

Bakalářská práce

**Mezidruhová hybridizace u perlooček rodu
Daphnia (Crustacea: Cladocera)**

Interspecific hybridization in *Daphnia*
(Crustacea: Cladocera)

(literární rešerše)

Štěpánka Ruthová

Katedra ekologie
Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze

Školitel: RNDr. Adam Petrusek

květen 2006

Děkuji svému školiteli, RNDr. Adamu Petruskovi, za vedení mé bakalářské práce a za obětavost, kterou při tom prokázal. Děkuji také svým rodičům za to, že za mnou po celou dobu mého bakalářského studia stáli.

ABSTRAKT

Mezidruhové křížení je široce rozšířeným fenoménem v rostlinné i živočišné říši. K mezidruhové hybridizaci dochází na místech, kde se do přímého kontaktu dostávají druhy, mezi nimiž nejsou dostatečně vyvinuty reprodukční bariéry. Biologická zdatnost hybridů F₁-generace bývá v porovnání se zdatností rodičovských druhů nízká, ale neplatí to všeobecně. Mezidruhová kříženci perlooček rodu *Daphnia* jsou pravidelně nacházeni společně s jedním nebo oběma rodičovskými druhy ve stojatých sladkých vodách napříč celou Evropou. Z trvalých vajíček s hybridním genotypem se za vhodných podmínek líhnou samičky, které se rozmnožují partenogeneticky. Několik málo hybridních samiček tak může založit celé populace a stát se ekologicky významnou složkou zooplanktonních společenstev. Někteří hybridí jsou vzácně schopni zpětného křížení a mohou tedy ovlivnit i genofond rodičovských druhů. Studium hybridizace rodu *Daphnia* tedy přispívá nejen k pochopení ekologických nároků a dynamiky populací, ale také k pochopení fylogenetických vztahů a taxonomie tohoto rodu. Tradiční metody determinace hybridů na základě morfologických znaků nejsou příliš spolehlivé, protože fenotypová plasticita rodu *Daphnia* je velká a do značné míry ovlivněná faktory vnějšího prostředí. Současné studie proto zpravidla kombinují morfologické určení hybridů spolu s molekulárními metodami. Kombinace několika metod navíc minimalizuje riziko nesprávného určení druhu a nabízí mnohem komplexnější pohled na strukturu populací než metoda jediná.

OBSAH

ÚVOD	4
1. HYBRIDIZACE V PŘIROZENÉM PROSTŘEDÍ.....	6
1.1. Definice	6
1.2. Historický přehled	6
2. HYBRIDIZACE RODU <i>DAPHNIA</i>	7
2.1. Původní práce o hybridech rodu <i>Daphnia</i>	7
2.2. Hybridizace u perlooček.....	9
2.2.1. Druhový komplex <i>D. pulex</i>	10
2.2.2. Austrálie	11
2.2.3. Druhový komplex <i>D. longispina</i>	11
2.3. Proč dochází k hybridizaci	13
2.4. Kdy dochází k hybridizaci.....	15
2.5. Morfologické vlastnosti hybridů rodu <i>Daphnia</i>	17
3. EKOLOGICKÉ VZTAHY	18
3.1. Fitness hybridů rodu <i>Daphnia</i>	18
3.2. Modely hybridních zón	19
3.3. Temporal hybrid superiority hypothesis	20
3.3.1. Predační tlak	21
3.3.2. Dostupnost potravy	22
3.3.3. Další ekologické faktory.....	22
4. EVOLUČNÍ DŮSLEDKY HYBRIDIZACE RODU <i>DAPHNIA</i>	23
4.1. Stabilizace hybridních linií.....	24
4.2. Důsledky hybridizace v přirozeném prostředí.....	26
4.2.1. Introgrese	27
4.2.2. Speciace cestou hybridizace	29
4.2.3. Polyploidní linie	30
5. METODY DETEKCE HYBRIDŮ RODU <i>DAPHNIA</i>	32
5.1. Detekce na základě morfologických znaků.....	32
5.2. Molekulárně–biologické metody detekce	33
5.2.1. Aloxymová elektroforéza	34
5.2.2. ITS-RFLP	35
ZÁVĚR.....	37
SEZNAM LITERATURY	38
PŘÍLOHA.....	43

ÚVOD

Perloočky rodu *Daphnia* jsou drobní planktonní korýši, kteří obývají stojaté sladkovodní ekosystémy na všech světadílech. Jako filtrátoři tvoří podstatnou složku potravních řetězců a hrají klíčovou roli v dynamice potravních sítí ve sladkovodním prostředí. Už na přelomu devatenáctého a dvacátého století jim byla věnována pozornost v mnoha laboratorních i terénních studiích (klíčové práce byly například: Weismann 1877; Forbes 1893; Banta 1913) a postupně se staly významným modelovým organismem v ekologii, ekotoxikologii a populační genetice (Lynch 1983; Dodson 1989; Mort 1991) podobně jako *Drosophila* v genetice nebo *Caenorhabditis elegans* ve vývojové biologii. Jejich využití pro výzkumné účely také podpořilo to, že je lze bez potíží chovat v laboratorních podmínkách, snadno se množí, mají krátkou generační dobu (Mort 1991) a lze je množit klonálně.

Přestože je rod *Daphnia* nejlépe prostudovanou skupinou planktonních korýšů, fylogenetické vztahy a taxonomie tohoto rodu zůstávají do značné míry nevyřešené (Hrbáček 1987; Schwenk et al. 2000; Benzie 2005). Situace je komplikována nejen vysokou morfologickou variabilitou jednotlivých druhů, ale v některých skupinách také přítomností mezidruhových kříženců, zpětných kříženců a rekombinantů dalších generací. Hybridi se po celý život nebo po jeho velkou část rozmnožují nepohlavně (partenogeneticky). Za vhodných podmínek tak mohou dosáhnout vysokých populačních hustot a stát se ekologicky významnou složkou planktonních společenstev. Tento fakt je zásadním způsobem odlišuje od hybridů obligátně sexuálních organismů a činí z nich unikátní objekt pro studium selekčních faktorů a dynamiky hybridních zón. Někteří hybridy jsou navíc schopni pohlavního rozmnožování. Tím je otevřena cesta k zásahům do genofondu rodičovských druhů a význam hybridů tak přesahuje z ekologické do evoluční problematiky. Hybridi rodu *Daphnia* jsou tedy důležitou skupinou z hlediska taxonomického, ekologického i evolučního a měla by jim proto být věnována maximální pozornost.

