	centrum města
FVV	4x	12_14	CZ	Domanice	49°54'22.000"	16°3'35.000"	355	mezofilní louka na okraji obce
FVV	4x	12_17*	CZ	Dobelice	49°1'1.000"	16°16'19.000"	258	listnatý les (akátina) kolem silnice na okraji obce
FVV	4x	13_04	H	Sajkod	46°54'42.000"	17°51'19.000"	220	mezofilní mez

FVV	4x	14_13	BG	Sofia	42°37'12.720"	23°17'58.260"		listnatý les (doubrava s příměsí habru)
FVV	4x	15_08	SRB	Bačevci	44° 08' 59,73"	19° 54' 42,28"	417	mezofliní listnatý lesík (olše) podél potoka a mezofilní remízek s lískou, sciofilní
FVV	4x	15_11	MNE	Kosanica	43°09,909"	019°17,179"	905	listnatý les (habřina), sciofilní
FVV	4x	15_18	MNE	Bukovik	42°12,675"	019°00,254"	628	lesík
FVV	4x	15_23	HR	Murvica	44°09,141"	015°20,134"	63	břeh příkopu s vodou lemovaný křovinami, sciofilní
FVV	4x, 3x, 2x	15_24	HR	Zagraj	45°33'33,63"	015°36'35,96"	116	okraj lesa (doubrava) u křovin, helioscifilní
FVV	4x?	15_27	HR	Štrigova	46°29'34"	16°16'37"	210	mezofilní louka podél cesty
FVV	4x	16_03	D	Altenbamberg	49°47'39.000"	7°49'18.000"	210	mezofilní okraj lesní cesty podél potoka
FVV	3x	16_08	CH	Brione	46°17'18.649"	8°47'49.904"	705	břeh podhorského toku porostlý listnatým lesem
FVV	4x	16_16	D	Neudorf	49°50'42.540"	10°23'46.464"	275	mezofilní lesík (olše) podél potoka
FVV	4x	16_21	D	Würmersheim	48°56'19.536"	8°14'30.840"	100	mezofilní příkop (sníženina) v listnatém smíšeném lesem (lipohabrová doubrava s jilmem), sciofilní
FVV	4x	16_24	F	Chaudefontanie	47°20'20.904"	6°9'29.808"	290	travnatý okraj mezi parkovištěm a lesíkem, heliosciofilní
FVV	4x	16_32	F	Lapalud	44°18'40.428"	4°41'3.840"	45	mezofilní rákosina, heliofilní
FVV	4x	16_36	F	Hyeres	43°9'3.924"	6°8'16.116"	8	lesík (topol) podél toku, sciofilní
FVV	4x	16_43	I	Tetti Mecci	44°11'0.456"	7°33'45.972"	1131	smíšený listnatý les podél horské bystřiny
FVV	4x	16_45	I	Varazze	44°23'5.244"	8°33'16.776"	75	mezofilní louky a křoviny podél potoka

FVV	4x	16_47	I	Mocones	44°24'43.344"	9°13'24.168"	95	štěrkopísčitý náplav v lesíku podél potoka, sciofilní
FVV	4x	16_49	I	Baverino Castello	44°12'12.132"	9°48'17.568"	65	travnatý svah nad silnicí u vinice, heliofilní
FVV	4x	16_54	I	Valdalbero	44°16'42.096"	10°43'6.060"	599	lesík podél potoka, sciofilní
FVV	4x	16_56	I	San Michele Al Tagliamento	45°46'10.776"	12°59'7.728"	2	mezofilní příkop podél silnice, heliofilní
FVV	4x	16_73	FIN	Helsinki	60°10'31"	24°56'40"		zahradní trávník pod jehličnatými i listnatými stromy v botanické zahradě Helsinské University
FVV	4x	16_74	SK	Hlohovec	48°23'48"	17°51'03"	185	listnatý les
FVV	4x	16_88	RO	Cisnadie	45°40'12.7"	24°07'24.6"	941	smíšený les
FVV	4x	16_89A	FIN	Salo	60°23'41.892" 60°26'25.330"	23°4'31.082" 22°59'9.500"		jílovitá louka navýchodním břehu řeky
FVV	4x	16_93	SWE	Kågeröd	55°59'47.983"	13°5'23.491"	50	listnatý les
FVV	4x	16_95	PL	Radojewo	52°29'44.2"	16°57'19.7"	113	mezofilní listnatý les na svahu, hlinitopísčitý substrát
FVV	4x	16_96	LT	Plokščiai	55°4'27.000"	23°10'32.000"	60	mezofilní listnatý les na svahu, hlinitopísčitý substrát
FVV	4x	16_99	LT	Vilnius	54°41'45.000"	25°18'25.000"	120	městský park ve Vilnius
FVV	4x	17_47	F	Le Cheix	45°46'34.404"	3°1'10.683"	750	okraj cesty ve městě
FVV	4x	RA*	CZ	Rakvice	48°50'32.900"	16°49'13.700"	162	protipovodňový val zarostlý křovinami u polní cesty poblíž jezera

FVFI	4x	16_40	F	Carros	43°46'29.064"	7°12'57.780"	70	mezofilní kanál podél silnice, heliofilní
FVFI	4x, 5x	16_59	SK	Izola	45°32'24.432"	13°40'54.912"	9	mezofilní příkop u vinice, heliofilní
FVFI	4x?	17_108	BG	Provadia	43°08'51.5"	27°27'23.6"	36	les (habřina na svahu)
FVC x FVV	3x	11_01*	CZ	Plumlov	49°27'17.000"	17°1'19.000"	280	okraj vlhkých křovin podél potoka
FVC x FVV	3x	12_17*	CZ	Dobelice	49°1'1.000"	16°16'19.000"	256	akátina kolem silnice na okraji obce
FVC x FVV	3x	RA*	CZ	Rakvice	48°50'32.900"	16°49'13.700"	160	protipovodňový val zarostlý křovinami u polní cesty poblíž jezera

*sympatrická populace *F. verna* subsp. *calthifolia* a *F. verna* subsp. *verna*
**sympatrická populace *F. verna* subsp. *fertilis* a *F. verna* subsp. *verna*

