



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-17-0616

Pôvod polyploidných komplexov: úloha polyploidizácie a geografickej a ekologickej izolácie

Zodpovedný riešiteľ **prof. RNDr. Karol Marhold, CSc.**

Príjemca **Centrum biológie rastlín a biodiverzity SAV, v. v. i.**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Centrum biológie rastlín a biodiverzity SAV, v.v.i.

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Praha (Česká republika)
Středoevropský technologický institut (CEITEC) a Masarykova Univerzita v Brně (Česká republika)
Hacettepe University, Faculty of Science, Department of Biology, Ankara (Turecko)
Center for Ecological Research, Kyoto University, Hirano, Otsu, Shiga (Japan)

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

Patenty alebo patentové prihlášky neboli udelené

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

Cetlová, V., Fuertes-Aguilar, J., Iudova, D. & Španiel, S., 2019: Overlooked morphological variation and a proposal for a new taxonomic circumscription of *Alyssum simplex* (Brassicaceae). – *Phytotaxa* 416 (2): 149–166. <http://dx.doi.org/10.11646/phytotaxa.416.2.3>
Melichárková, A., Španiel, S., Marhold, K., Hurdu, B.-J., Drescher, A. & Zozomová-Lihová, J., 2019: Diversification and independent polyploid origins in the disjunct species *Alyssum repens* from the Southeastern Alps and the Carpathians. – *American Journal of Botany* 106: 1499–1518. <https://doi.org/10.1002/ajb2.1370>
Španiel, S., 2019: Two new combinations and a new synonym in the v genus *Odontarrhena* (Brassicaceae). – *Phytotaxa* 406 (4): 250–254. <http://dx.doi.org/10.11646/phytotaxa.406.4.4>
Zozomová-Lihová, J., Melichárková, A., Svitok, M. & Španiel, S., 2020: Pleistocene range disruption and postglacial expansion with secondary contacts explain the genetic and cytotype structure in the western Balkan endemic *Alyssum austrodalmaticum* (Brassicaceae). – *Plant Systematics and Evolution* 306: 47 <https://doi.org/10.1007/s00606-020-01677-5>
Cetlová, V., Zozomová-Lihová, J., Melichárková, A., Mártonfiiová, L. & Španiel, S., 2021: Multiple drivers of high species diversity and endemism among *Alyssum* annuals (Brassicaceae) in the Aegean hotspot. – *Frontiers in Plant Science* 12: 627909.

<https://doi.org/10.3389/fpls.2021.627909>

Melichárková, A., Šlenker, M., Zozomová-Lihová, J., Skokanová, K., Šingliarová, B., Kačmárová, T., Caboňová, M., Kempa, M., Šrámková, G., Mandáková, T., Lysak, M.A., Svitok, M., Mártonfiiová, L. & Marhold, K., 2020: So closely related and yet so different: Strong contrasts between the evolutionary histories of species of the *Cardamine pratensis* polyploid complex in Central Europe. – *Frontiers in Plant Sciences* 11: 588856.

<https://doi.org/10.3389/fpls.2020.588856>

Honjo, M. N., Marhold, K. & Kudoh, H., 2020: Experimental evaluation of differences in plastic phenotypes between *Cardamine fallax* and *C. occulta*: Effects of seasonality on phenology and gross morphology. – *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica* 70: 23–32.

<https://doi.org/10.18942/apg.201912>

Ducháček, M., Šumberová, K., Marhold, K., Šlenker, M., Doležal, J., Kúr, P., Krahulec, F., Velebil, J. & Somins, E., 2020: *Cardamine occulta* – nový záhadný plevelný druh řeřišnice na území České republiky (*Cardamine occulta* – a new mysterious weedy *Cardamine* species in the Czech Republic). – *Zprávy České botanické společnosti* 55: 1–26.

Šlenker, M., Kantor, A., Marhold, K., Schmickl, R., Mandáková, T., Lysak, M.A., Perný, M., Caboňová, M., Slovák, M. & Zozomová-Lihová, J., 2021: Allele sorting as a novel approach to resolving the origin of allotetraploids using Hyb-Seq data: A case study of the Balkan mountain endemic *Cardamine barbaraoides*. – *Frontiers in Plant Science* 12: 659275.

<https://doi.org/10.3389/fpls.2021.659275>

Šlenker, M., Perný, M., Zozomová-Lihová, J. & Marhold, K., 2021: Taxonomic position and circumscription of *Cardamine barbaraoides* (Brassicaceae), a systematically challenging taxon from the Balkan Peninsula. – *Phytotaxa* 502: 111–132.