Ve své bakalářské práci jsem se pokusila shrnout dosavadní poznatky o hybridizaci rodu *Daphnia* a diskutovat je z několika různých aspektů. Úvodní kapitoly jsou zaměřeny na samotný akt hybridizace, na procesy, které ho předcházejí, a na morfologické a fyziologické vlastnosti hybridů. Stěžejní část práce je věnována ekologickým vztahům, zejména koexistenci hybridů a jejich rodičovských druhů a selekčním faktorům utvářejícím strukturu dílčích populací; a dále také evolučním důsledkům hybridizace, především polyploidizaci

obligátně partenogenetických linií a introgresi. Samostatná kapitola je věnována také metodám detekce hybridů.

Po konzultaci se svým školitelem jsem se rozhodla do textu bakalářské práce nezařazovat vlastní výsledky, neboť téma hybridizace rodu *Daphnia* je samo o sobě dosti rozsáhlé. K práci ale přikládám rukopis „**Intragenomic sequence variation necessitates a new genetic method to distinguish species and hybrids in the *Daphnia longispina* complex**”, jehož jsem spoluautorem a ve které jsou zahrnuty některé výsledky mé práce během bakalářského studia.

1. HYBRIDIZACE V PŘIROZENÉM PROSTŘEDÍ

1.1. Definice

Termín *hybridizace* bývá stejně jako například *druh* ve vědecké literatuře interpretován několika způsoby. Jednotlivé definice hybridizace se neshodují zejména v úrovni genetické divergence jedinců, mezi kterými dochází k hybridizaci. Setkáme se i s extrémními definicemi, které na jedné straně definují hybridizaci jako křížení mezi geneticky rozdílnými jedinci nebo na druhé straně jako křížení jedinců různých druhů (Harrison 1993, podle Arnold 1997). Ve své práci chápu termín *hybridizace* jako všechna úspěšná křížení mezi jedinci dvou populací nebo skupin populací rozlišitelných na základě alespoň jednoho dědičného znaku. Analogicky je *hybrid* jedinec vzniklý křížením jedinců ze dvou populací nebo skupin populací rozlišitelných na základě alespoň jednoho dědičného znaku (Harrison 1990). Za hybridy považuji i jedince vykazující určitý stupeň fertility, protože právě fertilita hybridů může mít nedozírné důsledky na genetickou stavbu i evoluční vývoj populací.

1.2. Historický přehled

Zájem vědců o hybridizaci je stejně starý jako nejstarší koncepty druhů. Už v polovině osmnáctého století založil Carl Linné svůj druhový koncept na reprodukční izolaci druhů. Nicméně brzy experimentálně zjistil, že mezi definovanými druhy dochází ke křížení, a tak o několik let později navrhl model speciace cestou hybridizace (Linné 1774, podle Arnold 1997). V devatenáctém století sice byla hybridizace v přirozeném prostředí považována za běžný jev (Lyll 1832, podle Taylor et al. 2005), ale hybridům byly přisuzovány nečnosti jako naprostá neplodnost a snížená životaschopnost:

„Pure species have of course their organs of reproduction in a perfect condition, yet when intercrossed they produce either few or no offspring. Hybrids, on the other hand, have their reproductive organs functionally impotent.“ (Darwin 1859, podle Arnold 1997)

Přelomovými se staly práce Lotsyho (1916; 1931, podle Arnold). Lotsy si všiml, že hybridizace může být jedním z primárních mechanismů evolučních změn a že křížením jedinců z různých syngameonů („*an habitually interbreeding community*“) dochází ke speciaci. Lotsyho práce ve třicátých letech dvacátého století nastartovala vlnu intenzivního výzkumu hybridizace, která vyústila formulováním celé řady druhových konceptů, modelů hybridních zón a teorií popisujících původ a evolučně biologické důsledky hybridizace. Už na počátku se vědecká komunita rozdělila do dvou proudů. První skupina, tvořená hlavně botaniky, chápala hybridizaci jako důležitý evoluční proces. Podařilo se jim prokázat, že hybridizace je velmi

rozšířená v rostlinné říši a že díky ní může docházet ke vzniku nových adaptivních vlastností. Hybridní jedinci tak mohou obsazovat nová stanoviště a být zakladateli nových druhů. Druhá skupina, tvořená hlavně evolučními biology studujícími živočišné druhy, naopak viděla v hybridizaci nástroj sloužící k pochopení procesu speciace. Zdůrazňovali, že hybridizace je maladaptivní proces, protože hybridi jsou sterilní nebo méně plodní než rodičovští jedinci. Tento předpoklad vedl k vytvoření modelu, ve kterém hybridizace slouží jako proces vedoucí ke konečnému vybudování reprodukčních bariér (Dobzhansky 1937, podle Arnold 1997). Práce ze třicátých a čtyřicátých let později posloužily jako podklad a jako inspirace výzkumům z druhé poloviny dvacátého století i ze současnosti.

S rozvojem a dostupností molekulárně biologických metod v současnosti vzrůstá počet známých případů hybridizace v rostlinné i živočišné říši. Uvádí se, že 50 až 70 % kvetoucích rostlin vzniklo procesem hybridizace mezi druhy stejných nebo jiných rodů (Stace 1987). Oproti tradičním předpokladům se podařilo prokázat, že hybridizace je poměrně častá i mezi živočichy (např. Carson et al. 1975; Barton 1980; Campton a Utter 1985). U ptáků a hmyzu dokonce hybridizuje až deset procent druhů (Grant a Grant 1992, Bullini 1994). Současné studie hybridizace se zaměřují na několik zvláštních tematických okruhů. Jsou jimi: (1) původ hybridizujících linií (sympatrický nebo alopatrický), (2) dynamika hybridních zón (stabilizace hybridních linií, udržování hybridních zón), (3) genetické a evoluční důsledky hybridizace (introgrese, alopolyploidie), (4) speciace a reprodukční izolace (druhovité koncepty, reprodukční bariéry, bezvýběrové páření) a (5) sledování fitness (vlivy prostředí, ekologická izolace). Jinou možností je věnovat se všem těmto okruhům v rámci jedné skupiny organismů.