FVC (2x) (diploidní cytotyp *F. verna* subsp. *calthifolia*), **FVC (4x)** (tetraploidní cytotyp *F. verna* subsp. *calthifolia)*, **FVFE (2x)** (diploidní cytotyp *F. verna* subsp. *fertilis*), **FVFO (2x)** (diploidní cytotyp *F. verna* subsp. *ficaroides*), **FVCH (4x)** (tetraploidní cytotyp *F. verna* subsp. *chrysocephalla*), **FVK** *(F. verna* subsp. *kochii*), **FVV (2x)** (diploidní cytotyp *F. verna* subsp. *verna*), **FVV (3x)** (triploidní cytotyp *F. verna* subsp. *verna*), **FVV (4x)** (tetraploidní cytotyp *F. verna* subsp. *verna*), **FVFI (4x)** (tetraploidní cytotyp *F. verna* subsp. *ficariiformis*), **FVFI (5x)** (pentaploidní cytotyp *F. verna* subsp. *ficariiformis*), **FVC x FVV (3x)** (triploidní hybrid *F. verna* subsp. *calthifolia* a *F. verna* subsp. *verna*)

Příloha 2: Přehled jedinců studovaných taxonů, u nichž byla stanovena absolutní velikost genomu

Taxon	Jedinec	Ploidie*	2C DNA [pg]**	1Cx DNA [pg]**
FVC	11_01_2	2x	13,985	6,993
FVC	11_01_3	2x	14,441	7,220
FVC	11_01_4	2x	14,292	7,146
FVC	12_12_2	2x	14,090	7,045
FVC	12_12_3	2x	14,123	7,062
FVC	12_12_4	2x	14,132	7,066
FVC	12_16_2	2x	14,063	7,031
FVC	12_16_3	2x	14,046	7,023
FVC	12_16_4	2x	14,131	7,065
FVC	12_17_11	2x	13,912	6,956
FVC	12_17_3	2x	14,014	7,007
FVC	12_17_6	2x	14,293	7,146
FVC	12_21_1	2x	14,540	7,270
FVC	12_21_2	2x	14,338	7,169
FVC	14_01_1	2x	14,292	7,146
FVC	14_01_2	2x	14,425	7,213
FVC	14_01_4	2x	14,420	7,210
FVC	14_03_1	2x	14,304	7,152
FVC	14_03_3	2x	14,133	7,067
FVC	15_17_1	2x	15,391	7,695
FVC	15_17_2	2x	15,527	7,764
FVC	15_17_3	2x	15,576	7,788
FVC	15_22_1	2x	15,315	7,658
FVC	15_22_3	2x	15,097	7,548
FVC	15_22_5	2x	15,163	7,582
FVC	16_05_1	2x	15,091	7,545
FVC	16_05_8	2x	15,448	7,724
FVC	17_85A_4	4x	29,377	7,344
FVC	17_85A_5	4x	29,111	7,278
FVC	17_85A_8	4x	30,213	7,553
FVC	17_88_2	2x	15,536	7,768
FVC	17_88_5	2x	15,531	7,766
FVC	17_92_1	2x	15,387	7,694
FVC	17_92_10	2x	15,544	7,772
FVC	17_96_3	4x	29,711	7,428
FVC	RA1	2x	14,591	7,296
FVFE	12_01_1A	2x	19,135	9,567
FVFE	12_01_1B	2x	19,038	9,519
FVFE	12_01_2B	2x	19,290	9,645
FVFE	12_03_1B	2x	19,914	9,957
FVFE	12_03_2A	2x	20,357	10,178
FVFE	14_11_1	2x	19,466	9,733
FVFE	14_12_1	2x	19,724	9,862
FVFE	16_37_1	2x	19,688	9,844
FVFE	16_37_2	2x	19,415	9,708
FVFO	17_95_1	2x	18,162	9,081
FVFO	17_95_2	2x	18,160	9,080
FVCH	17_97_1	4x	30,063	7,516
FVCH	17_97_2	4x	30,250	7,562
FVCH	17_97_3	4x	30,525	7,631
FVK	15_06_1	?	27,281	?
FVV	11_01_14	4x	30,470	7,618

FVV	11_01_56	4x	31,023	7,756
FVV	11_01_6	4x	31,045	7,761
FVV	11_02_1	4x	30,531	7,633
FVV	11_02_2	4x	30,349	7,587
FVV	11_02_3	4x	30,450	7,613
FVV	12_01_3	4x	34,120	8,530
FVV	12_01_4	4x	34,614	8,653
FVV	12_02_1	4x	34,407	8,602
FVV	12_02_2	4x	34,324	8,581
FVV	12_02_3	4x	34,768	8,692
FVV	12_04_1	4x	34,259	8,565
FVV	12_04_2	4x	34,388	8,597
FVV	12_04_3	4x	34,311	8,578
FVV	12_14_3	4x	30,202	7,551
FVV	12_14_6	4x	29,889	7,472
FVV	12_14_7	4x	30,283	7,571
FVV	12_17_17	4x	30,312	7,578
FVV	12_17_54	4x	31,095	7,774
FVV	13_04_2	4x	29,710	7,427
FVV	13_04_3	4x	30,310	7,577
FVV	13_04_4	4x	30,139	7,535
FVV	13_04_5	4x	30,558	7,640
FVV	14_13_1	4x	29,216	7,304
FVV	14_13_2	4x	29,200	7,300
FVV	14_13_3	4x	29,883	7,471
FVV	15_08_1	4x	30,651	7,663
FVV	15_08_2	4x	30,325	7,581
FVV	15_08_4	4x	30,272	7,568
FVV	15_11_1	4x	29,399	7,350
FVV	15_11_2	4x	29,617	7,404
FVV	15_11_4	4x	30,127	7,532
FVV	15_11_5	4x	28,631	7,158
FVV	15_18_1	4x	29,495	7,374
FVV	15_18_3	4x	29,474	7,369
FVV	15_18_5	4x	29,549	7,387
FVV	15_23_1	4x	30,322	7,581
FVV	15_23_2	4x	30,421	7,605
FVV	15_23_5	4x	30,331	7,583
FVV	15_24_7	4x	30,572	7,643
FVV	15_24_1	3x	23,258	7,753
FVV	15_24_2	2x	15,770	7,885
FVV	15_24_3	3x	23,319	7,773
FVV	15_24_4	3x	23,279	7,760
FVV	15_24_5	2x	15,734	7,867
FVV	15_24_6	3x	24,152	8,051
FVV	16_03_2	4x	32,345	8,086
FVV	16_03_3	4x	32,276	8,069
FVV	16_03_4	4x	32,227	8,057
FVV	16_08_1	3x	25,397	8,466
FVV	16_08_3	3x	25,390	8,463
FVV	16_08_4	3x	25,365	8,455
FVV	16_08_5	3x	25,185	8,395
FVV	16_16_5	4x	31,190	7,798
FVV	16_21_2	4x	31,633	7,908