<https://doi.org/10.11646/phytotaxa.502.2.1>

Padilla-García, N., Šrámková, G., Záveská, E., Šlenker, M., Clo, J., Zeisek, V., Lučanová, M., Rurane, I., Kolář, F., & Marhold, K., 2023: The importance of considering the evolutionary history of polyploids when assessing climatic niche evolution. – *Journal of Biogeography*. 50: 86–100. <https://doi.org/10.1111/jbi.14496>

Šlenker, M., Koutecký, P. & Marhold, K., 2022: MorphoTools2: an R package for multivariate morphometric analysis. – *Bioinformatics* 38: 2954–2955.

<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btac173>

Španiel, S. & Rešetnik, I. 2022: Plant phylogeography of the Balkan Peninsula: spatio-temporal patterns and processes. – *Plant Systematics and Evolution* 308: art. no. 38.

<https://doi.org/10.1007/s00606-022-01831-1>

Uplatnenie výsledkov projektu

Výsledky projektu neboli zatiaľ uplatnené

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

Projekt bol zameraný na mikroevoľučné a špeciálne procesy v diploidno-polyploidných komplexoch patriacich do čeľade Brassicaceae, konkrétne v rodoch *Alyssum*, *Arabidopsis*, *Cardamine* and *Odontarrhena*.

Zistili sme, že polyploidné cytotypy v polyploidnom komplexe *Cardamine pratensis* vznikli jednorázovými, ako aj polytopickými polyploidizačnými udalosťami. Príkladom z tohto komplexu je tetraploidný druh *C. majovskyi*, ktorý vznikol najmenej dvakrát v rôznych častiach areálu autopolyploidizáciou genómu diploidného druhu *C. matthioli*. Rozsiahla genetická variabilita a tiež variabilita vo veľkosti genómu druhu *C. rivularis* odráža diferenciáciu spôsobenú geografickou izoláciou disjunktných populácií, vznikom triploidov rôzneho pôvodu a hybridizáciou so sympatrickým druhom *C. matthioli*. Geograficky štruktúrovanú genetickú variabilitu skúmaných druhov komplexu *Cardamine pratensis*, ktorá je sprevádzaná rozdielmi v ekologických nikách, pripisujeme izolácii ich zdrojových populácií vo viacerých glaciálnych refúgiách, po ktorej nasledovalo postglaciálne šírenie.

Pri analýze pôvodu endemického druhu *C. barbaraoides* sme navrhli a prezentovali nový a efektívny postup analýzy sekvenčných dát získaných z polyploidných genómov, ktorý umožňuje automaticky roztriediť jednotlivé alely veľkého počtu génov do homeológov, t.j. kópií pochádzajúcich od rôznych rodičov, a tým vyriešiť ich pôvod. Fylogenetickou analýzou týchto dát, doplnenou o cytogenetické výsledky, sme objasnili pôvod študovaného

tetraploida a tiež vyriešili vzťahy medzi ďalšími príbuznými diploidnými druhmi. Poukázali sme na významnú úlohu balkánskych pohorí, ktoré predstavujú dôležité centrá biodiverzity, keďže slúžili ako glaciálne refúgia a zároveň aj kontaktné územia, kde dochádzalo k medzidruhovému génovému toku a vzniku nových polyploidných druhov.

Analýza široko chápaného druhu *Alyssum repens* ukázala, že hoci genetická variabilita a alopatrické rozšírenie hovorí v prospech taxonomického rozčlenenia druhu, genetické línie nie sú dostatočne morfológicky rozlíšiteľné a len čiastočne sa líšia v ekológii, ploidnom stupni a veľkosti genómu. Aj keď sme zrejmé svedkami začínajúcej speciácie, navrhujeme držať sa súčasného taxonomického konceptu *A. repens* ako celistvého, hoci variabilného druhu.

Zistili sme, že po predpokladanom monofyletickom vzniku tetraploidov komplexu *Arabidopsis arenosa* zo západokarpatskej diploidnej línie sa tetraploidy rozšírili do skoro celej Európy a diverzifikovali sa do štyroch ďalších línií. Keď sme porovnávali klimatické niky alopatrických tetraploidných línií k rodičovskej diploidnej línii, výsledky sa značne líšili medzi líniami. Zatiaľ čo tetraploidy z JV Karpát vykazovali značnú kontrakciu niky, alpská, ruderálna a stredoeurópska línia mali výrazne širšiu niku v porovnaní s rodičovskou diploidnou líniov. Okrem toho, keď sme porovnávali klimatické niky jednotlivých tetraploidných línií k tetraploidnej línii, ktorá sa vyskytuje v Západných Karpatoch (mieste vzniku tetraploidov), tiež sme zaznamenali výraznú diferenciáciu, čo naznačuje pozoruhodný post-polyploidizačný vývoj klimatických ník tetraploidných línií. Väčšina z nich zažila nejaké rozšírenie niky v porovnaní so západokarpatskou líniov, pričom kolonizovali územia s rôznymi klimatickými podmienkami. Tieto výsledky dokazujú, že posun klimatických ník nie je spôsobený polyploidizáciou v *A. arenosa* per se, ale odráža skôr dynamiku post-polyploidizačnej evolúcie v druhu, zahŕňajúcu migráciu tetraploidov a potenciálne ďalšie interakcie tetraploidov s inými diploidnými líniami.