2. HYBRIDIZACE RODU *DAPHNIA*

2.1. Původní práce o hybridech rodu *Daphnia*

Přestože už v devatenáctém století byly znalosti o rodu *Daphnia* poměrně rozsáhlé, první ucelené vědecké práce o hybridizaci mezi druhy tohoto rodu jsou poměrně pozdního data. Celý rod je z taxonomického hlediska velice komplikovaný, protože morfologická variabilita v rámci jednoho druhu může být velká (Flössner 2000, Benzie 2005) a zároveň existuje i řada morfologicky v podstatě neodlišitelných kryptických druhů (např. Taylor a Hebert 1992; Taylor et al. 1998). Bez znalosti fixních morfologických znaků a bez znalosti korelace morfologické variability a genetické příbuznosti je problémem i rozlišování geneticky dobře definovaných druhů, natož jejich hybridů. Kromě toho dochází při hybridizaci a zpětném křížení ke vzniku mnoha rozličných přechodných fenotypových forem. Obecně se dá říct, že před zavedením molekulárních metod do ekologie bylo obtížné,

ne-li nemožné, identifikovat hybridy rodu *Daphnia* a co víc, potvrdit domněnku, že se o hybridy skutečně jedná.

Obrazovou dokumentaci a popisy hybridů z komplexu *D. longispina* můžeme nalézt už v některých pracích z konce devatenáctého století (Hellich 1877, Burckhardt 1899, Lilljeborg 1901, vše podle Flössner 1993), ale ve všech těchto studiích jsou hybridy popsáni jako samostatný druh nebo forma, nikoli jako mezidruhový kříženec. Většina prací z této doby obsahuje o hybridech jen kusé a nepřesné informace a některé studie jsou z dnešního pohledu dokonce zcela scestné. Slepou uličkou byly pokusy o mezidruhové křížení perlooček, které prováděl W. E. Agar (1920). Nejprve křížil rody *Daphnia* a *Simocephalus*, ale nedosáhl sebemenšího úspěchu. Proto se rozhodl pro křížení příbuznějších jedinců a pro svůj experiment zvolil údajné druhy *Daphnia „pulex“* a *D. „obtusa“*. Nejenže se mu podařilo získat „hybridy“, ale „hybridní“ samice byly navíc nesmírně plodné – úspěšnost jejich pohlavního rozmnožování při zpětném křížení byla stejná jako úspěšnost pohlavního rozmnožování jedinců stejného druhu. O mezidruhové hybridy v pravém slova smyslu tedy nešlo. Dnes už se těžko dozvíme, co Agar ve dvacátých letech pářil, ale pravděpodobně se jednalo o morfotypy jednoho druhu. Hybridy druhů označovaných v současné době v USA jako *D. „pulex“* a *D. „obtusa“* nejsou známi.

Jednou z prvních kvalitních prací o hybridizaci rodu *Daphnia* je studie Ulricha Einsleho zaměřená na druhový komplex *D. longispina* v Bodamském jezeře (Bodensee) (Einsle 1966). Všiml si, že kromě malých forem s přilbovitým protažením hlavy (*D. cucullata*) a klabonosých forem bez přilbovitého protažení hlavy (*D. longispina f. hyalina*) jsou běžné ještě přechodné formy, které zařadil do druhu *D. galeata*. Vzhledem k tomu, že se zde vyskytly různé morfologické přechody, formuloval hypotézu, že *D. galeata* je mezidruhovým křížencem dvou výše zmíněných druhů (Obrázek 1). Jak se však ukázalo, situace je ještě komplikovanější, neboť v té době již v Bodamském jezeře koexistovaly a hybridizovaly všechny zmíněné druhy (Straile a Geller 1998; Jankowski 2002). Nemalou měrou přispěl ke studiu hybridizace rodu *Daphnia* také Ulrich Lieder, který jako první popsal introgresivní hybridizaci tohoto rodu (Lieder 1956).

Až do devadesátých let dvacátého století byla přítomnost hybridních linií u rodu *Daphnia* považována spíše za výjimečnou odchylku. Hybridům by pravděpodobně ani nebyla věnována pozornost, kdyby nepůsobili problémy při morfologické klasifikaci druhů. Frey v roce 1982 napsal: „...*how to define species among the Cladocera is up for grabs*“, and „...*a continuing frustration*“ a Lieder (1983) o rok později přitakal: „*Allgemein gelten diese Genera [Daphnia a Bosmina] als eines der dunkelsten Gebiete der Evolutionsgenetik und ein*

enfant terrible der zoologischen Taxonomie“. Pověst taxonomicky problematických jedinců tak hybridům oprávněně zůstala od doby objevení ještě další desetiletí. Z tohoto období tak v podstatě nemáme žádné studie, které by srovnávaly morfologii, populační genetiku a ekologii hybridů a jejich rodičovských druhů. Zlom nastal až na počátku devadesátých let s materiální a finanční dostupností molekulárně-biologických metod v ekologii a s příchodem genetických markerů, které vyjasnily mnohé fylogenetické vztahy a umožnily detekci hybridů.

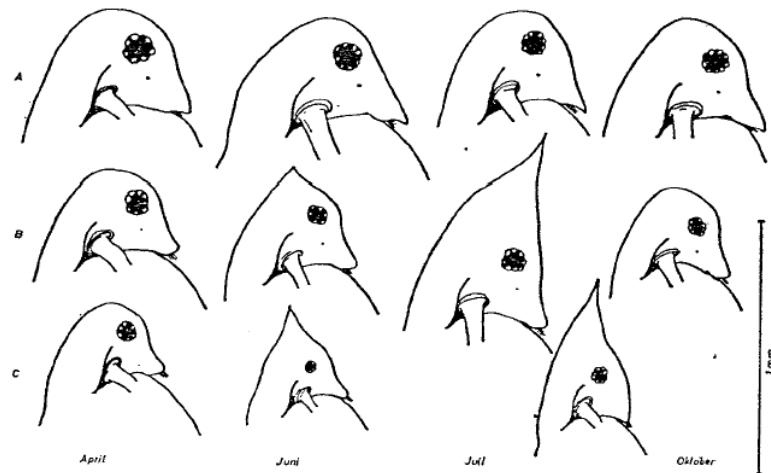


Abb. 9: A. *Daphnia longispina hyalina*; B. *Daphnia galeata*; C. *Daphnia cucullata*
Mindelsee 1965

Obrázek 1. Zástupci druhového komplexu *Daphnia longispina* z Bodensee (Einsle 1966)

Všichni jedinci označení jako *D. galeata* a jedinec v řadě C zcela vlevo jsou pravděpodobně mezidruhovní kříženci druhu *D. cucullata* s *D. longispina* nebo *D. galeata*.