FVV	16_21_6	4x	31,371	7,843
FVV	16_21_7	4x	31,502	7,876
FVV	16_24_2	4x	32,339	8,085
FVV	16_24_4	4x	31,744	7,936
FVV	16_24_5	4x	32,465	8,116
FVV	16_32_2	4x	35,385	8,846
FVV	16_32_3	4x	35,524	8,881
FVV	16_32_4	4x	35,386	8,847
FVV	16_36_3	4x	32,948	8,237
FVV	16_36_4	4x	33,042	8,260
FVV	16_36_6	4x	33,982	8,495
FVV	16_43_2	4x	32,545	8,136
FVV	16_43_3	4x	32,490	8,122
FVV	16_43_4	4x	32,912	8,228
FVV	16_45_1	4x	33,483	8,371
FVV	16_45_2	4x	33,885	8,471
FVV	16_45_7	4x	32,885	8,221
FVV	16_47_3	4x	32,868	8,217
FVV	16_47_4	4x	32,996	8,249
FVV	16_49_2	4x	31,803	7,951
FVV	16_49_3	4x	31,899	7,975
FVV	16_49_6	4x	32,200	8,050
FVV	16_54_1	4x	30,648	7,662
FVV	16_54_3	4x	30,818	7,705
FVV	16_54_4	4x	30,800	7,700
FVV	16_56_4	4x	30,849	7,712
FVV	16_56_5	4x	29,469	7,367
FVV	16_73_3	4x	31,144	7,786
FVV	16_73_6	4x	30,996	7,749
FVV	16_73_7	4x	31,548	7,887
FVV	16_74_1	4x	30,977	7,744
FVV	16_74_4	4x	30,342	7,586
FVV	16_74_6	4x	30,342	7,586
FVV	16_88_2	4x	30,965	7,741
FVV	16_88_4	4x	30,535	7,634
FVV	16_89A_3	4x	29,613	7,403
FVV	16_89A_4	4x	30,360	7,590
FVV	16_89A_6	4x	30,135	7,534
FVV	16_89A_7	4x	30,225	7,556
FVV	16_93_1	4x	31,886	7,972
FVV	16_93_6	4x	31,944	7,986
FVV	16_95_3	4x	30,510	7,628
FVV	16_95_4	4x	30,858	7,715
FVV	16_95_6	4x	31,460	7,865
FVV	16_96_1	4x	30,367	7,592
FVV	16_96_2	4x	30,679	7,670
FVV	16_96_3	4x	30,869	7,717
FVV	16_99_2	4x	30,849	7,712
FVV	17_47_2	4x	33,564	8,391
FVV	17_47_3	4x	34,015	8,504
FVV	17_47_4	4x	33,773	8,443
FVV	RA34	4x	30,977	7,744
FVV	RA4	4x	30,155	7,539
FVV	RA41	4x	30,572	7,643

FVFI	16_40_2	4x	34,628	8,657
FVFI	16_40_4	4x	34,372	8,593
FVFI	16_40_5	4x	33,878	8,469
FVFI	16_59_1	4x	29,469	7,367
FVFI	16_59_2	4x	29,830	7,457
FVFI	16_59_3	4x	30,790	7,697
FVFI	16_59_6	5x	37,196	7,439
FVFI	17_108_2	4x	29,978	7,495
FVFI	17_108_7	4x	29,984	7,496
FVC x FVV	11_01_10	3x	22,346	7,449
FVC x FVV	11_01_18	3x	21,095	7,032
FVC x FVV	11_01_23	3x	21,316	7,105
FVC x FVV	12_17_10	3x	20,476	6,825
FVC x FVV	12_17_12	3x	22,122	7,374
FVC x FVV	12_17_4	3x	22,090	7,363
FVC x FVV	12_17_53	3x	22,845	7,615
FVC x FVV	RA2	3x	21,709	7,236
FVC x FVV	RA8	3x	22,269	7,423
FVC x FVV	RA10	3x	21,974	7,325

*hodnota stanovena odhadem z velikosti genomu
**průměrná hodnota tří vzájemně nezávislých měření
FVC (2x) (diploidní cytotyp *F. verna* subsp. *calthifolia*), **FVC (4x)** (tetraploidní cytotyp *F. verna* subsp. *calthifolia)*, (**FVFE (2x)** (diploidní cytotyp *F. verna* subsp. *fertilis*), **FVFO (2x)** (diploidní cytotyp *F. verna* subsp. *ficaroides*), **FVCH (4x)** (tetraploidní cytotyp *F. verna* subsp. *chrysocephalla*), **FVK** *(F. verna* subsp. *kochii*), **FVV (2x)** (diploidní cytotyp *F. verna* subsp. *verna*), **FVV (3x)** (triploidní cytotyp *F. verna* subsp. *verna*), **FVV (4x)** (tetraploidní cytotyp *F. verna* subsp. *verna*), **FVFI (4x)** (tetraploidní cytotyp *F. verna* subsp. *ficariiformis*), **FVFI (5x)** (pentaploidní cytotyp *F. verna* subsp. *ficariiformis*), **FVC x FVV (3x)** (triploidní hybrid *F. verna* subsp. *calthifolia* a *F. verna* subsp. *verna*) **2C DNA** (absolutní velikost genomu), **1Cx DNA** (monoploidní velikost genomu)