V priebehu riešenia projektu sme tiež vytvorili programový balík MorphoTools2, ktorý je určený na multivariačné analýzy morfológických dát v prostredí R. Programy v R na viaceré analýzy bežne používané v multivariačnej morfometrike buď chýbali alebo boli rozptýlené vo viacerých R balíkoch. Nový balík umožňuje pohodlný a rýchly pracovný postup, obsahuje početné štatistické a grafické nástroje, poskytuje komplexný rámec pre kontrolu a manipuláciu so vstupnými údajmi, základné štatistické analýzy a širokú paletu funkcií navrhnutých na vizualizáciu výsledkov.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)

The project was focused on microevolutionary and speciation processes in diploid-polyploid complexes belonging to the Brassicaceae family, specifically in the genera *Alyssum*, *Arabidopsis*, *Cardamine* and *Odontarrhena*.

We found that the polyploid cytotypes in the polyploid complex *Cardamine pratensis* arose from single as well as polytopic polyploidization events. An example from this complex is the tetraploid species *C. majovskyi*, which arose at least twice in different parts of the area by autopolyploidization of the genome of the diploid species *C. matthioli*. The extensive genetic variability and also the variability in the genome size of *C. rivularis* reflects the differentiation caused by the geographical isolation of disjoint populations, the emergence of triploids of different origins and hybridization with the sympatric diploid species *C. matthioli*. We attribute the geographically structured genetic variability of the examined species of the *Cardamine pratensis* complex, which is accompanied by differences in ecological niches, to the isolation of their source populations in several glacial refugia, followed by postglacial spread.

When analyzing the origin of the endemic species *C. barbaraeoides*, we proposed and presented a new and efficient procedure for analyzing sequencing data obtained from polyploid genomes, which allows to automatically sort individual alleles of a large number of genes into homeologs, i.e. copies coming from different parents, and resolve their origins. By phylogenetic analysis of these data, supplemented by cytogenetic results, we clarified the origin of the studied tetraploid and also solved the relationships between other related diploid species. We pointed out the importance of the Balkan mountains, which represent important centres of biodiversity, as they served as glacial refugia and at the same time contact areas where interspecies gene flow and the emergence of new polyploid species took place.

The analysis of the widely circumscribed species *Alyssum repens* showed that although the genetic variability and allopatric distribution speaks in favour of the taxonomic division of the species, the genetic lines are not morphologically distinguishable enough and only partially differ in ecology, ploidy level and genome size. Although we are probably witnessing incipient speciation, we propose to stick to the current taxonomic concept of *A. repens* as a single, albeit variable, species.

We found that after the presumed monophyletic origin of the tetraploids of the *Arabidopsis arenosa* complex from the Western Carpathian diploid lineage, the tetraploids spread to almost all of Europe and diversified into four other lineages. When we compared the climatic niches of the allopatric tetraploid lineages to the parental diploid lineage, the results differed considerably between the lineages. While the tetraploids from the SE Carpathians showed considerable niche contraction, the Alpine, ruderal and Central European lineages had a significantly wider niche compared to the parental diploid lineage. In addition, when we compared the climatic niches of individual tetraploid lineages to the tetraploid lineage that occurs in the Western Carpathians (place of origin of tetraploids), we also noted a significant differentiation, which indicates a remarkable post-polyploidization development of climatic niches of tetraploid lineages. Most of them experienced some niche expansion compared to the West Carpathian lineage, colonizing territories with different climatic conditions. These results demonstrate that the climatic niche shift is not due to polyploidization in *A. arenosa* per se, but rather reflects the dynamics of post-polyploidization evolution in the species, involving migration of tetraploids and potentially further interactions of tetraploids with other diploid lineages.

In the course of the project, we also created the MorphoTools2 program package, which is intended for multivariate analyzes of morphological data in the R environment. Programs in R for multiple analyzes commonly used in multivariate morphometrics were either missing or scattered in several R packages. The new package enables a convenient and fast workflow, contains numerous statistical and graphical tools, provides a comprehensive framework for control and manipulation of input data, basic statistical analyzes and a wide range of functions designed to visualize results.