2.2. Hybridizace u perlooček

I přesto že je hybridizace velmi rozšířená u rodu *Daphnia* a dostává se jí tudíž velké pozornosti, mezi ostatními perloočkami je poměrně vzácná. Většinu rodů v rámci skupiny tvoří poměrně dobře reprodukčně izolované druhy. Z přirozeného prostředí jsou mezidruhovní kříženci známi pouze u rodů *Daphnia*, *Simocephalus* a možná také u rodu *Bosmina*. Experimentálně v laboratorních podmínkách hybridizuje také rod *Pleuroxus* (Shan a Frey 1968, 1983) a několik dalších zástupců čeledi Chydoridaea. Absence hybridizace u čeledi Chydoridae a dalších litorálních perlooček v přirozeném prostředí je někdy vysvětlována jako důsledek vysoké proměnlivosti podmínek prostředí, ve kterém žijí (Schwenk 1997). Jestliže jsou hybridy schopni pouze partenogenetického rozmnožování, tzn. neprodukují trvalá vajíčka potřebná pro přečkání nepříznivých podmínek, jejich šance na přežití v podmínkách se zvýšenou disturbancí v dlouhodobějším měřítku je minimální. Dalším faktorem může být také stáří druhů a s tím spojené vytvoření reprodukčních bariér.

Introgresivní hybridizací byla tradičně vysvětlována morfologická rozmanitost rodu *Bosmina*. Paleolimnologické a morfologické studie tohoto rodu naznačovaly, že v minulosti opakovaně došlo k hybridizaci sympatrických populací *B. longispina longispina* a *B. coregoni coregoni*. Kompetitivní vyloučení obou rodičovských linií mohlo stabilizovat populaci hybridů, která by se tak mohla stát základem některých dnešních populací (Hofmann 1991). Hypotézu také podpořila analýza současné morfologické variability, ze které vyplývalo, že obě tyto formy poměrně často hybridizují i v současnosti (Lieder 1996). Studie z poslední doby analyzující variabilitu jaderné a mitochondriální DNA ale ukazují, že výše zmíněné rodičovské linie jsou ve skutečnosti zřejmě jeden druh (Taylor et al. 2002; Haney a Taylor 2003). O tom, zda v rámci rodu *Bosmina* skutečně dochází k mezidruhovému hybridizaci, tedy zatím můžeme jen spekulovat. Rod *Simocephalus* (Hann 1987) a rod *Daphnia* tak zůstávají jedinými rody perlooček, u kterých byla hybridizace v přirozeném prostředí s jistotou prokázána.

2.2.1. Druhový komplex *D. pulex*

Na americkém kontinentu hybridizují druhy *D. „pulex“*¹ a *D. pulicaria* (Hebert et al. 1989; Hebert et al. 1993). Oba druhy nejsou geneticky příliš vzdálené a hybridizace mezi nimi je poměrně častá. Oblast Mexika a centrální část Severní Ameriky obývají diploidní hybridní linie. Populace hybridů se zdají být na většině stanovištích tvořeny jediným klonem, který se množí obligátní partenogenezi². Usuzuje se, že k hybridizační události došlo v jiné oblasti, protože klonální diverzita diploidních severoamerických hybridů je velmi nízká a jen málo lokalit obývají hybridi spolu s oběma rodičovskými druhy. Také vzácný výskyt *D. „pulex“* v této oblasti ukazuje na to, že se tam hybridi dostali teprve disperzí (Hebert a Finston 1996). Zajímavé jsou populace hybridů *D. „pulex“* a *D. pulicaria* z arktických oblastí Severní Ameriky (Kapitola 4.2.3.). Kromě toho, že jsou mnohem heterogennější i v rámci jedné lokality, jejich genom je tvořen čtyřmi chromosomovými sádkami. Jsou tedy tetraploidní (Dufresne a Hebert 1994). Polyploidní hybridi z druhového komplexu *D. „pulex“/pulicaria* jsou známi i z vysokých nadmořských výšek tropického pásu (Mergeay et al., in MS) a z jižního cípu Jižní Ameriky (Adamowicz et al. 2002). Zatím nevíme, hybridizací kterých druhů vznikají, protože systematika jihoamerických zástupců rodu *Daphnia* je značně

¹ Druhové jméno *D. „pulex“* je uvedeno v uvozovkách, protože se nejedná o shodnou linii s evropskou *D. pulicaria* v pravém slova smyslu. Podobná situace je i u dalších druhových jmen uváděných v uvozovkách níže v textu.

² Při obligátní partenogenezi dochází u perlooček k produkci klasických partenogenetických vajíček i vajíček trvalých nepohlavní cestou. Jedinci, kteří se líhnou z trvalých vajíček, jsou tudíž geneticky identičtí se svou matkou.

komplikovaná a některé nově objevené druhy nejsou ani formálně popsány (Adamowicz et al. 2004). Hypotéza, že argentinské polyploidní populace jsou důsledkem náhodného výsadku hybridů *D. „pulex“* × *D. pulicaria* ze Severní Ameriky (Adamowicz et al 2002), je nicméně značně nepravděpodobná (Mergeay et al., in MS).

Ke vzácné hybridizaci dochází i mezi některými dalšími americkými druhy komplexu *D. „pulex“/pulicaria*. *D. „obtusa“* a *D. pileata* jsou většinou striktně ekologicky izolované druhy obývající typově odlišná stanoviště. V několika periodických tůních v Texasu byly ale nalezeny sympatrické populace obou druhů i s mezidruhovými hybridy (Hebert a Finston 1996). Hybridy však nejsou schopni produkovat trvalá vajíčka. Tím je snížena stabilita populací i pravděpodobnost disperze a většina populací hybridů tak v krátkém časovém měřítku vymírá. Podobný stupeň sterility vykazují i hybridy druhů *D. cheraphila* a *D. prolata* známí z několika lokalit v Mexiku (Hebert a Finston 1996). Dosahují sice vyšších populačních hustot a větší stability, ale to je pravděpodobně dáno stálostí stanovišť, která umožňuje dlouhodobější přežívání partenogenetických linií.