Příloha 3: Přehled jedinců studovaných taxonů, u nichž byla stanovena délka průduchů

Taxon	**Jedinec**	**Ploidie***	**Délka průduchů [µm]****
FVC	11_01_2	2x	43,418
FVC	11_01_3	2x	50,371
FVC	11_01_4	2x	44,498
FVC	12_12_2	2x	46,466
FVC	12_12_3	2x	52,423
FVC	12_12_4	2x	51,318
FVC	12_16_2	2x	51,175
FVC	12_16_3	2x	54,082
FVC	12_16_4	2x	50,730
FVC	12_17_11	2x	46,775
FVC	12_17_3	2x	54,231
FVC	12_21_1	2x	51,844
FVC	14_01_2	2x	52,828
FVC	14_03_1	2x	53,642
FVC	15_17_1	2x	48,552
FVC	15_17_2	2x	49,929
FVC	15_17_3	2x	54,655
FVC	15_19_1	2x	51,552
FVC	15_19_4	2x	51,837
FVC	15_22_1	2x	59,929
FVC	15_22_3	2x	56,362
FVC	15_22_5	2x	56,305

FVC	16_05_1	2x	49,931
FVC	16_05_6	2x	54,649
FVC	16_05_8	2x	52,727
FVC	RA1	2x	46,861
FVC	RA15	2x	58,489
FVC	RA9	2x	47,948
FVFE	12_01_1A	2x	57,333
FVFE	12_01_2B	2x	60,054
FVFE	12_03_1B	2x	55,797
FVFE	12_03_2A	2x	60,897
FVFE	14_11_1	2x	52,162
FVFE	14_12_1	2x	50,714
FVFE	16_27_3	2x	59,831
FVFE	16_27_4	2x	59,496
FVFE	16_27_5	2x	59,197
FVFE	16_27_6	2x	54,889
FVFE	16_30_1	2x	54,468
FVFE	16_30_2	2x	55,604
FVFE	16_30_4	2x	55,051
FVFE	16_30_8	2x	56,253
FVFE	16_30_9	2x	52,598
FVFE	16_37_1	2x	59,271
FVFE	16_37_2	2x	56,598
FVFE	16_37_3	2x	60,109
FVFE	16_37_4	2x	58,080
FVFE	16_37_5	2x	57,455
FVV	11_01_14	4x	60,137
FVV	11_01_50	4x	73,790
FVV	11_01_6	4x	60,249
FVV	11_02_1	4x	62,086
FVV	11_02_2	4x	60,395
FVV	11_02_3	4x	61,550
FVV	12_01_3	4x	67,391
FVV	12_01_4	4x	71,456
FVV	12_02_1	4x	68,250
FVV	12_02_2	4x	66,472
FVV	12_02_3	4x	68,098
FVV	12_04_1	4x	70,472
FVV	12_04_2	4x	67,177
FVV	12_04_3	4x	72,128
FVV	12_14_3	4x	69,454
FVV	12_14_6	4x	66,243
FVV	12_14_7	4x	67,062
FVV	12_17_17	4x	65,088
FVV	12_17_54	4x	68,459
FVV	13_04_2	4x	68,000
FVV	13_04_5	4x	68,076
FVV	14_13_1	4x	58,447
FVV	14_13_2	4x	58,268
FVV	14_13_3	4x	67,121
FVV	15_08_1	4x	59,054
FVV	15_08_2	4x	56,365
FVV	15_08_4	4x	56,957
FVV	15_11_1	4x	58,893

FVV	15_18_1	4x	59,815
FVV	15_18_3	4x	60,844
FVV	15_18_5	4x	62,422
FVV	15_23_1	4x	63,110
FVV	15_23_2	4x	60,110
FVV	15_23_5	4x	61,506
FVV	15_24_1	3x	65,979
FVV	15_24_2	2x	57,519
FVV	15_24_3	3x	66,263
FVV	15_24_4	3x	62,257
FVV	15_24_5	2x	50,209
FVV	15_24_6	3x	64,821
FVV	15_27_7	2x	55,403
FVV	16_03_2	4x	65,380
FVV	16_03_3	4x	64,344
FVV	16_03_4	4x	69,436
FVV	16_08_3	3x	61,909
FVV	16_08_4	3x	58,837
FVV	16_08_5	3x	59,026
FVV	16_16_1	4x	69,889
FVV	16_16_4	4x	73,248
FVV	16_16_5	4x	76,669
FVV	16_21_2	4x	68,025
FVV	16_21_6	4x	69,487
FVV	16_21_7	4x	69,958
FVV	16_24_2	4x	72,673
FVV	16_24_4	4x	64,341
FVV	16_24_5	4x	65,902
FVV	16_32_2	4x	62,341
FVV	16_32_3	4x	60,327
FVV	16_32_4	4x	61,561
FVV	16_36_3	4x	64,898
FVV	16_36_4	4x	65,167
FVV	16_36_6	4x	64,420
FVV	16_43_2	4x	71,181
FVV	16_43_4	4x	74,142
FVV	16_45_1	4x	65,285
FVV	16_45_2	4x	69,046
FVV	16_45_7	4x	67,075
FVV	16_47_3	4x	64,772
FVV	16_47_4	4x	65,875
FVV	16_49_2	4x	65,927
FVV	16_49_3	4x	71,110
FVV	16_49_6	4x	73,138
FVV	16_54_1	4x	71,056
FVV	16_54_3	4x	65,918
FVV	16_54_4	4x	69,516
FVV	16_56_3	4x	67,214
FVV	16_56_4	4x	68,151
FVV	16_56_5	4x	67,602
FVV	16_73_3	4x	68,235
FVV	16_73_6	4x	65,662
FVV	16_73_7	4x	66,764
FVV	16_74_1	4x	72,387