2.2.2. Austrálie

Přestože výzkum rodu *Daphnia* je centralizovaný v Evropě a v Severní Americe, hybridní linie je popsána i z australského kontinentu. Hybrid druhů *D. carinata* a *D. cephalata* obývá spolu se svými rodičovskými druhy jezera ve východní Austrálii. Tradičně byl řazen do samostatného druhu *D. wankeltae*, ale později byl prokázán jeho hybridní původ a fakt, že k hybridizaci mezi rodičovskými druhy dochází opakovaně (Hebert 1985). Přestože v laboratorních podmínkách proběhlo úspěšné sexuální rozmnožování těchto hybridů, v přírodě nebyli nalezeni žádní F₂ hybridy, zpětní kříženci ani známky introgrese. V přirozeném prostředí tak pravděpodobně mají další generace hybridů a zpětní kříženci selekční nevýhodu oproti F₁ hybridům a oběma rodičovským druhům.

2.2.3. Druhový komplex *D. longispina*

Druhový komplex *D. longispina* tvoří jednu z dominantních složek zooplanktonu trvalých stojatých vod v holarktické oblasti. I přesto že jsou jednotlivé druhy geneticky poměrně divergentní (genetická divergence cca 5-16 % na základě sekvencí malé mitochondriální ribozomální podjednotky, Schwenk et al. 2000; Petrussek et al., in prep.), je to nejagresivněji hybridizující skupina rodu *Daphnia*. Absence funkčních reprodukčních bariér mezi některými druhy bývá doprovázena téměř kompletním překryvem areálů rozšíření. Situace, kdy jednu lokalitu obývá dvojice a větší množství různých druhů tohoto komplexu

není nijak vzácná a značnou měrou usnadňuje samotný akt hybridizace. Mnoho studií založených na morfologii (Gießler 2001), alozymové analýze (Taylor a Hebert 1992; Spaak 1996), AFLP (amplified fragment length polymorphism) (Gili et al. 2004), mikrosatelitech (Ender et al. 1996), sekvencích mtDNA (Schwenk 1993) a RFLP (restriction fragment length polymorphism) (Hobaek et al. 2004; Taylor et al. 2005) prokázalo, že hybridí komplexu *D. longispina* jsou v přirozeném prostředí běžní, někdy dokonce početnější než jejich rodičovské druhy, a že k hybridizaci dochází snadno a opakovaně.

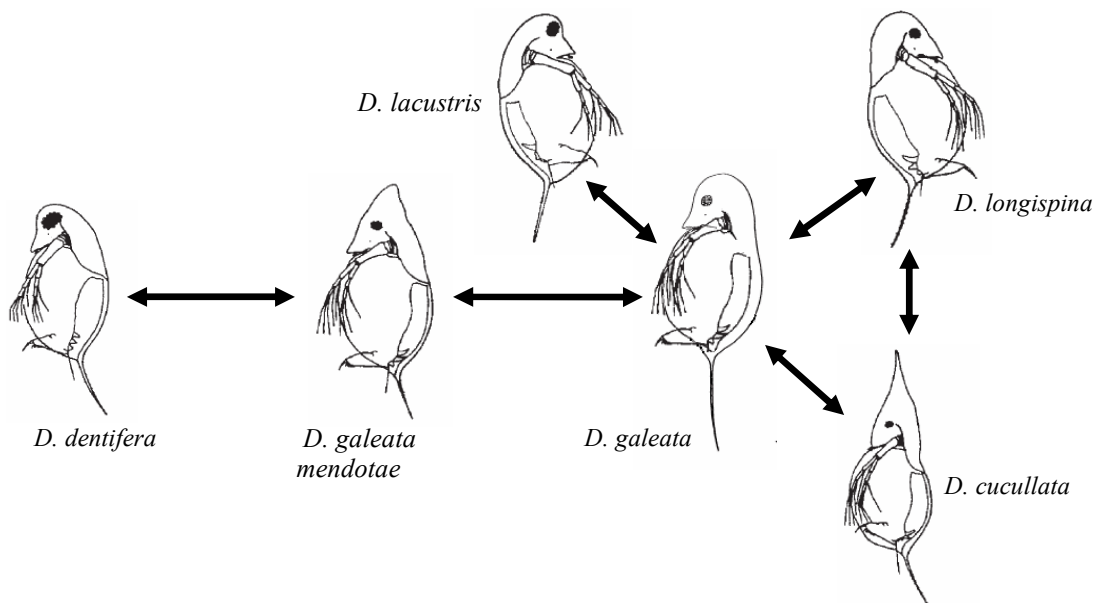
V Palearktické oblasti hybridizují druhy *D. galeata*, *D. longispina*³ a *D. cucullata*, a to každý s každým. F₁ hybridí tvoří sympatrické populace se svými rodičovskými druhy a v závislosti na podmínkách vnějšího prostředí jim více či méně konkurují (Kapitola 3.). Kromě těchto tří linií hybridů byli na východě Norska objeveni ještě mezidruhovní kříženci *D. lacustris* a *D. galeata* (Hobæk et al. 2004). Toto zjištění bylo velmi překvapivé, neboť sekvence mitochondriální DNA *D. lacustris* a *D. galeata* se liší o více než 15 % (Schwenk et al. 2001; Hobæk et al. 2004). Hybridizace mezi takto geneticky divergentními druhy je v přirozeném prostředí ojedinělá. Rekombinantní genotypy, jako jsou F₂ hybridí a zpětní kříženci, jsou v rámci druhového komplexu *D. longispina* také známy (Spaak 1996, Jankowski a Straile 2004), ale jsou mnohem vzácnější. Částečná schopnost pohlavního rozmnožování hybridů všech čtyř druhů navíc vede k horizontálnímu toku genů mezi jednotlivými druhy a má významný vliv na genofond současných i budoucích populací (Kapitola 4.2.1.).

Na území nearktické biogeografické oblasti dochází k hybridizaci mezi *D. galeata mendotae* a *D. dentifera*⁴ (Taylor a Hebert 1992, 1993a, b; Duffy et al. 2004). Důležitým reprodukčně – izolačním mechanismem těchto druhů jsou různé ekologické preference. *D. galeata mendotae* preferuje velká jezera, zatímco *D. dentifera* spíše malé nádrže bez ryb. Hybridí obývají jezera střední velikosti spolu s jedním z rodičovských druhů nebo samostatně. Druhý rodičovský druh bývá v minoritním zastoupení nebo je zcela eliminován. V podmínkách jezer střední velikosti jsou asi hybridí selekčně zvýhodněni, protože jejich populační hustota bývá vysoká a jednotlivé klonální linie na stanovištích stabilně setrvávají i několik let. Hybridí jsou navíc schopni zpětného křížení, v důsledku čehož dochází k horizontálnímu přenosu genů (Taylor a Hebert 1993b). Hybridizace *D. galeata mendotae* a *D. dentifera* je tedy introgresivní.

³ Pelagická forma druhu *D. longispina* je v mnoha studiích označována jako *D. hyalina*, nicméně se nejedná o samostatný druh.

⁴ Ve starších pracích ze severoamerického kontinentu bývá tento druh označován jako *D. rosea*.

Zajímavým případem je hybridizace mezi nearktickou *D. galeata mendotae* a palearktickou *D. galeata* (Taylor a Hebert 1993c). Tyto dvě linie byly po dlouhou dobu odděleny geografickou bariérou oceánu. Na konci sedmdesátých let nebo na počátku osmdesátých let dvacátého století invadovala evropská *D. galeata* do oblasti Velkých jezer na severovýchodě USA. Do Ameriky se pravděpodobně dostala spolu s balastní vodou velkých zaoceánských lodí podobně jako řada dalších invazních druhů. Invaze sice úspěšná nebyla, protože nika už byla obsazená morfologicky i ekologicky podobným druhem *D. galeata mendotae*, ale došlo k hybridizaci těchto dvou druhů (Kapitola 4.2.2.). Přestože jedinci s genotypem evropské *D. galeata* jsou v oblasti Velkých jezer vzácní, F₁ hybridy a zpětné křížence je možné detekovat poměrně často. Příklad hybridizace mezi druhy *D. galeata mendotae* a *D. galeata* svědčí o tom, jak snadné je přehlédnutí ekologických a evolučních procesů rodu *Daphnia*, jestliže nemáme k dispozici moderní molekulární nástroje, a jak křehké mohou hranice mezi některými druhy být.



Obrázek 2. Hybridizující druhy druhového komplexu *D. longispina* (schémata jednotlivých druhů Taylor et al. 2005).

Šipky znázorňují, které druhy mezi sebou hybridizují. Druhy *D. dentifera* a *D. galeata mendotae* jsou nearktické, ostatní druhy jsou palearktické.

2.3. Proč dochází k hybridizaci

Z hlediska speciace bývá přítomnost hybridizace vysvětlována dvěma způsoby. Druhové komplexy jsou buď chápány jako evoluční krok k rozštěpení druhu do dvou různých linií, kde je mezidruhová hybridizace průvodním jevem procesu speciace (sympatrická speciace); nebo k hybridizaci dochází při druhotném kontaktu druhů, které od sebe byly delší dobu izolovány vnějšími izolačními mechanismy (alopatrická nebo parapatrická speciace)

(Harrison 1990). Jak ukazují některé genetické a biogeografické studie, sympatrická speciace je vzácná a většina druhů, stejně jako druhy rodu *Daphnia*, speciuje alopatricky. Uvážíme-li evoluční věk hybridizujících druhů rodu *Daphnia*, který je v řádu milionů let (genetická divergence cca 5-16 % na základě sekvencí malé mitochondriální ribozomální podjednotky; Petrušek et al., in prep.), je myslitelné, že střídání období zalednění a období osídlování nových habitatů v dobách meziledových mohlo v minulosti vést k druhotnému kontaktu dříve izolovaných linií a následně také k hybridizaci (Schwenk et al. 2000). Alopatrická diferenciace patrně hraje při speciaci rodu *Daphnia* velmi důležitou roli. Většina druhů je endemická pro jednotlivé kontinenty, protože překonání geografické bariéry oceánu je pro perloočky obtížné. V rámci jednoho kontinentu může k alopatrii docházet v důsledku preference různých na zeměpisné šířce závislých faktorů, jako je průměrná roční teplota (např. *D. galeata* a *D. lacustris* (Hobæk et al. 2004)), což je spíše výjimečné. Většina hybridizujících druhů je sympatrická a areály jejich rozšíření se téměř překrývají. Některé druhy i přesto, že obývají stejnou oblast, preferují ekologicky různá stanoviště a k hybridizaci dochází pouze na lokalitách, které mají přechodné vlastnosti mezi oběma typy stanovišť preferovanými rodičovskými druhy (*D. dentifera* a *D. galeata mendotae* (Taylor a Hebert 1992, 1993a, b)). Hybridizace těchto zástupců rodu *Daphnia* je spojena s fúzí ekologických nik (Lieder 1983) – tzv. hybridizací habitatu (Anderson 1948). Pokud tedy k izolaci populací dochází, nejedná se pouze o důsledek rozdílné schopnosti disperse jednotlivých linií, ale míra izolace je ovlivněna také polohou kontinentů, distribucí ekologicky podobných stanovišť a tolerancí jednotlivých linií k podmínkám vnějšího prostředí (Schwenk et al. 2000).

Některé z dnešních hybridizujících druhů rodu *Daphnia* se dostaly do druhotného kontaktu vinou člověka. Člověk může sloužit jako vektor při rozšiřování trvalých vajíček (např. vlastním tělem, lodní dopravou) a některá vajíčka tak mohou být přepravována i na, pro perloočky neobvykle, velké vzdálenosti (Taylor a Hebert 1993c). Tím že člověk mění přirozenou skladbu krajiny, velkou měrou přispívá i ke změnám ve společenstvech vodních ekosystémů. Například stavba nádrží se stojatou sladkou vodou, jakými jsou rybníky a přehradní nádrže, rozšiřuje nabídku potenciálních stanovišť pro vodní organismy. Tím je usnadněna také kolonizace lokalit, které byly dříve vzdálené. Existují také důkazy o tom, že eutrofizace vod v několika posledních desetiletích podporuje kolonizaci původně oligotrofních lokalit novými druhy, protože mizí problém limitace potravou a otevírají se nové niky (Straile a Geller 1998). Činnost člověka tedy může být přinejmenším stejně významným činitelem zprostředkovávajícím sekundární kontakt izolovaných linií jako faktory vnějšího prostředí nebo schopnost disperse.