FVV	16_74_4	4x	71,591
FVV	16_88_1	4x	69,544
FVV	16_88_3	4x	70,170
FVV	16_88_4	4x	72,688
FVV	16_89A_3	4x	65,481
FVV	16_89A_4	4x	66,148
FVV	16_89A_7	4x	67,595
FVV	16_93_1	4x	67,993
FVV	16_93_4	4x	66,125
FVV	16_93_6	4x	67,482
FVV	16_95_3	4x	69,546
FVV	16_95_4	4x	70,440
FVV	16_95_6	4x	70,072
FVV	16_96_1	4x	71,981
FVV	16_96_2	4x	70,318
FVV	16_96_3	4x	69,785
FVV	16_99_2	4x	67,505
FVV	16_99_8	4x	65,087
FVV	RA4	4x	60,723
FVV	RA41	4x	71,362
FVFI	16_40_2	4x	75,175
FVFI	16_40_4	4x	80,406
FVFI	16_40_5	4x	69,499
FVFI	16_59_1	4x	68,277
FVFI	16_59_2	4x	67,804
FVFI	16_59_3	4x	65,829
FVFI	16_59_4	5x	66,565
FVFI	16_59_6	5x	67,495
FVC x FVV	11_01_10	3x	54,566
FVC x FVV	11_01_18	3x	52,932
FVC x FVV	11_01_23	3x	53,331
FVC x FVV	12_17_10	3x	55,886
FVC x FVV	12_17_12	3x	59,945
FVC x FVV	12_17_4	3x	56,224
FVC x FVV	12_17_53	3x	63,585
FVC x FVV	RA2	3x	53,168
FVC x FVV	RA8	3x	58,781

*hodnota stanovena odhadem z velikosti genomu

**průměrná hodnota tří vzájemně nezávislých průměrů 20 měření na list

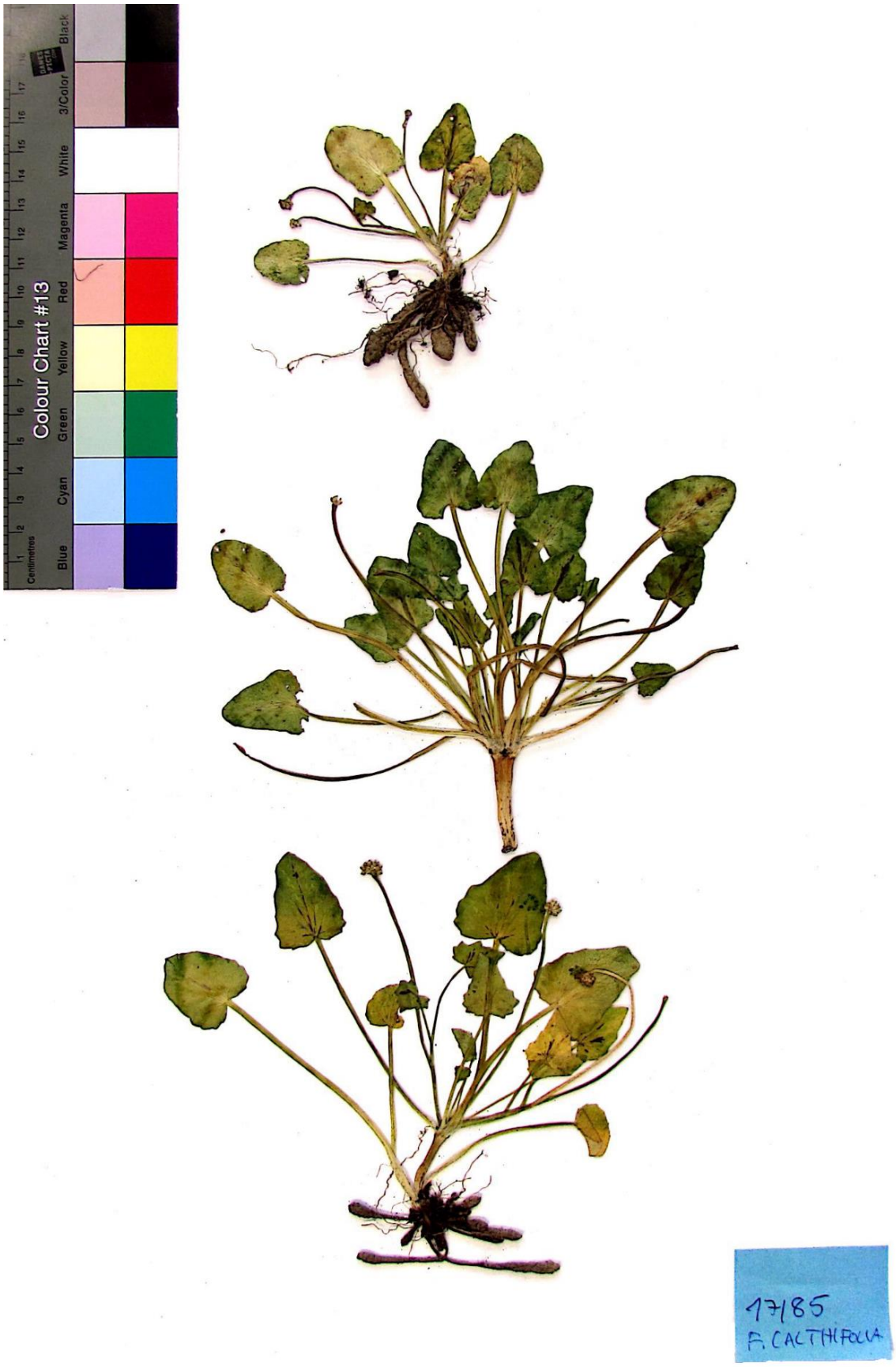
FVC (2x) (diploidní cytotyp *F. verna* subsp. *calthifolia*), **FVFE (2x)** (diploidní cytotyp *F. verna* subsp. *fertilis*), **FVV (2x)** (diploidní cytotyp *F. verna* subsp. *verna*), **FVV (3x)** (triploidní cytotyp *F. verna* subsp. *verna*), **FVV (4x)** (tetraploidní cytotyp *F. verna* subsp. *verna*), **FVFI (4x)** (tetraploidní cytotyp *F. verna* subsp. *ficariiformis*), **FVFI (5x)** (pentaploidní cytotyp *F. verna* subsp. *ficariiformis*), **FVC x FVV (3x)** (triploidní hybrid *F. verna* subsp. *calthifolia* a *F. verna* subsp. *verna*)