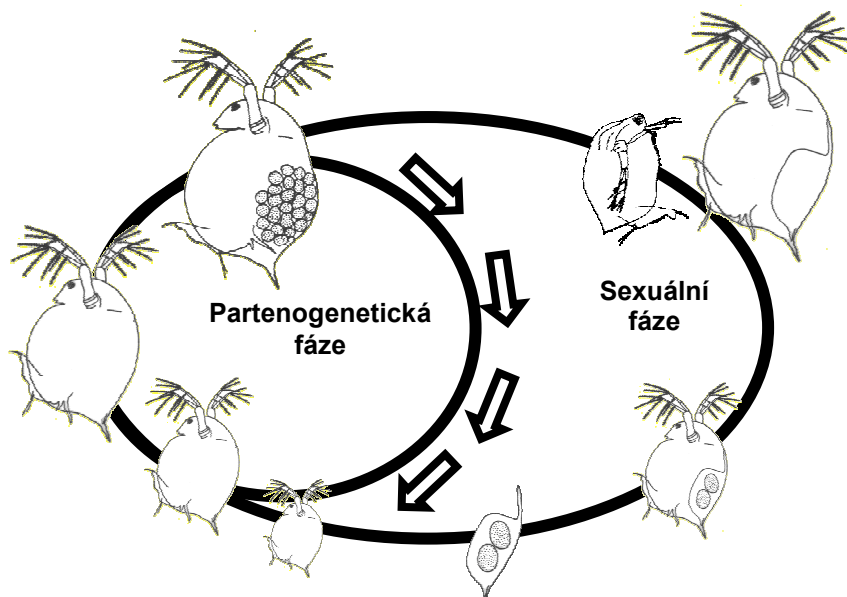
2.4. Kdy dochází k hybridizaci

Druhotný kontakt izolovaných linií je pouze jedním z předpokladů pro to, aby došlo k úspěšné hybridizační události. U dobře reprodukčně izolovaných druhů k hybridizaci nedochází ani v případě, kdy se vyskytují ve stejném časoprostoru. Stejně tak nemůže dojít k úspěšné hybridizaci, jestliže není životní cyklus a rozmnožovací cyklus obou hybridizujících druhů sladěn. Úspěch mezidruhového křížení sympatrických populací tak závisí na celé škále faktorů, jakými jsou prostorová a časová synchronizace, pohlavní výběr nebo hustota populace. Velká genetická divergence hybridizujících druhů rodu *Daphnia* svědčí o tom, že se reprodukční bariéry mezi jednotlivými druhy vyvíjejí velmi pomalu (Schwenk et al. 2000, Hobæk et al. 2004, Petrusek et al. in prep.). Většina prezygotických reprodukčně-izolačních mechanismů, jako je selektivita při výběru sexuálního partnera, pravděpodobně není vyvinuta (Petrusek, osobní sdělení) a dokončení vývoje reprodukční izolace druhů je tak zcela závislé na vzniku postzygotických reprodukčně-izolačních mechanismů.

Zástupci rodu *Daphnia*, stejně jako většina ostatních perlooček, se po většinu sezóny rozmnožují nepohlavně (partenogeneticky) a samci a sexuální samice vznikají pouze v krátkém období, obvykle jen několik týdnů dlouhém. Tento fenomén je známý jako cyklická partenogeneze (Obrázek 3). K hybridizaci dochází v období sexuální fáze životního cyklu za předpokladu, že se na jedné lokalitě a ve stejném čase vyskytují samci a pohlavní samice dvou různých druhů. Jestliže reprodukčně-izolační mechanismy nejsou zcela funkční a sexuální samice je úspěšně oplodněna samcem jiného druhu, vznikají trvalá vajíčka s rekombinantním genotypem. Velká část hybridních zárodků je pravděpodobně neživotoschopná, ale z některých vajíček se za vhodných podmínek líhne hybridní partenogenetická samice F₁-generace, která se po dospění množí nepohlavně (partenogeneticky).

Faktorů, které vedou k indukci sexuální fáze u perlooček je celá škála, ale mechanismy jejich působení a podstatu jejich interakcí zatím neznáme. Většinou jde o faktory stresové, jako je zkrácení fotoperiody, limitace potravou, zvýšení hustoty populace nebo nízké teploty. Líhnutí samců je indukováno poněkud jinými faktory než vznik sexuálních samic. Zatímco přechod samic do sexuální fáze životního cyklu je podmíněn převážně kombinací faktorů vnějšího prostředí, líhnutí samců je ve velké míře zprostředkováno i chemickými podněty, které jsou uvolňovány při zvýšení populační hustoty perlooček (Hobæk a Larson 1990). Zajímavé je, že tyto chemické signály nejsou druhově

specifické a vyvolávají líhnutí samců i mezi vzdáleně příbuznými druhy (Hobæk a Larson 1990). Jestliže tedy samičky dvou druhů vstupují do sexuální fáze životního cyklu v různých částech roku, samci jsou vždy v kontaktu pouze se sexuální samičkou jednoho druhu a případná hybridizace je tak silně asymetrická (Jankowski a Straile 2004). K asymetrii v mezidruhovém páření také dochází, jestliže je jeden z rodičovských druhů vzácný (Dowling et al. 1989; Taylor a Hebert 1993). Čistě statisticky, pro jedince vzácnějšího druhu je pravděpodobnost nalezení sexuálního partnera mezi jedinci hojnějšího druhu větší než pravděpodobnost nalezení sexuálního partnera v rámci druhu vlastního. Podle tohoto scénáře by tedy měl být mateřským druhem většinou druh hojnější, ale některé studie ukazují, že tomu tak vždy není. Schwenk et al. (in MS) se domnívají, že asymetrii při hybridizaci rodu *Daphnia* může způsobit různá životaschopnost různých hybridních potomků. Tuto teorii dokládá laboratorní pokus, ve kterém byly kříženy různé klony dvou různých druhů rodu *Daphnia* (Schwenk et al. 2001). Úspěšnost jednotlivých páření se lišila počtem produkovaných trvalých vajíček, počtem vylíhnutých hybridních potomků i počtem potomků doživších se dospělosti. Podobné mechanismy mohou způsobit asymetrii i při zpětném křížení (Schwenk et al. in prep.; Taylor a Hebert 1993b), což v krajním případě vede k jednosměrné introgresi.