Příloha 4: Přehled jedinců studovaných taxonů, u nichž byly stanoveny počty chromosomů (Šiková 2014, Jandová (nepublikováno)

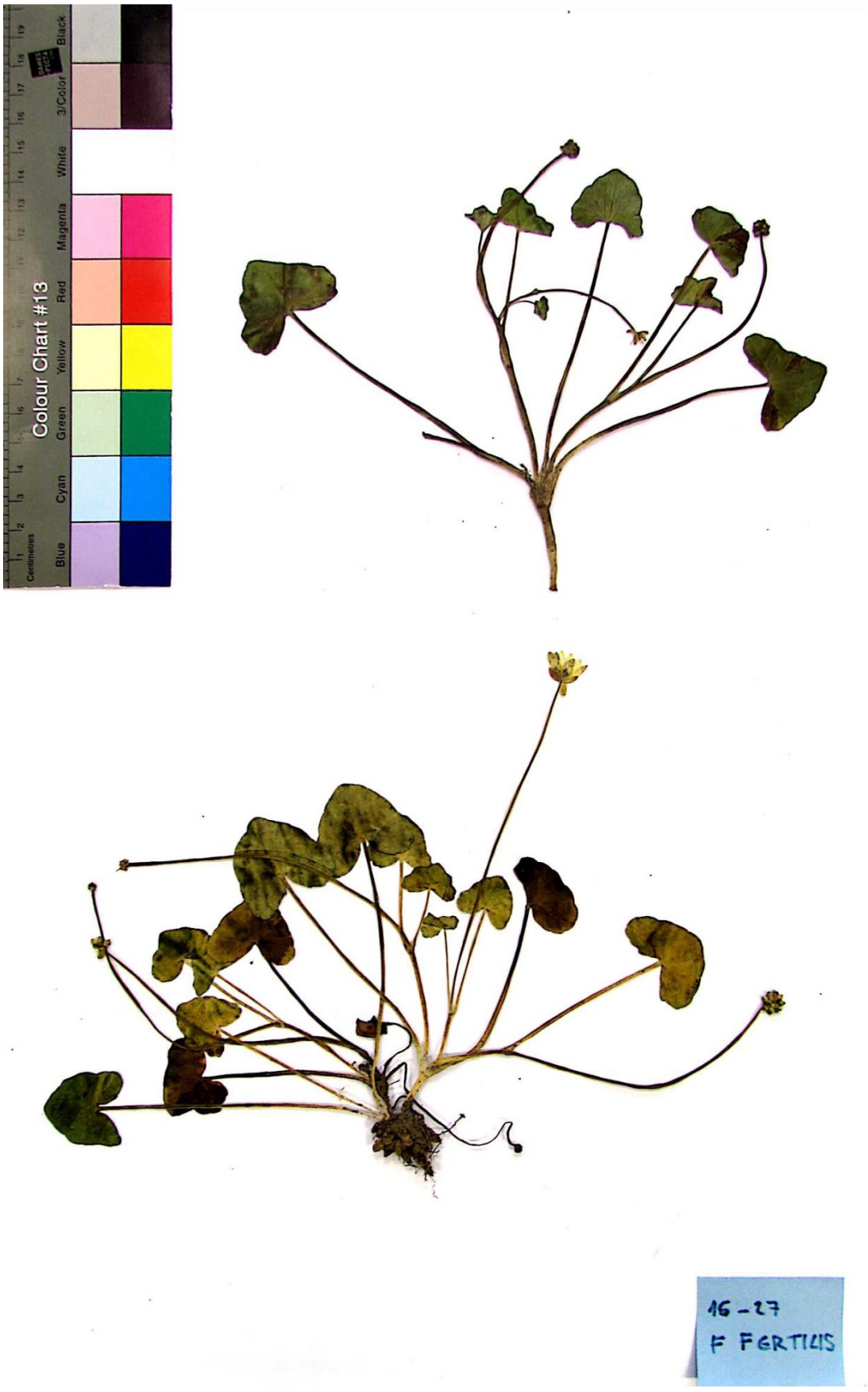
					standard			vzorek			
taxon	**jedinec**	**poloha**	**p,jader**	**CV**	**poloha**	**p, jader**	**CV**	**p,jader**	**2 C DNA**	**ploidie**	**p,chromosomů (2n)**
FVC	11_03_4	1731040,93	1416	2,56	955023,17	1899	3,09	5000	14,84	2x	16
FVC	12_17_14	1761282,09	1202	2,38	981897,07	2181	2,02	5000	14,99	2x	16
FVV	10_02_7	1056294,05	1309	2,93	1974545,24	990	2,18	5000	30,26	4x	32
FVV	12_17_20	990304,65	1160	3,08	1840810,27	995	3,24	5000	30,09	4x	32
FVV	12_17_8	1058327,16	1035	2,09	2000039,70	1268	2,3	5000	30,59	4x	32
FVV	15_24_2	1394470	1780	2,4566667	844828,19	1612	2,7	5000	15,77	2x	16
FVV	15_24_3	842091,83	1061	3,03	1212905,8	2185	2,5	5000	23,32	3x	24
FVV x FVC	10_02_5	1051257,82	665	1,9	1455733,68	1329	2,1	3050	22,42	3x	24
FVV x FVC	12_17_19	1088755,75	1141	2,36	1518590,58	1388	1,83	5000	22,58	3x	24
FVV x FVC	12_17_9	1082758,75	868	2,25	1516614,88	1467	1,81	5000	22,68	3x	24

FVC (*F. verna* subsp. *calthifolia*), **FVC x FVV** (hybrid *F. verna* subsp. *calthifolia* a *F. verna* subsp. *verna*), **FVV** (*F. verna* subsp. *verna*), **CV** (variační koeficient), **p**. (počet), **2C DNA** (absolutní velikost genomu),

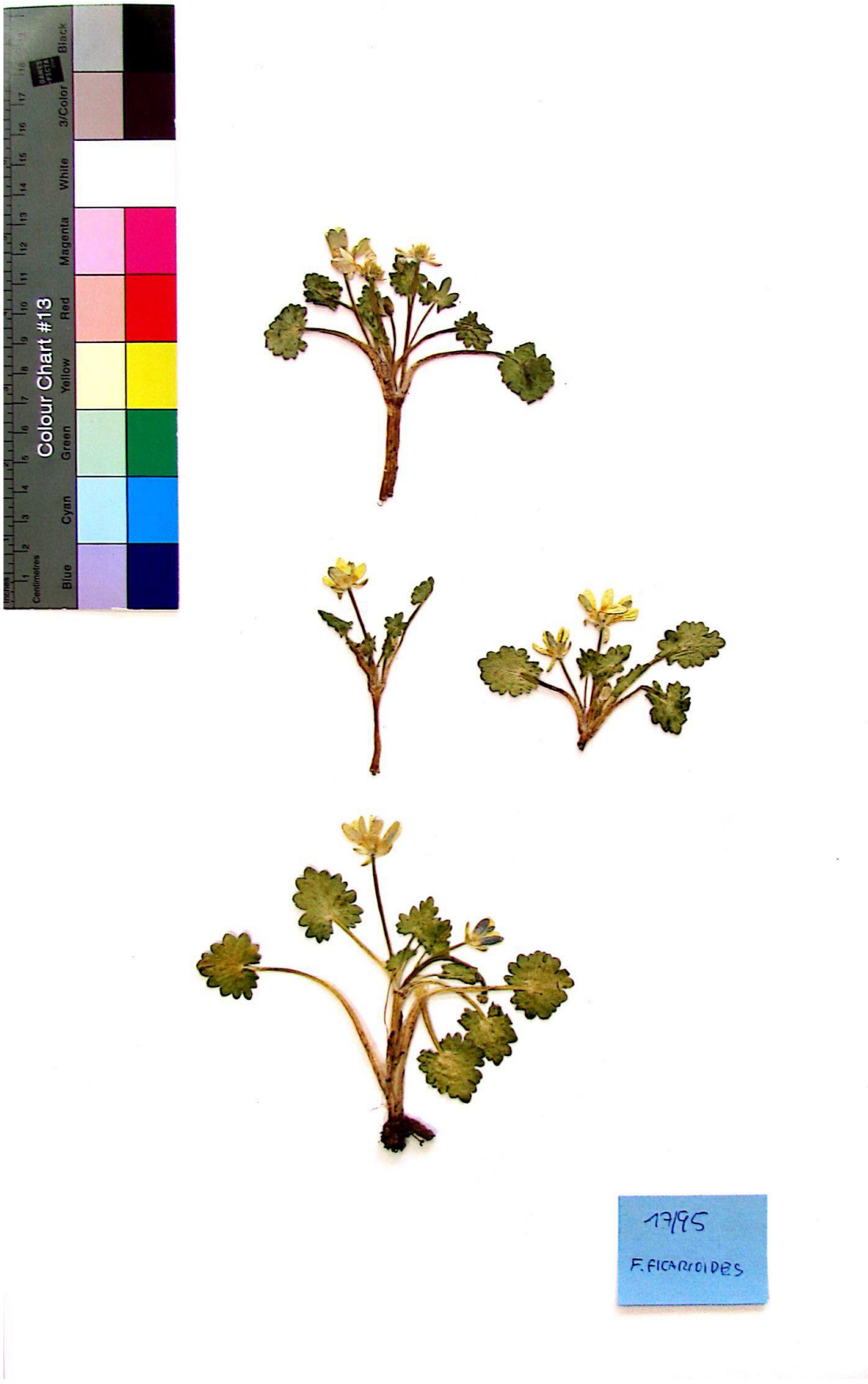
Příloha 5: Diploidní cytotyp *F. verna* subsp. *calthifolia*



Příloha 6: Tetraploidní cytotyp *F. verna* subsp. *calthifolia*



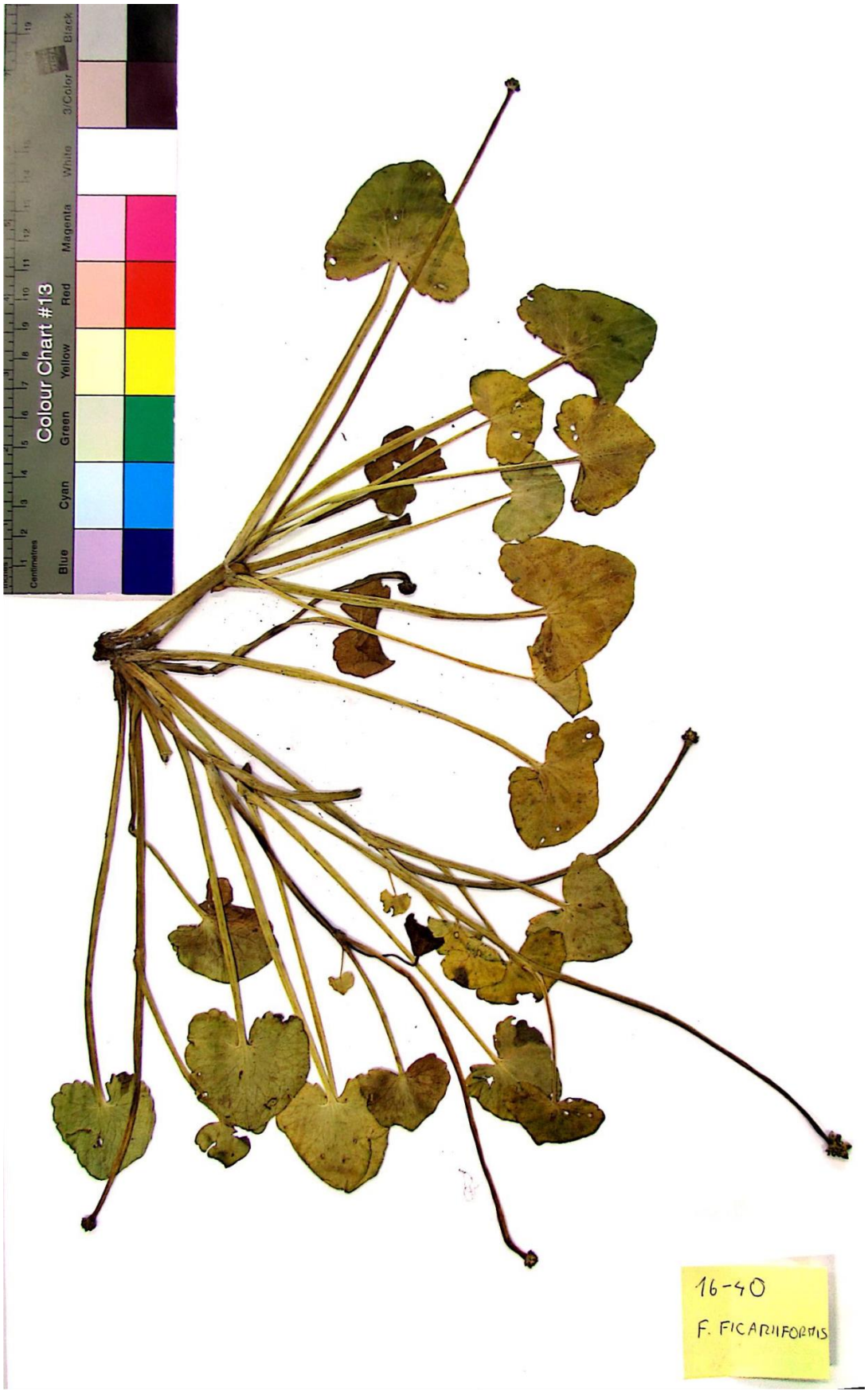
Příloha 7: Diploidní cytotyp *F. verna* subsp. *fertilis*



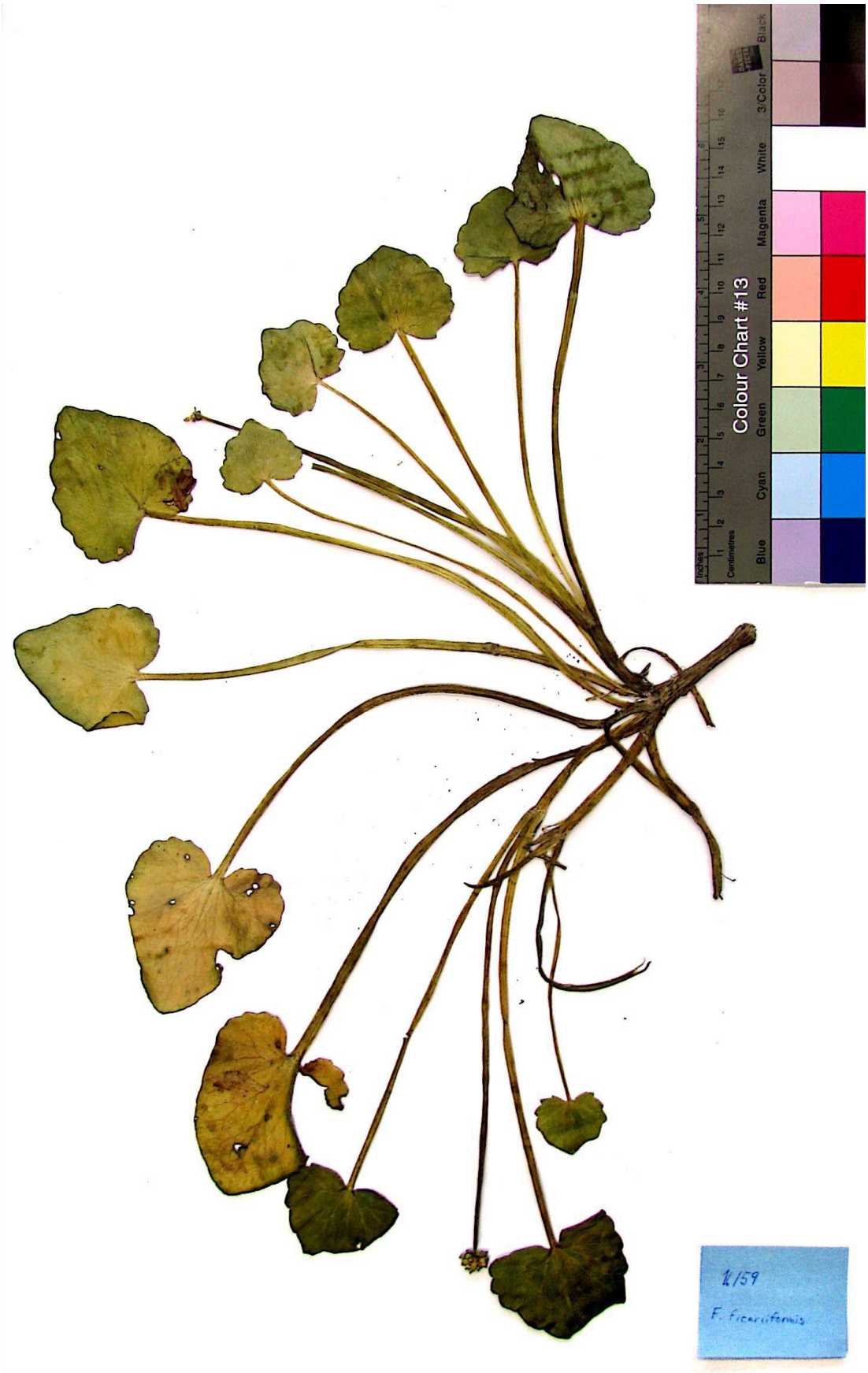
Příloha 8: Diploidní cytotyp *F. verna* subsp. *ficaroides*

Příloha 9: Tetraploidní cytotyp F. verna subsp. chrysocephala

Příloha 10: Tetraploidní cytotyp *F. verna* subsp. *verna*



Příloha 11: Tetraploidní cytotyp *F. verna* subsp. *ficariiformis*



Příloha 12: Pentaploidní cytotyp *F. verna* subsp. *ficariiformis*