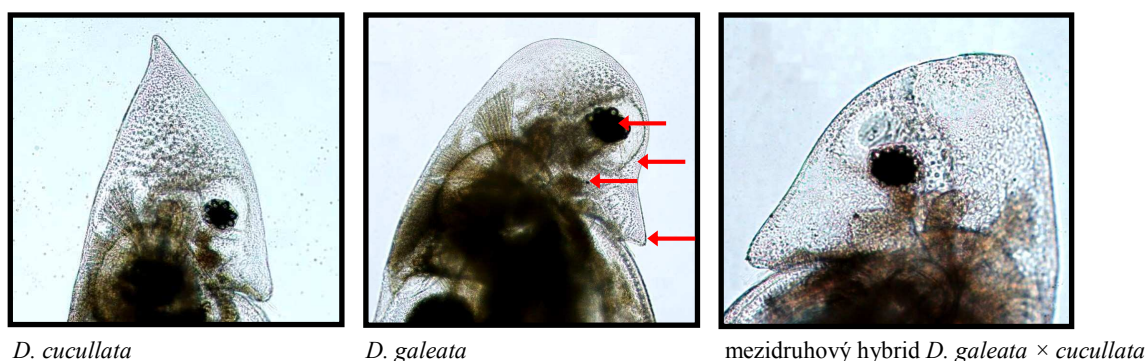
Obrázek 3. Životní cyklus perlooček rodu *Daphnia* (autoři schématu: K. De Meester, K. De Gelas a A. Petrusek; popis dle Mort 1991 a Spaak 2000).

Životní cyklus cyklicky partenogenetických perlooček má dvě fáze – fázi partenogenetickou a fázi sexuální. Po většinu sezóny jsou na lokalitě pouze asexuální samice, které produkují partenogenetická vajíčka. Počet vajec ve snůšce se může lišit a závisí především na velikosti a kondici samic. Z partenogenetických vajíček se opět líhnou asexuální samice, které jsou geneticky identické se svou matkou. Při vstupu do sexuální fáze životního cyklu se z některých partenogenetických vajíček líhnou samci, kteří jsou diploidní a geneticky identičtí se svou matkou. Samice se připravují na pohlavní rozmnožování tak, že vytvoří eřpium. Sexuální fáze obvykle trvá pouze několik týdnů a dochází v ní k pohlavnímu rozmnožování mezi samci a pohlavními

samicemi. Oplodněná samice zpravidla nese dvě trvalá vajíčka, která jsou při svlékání uvolněna v efiptiu do volného prostoru. Vajíčka jsou v takto konzervovaném stavu schopna přežít i dlouhá období nepřízně a slouží zároveň jako odolná i jako dispersní stádia. Za vhodných podmínek se z trvalého vajíčka líhne partenogenetická samice, která je rekombinantem obou rodičovských genotypů.

2.5. Morfologické vlastnosti hybridů rodu *Daphnia*

Morfologická variabilita zástupců rodu *Daphnia* je velká a do značné míry ovlivněná faktory vnějšího prostředí (např. predační tlak, turbidita, dostupnost potravy) (Benzie 1986). Přesto lze u některých druhů nalézt morfologické znaky, které kromě toho, že jsou druhově specifické, umožňují také identifikaci mezidruhových kříženců. Hybridní mají přechodný fenotyp v porovnání s oběma rodičovskými druhy (např. Brooks 1957; Lieder 1983; Wolf a Mort 1986; Jankowski a Straile 2004) a kombinují tedy morfologické vlastnosti obou rodičovských druhů. Morfologická variabilita hybridů je nicméně přinejmenším stejně velká, jako variabilita rodičovských druhů (Schwenk et al. in MS). V důsledku toho jsou někteří hybridní jasně odlišitelní od obou rodičovských druhů a jiní se naopak podobají jednomu rodičovskému druhu natolik, že je na základě morfologie téměř nelze odlišit. Hybridní F₁-generace se od rodičovských druhů zpravidla liší celkovým tvarem těla i dílčími morfologickými znaky. Pro odlišení F₁ hybridů druhového komplexu *D. longispina* se například tradičně využívají znaky, které se nacházejí v oblasti hlavy (viz Obrázek 4) (Wolf a Mort 1986, Gießler et al. 1999). Zpětní kříženci se morfologicky více podobají jednomu rodičovskému druhu (Jankowski a Straile 2004) a jejich odlišení od jednoho z rodičů je na základě morfologických znaků téměř nemožné. Podobně je tomu také s hybridy F₂-generace a dalšími rekombinanty.



Obrázek 4. Srovnání morfologických znaků *D. cucullata*, *D. galeata* a jejich F₁ hybridu (foto: Š. Ruthová)

Oba rodičovské druhy i F₁ hybrid se od sebe na první pohled morfologicky liší, ale přesné definování rozdílů mezi jednotlivými liniemi může být značně komplikované. K odlišení hybridů od rodičovských druhů zpravidla slouží fixní morfologické znaky, jako je velikost a poloha oka, sklon frontální části hlavy, přítomnost naupliového oka a vzdálenost místa inzerce antenul od vrcholu rostra (označeno šipkami). Mezidruhový hybrid má přechodný tvar hlavy mezi oběma rodičovskými druhy. Od obou druhů se liší polohou antenul (oproti druhu *D. galeata* došlo k posunu místa inzerce antenul blíže k vrcholu rostra), od druhu *D. galeata* velikostí a polohou oka i tvarem hlavy a na rozdíl od druhu *D. cucullata* má tento hybrid vyvinuté naupliové oko.

3. EKOLOGICKÉ VZTAHY

3.1. Fitness hybridů rodu *Daphnia*

Fitness hybridů rodu *Daphnia* může být studována ze dvou různých aspektů. Ekologické studie zpravidla sledují fitness hybridů z krátkodobého hlediska v partenogenetické části životního cyklu a nezabývají se úspěšností hybridů ve fázi sexuální (např. Spaak a Hoekstra 1997). Evolučně biologické studie, které studují dlouhodobý evoluční význam hybridních linií, naopak sledují i reprodukční úspěch hybridů v sexuální fázi životního cyklu a jejich genetický příspěvek do dalších generací (např. Schwenk a Spaak 1995). Hybridní linie, které jsme schopni detekovat, se po celý život nebo po jeho velkou část s úspěchem rozmnožují nepohlavně. Klíčovým faktorem ovlivňujícím jejich relativní fitness jsou proto především selekční faktory vnějšího prostředí (Kapitola 3.2.). Mnohé empirické studie dokazují, že hybridní rodu *Daphnia* mohou být lokálně velmi úspěšnou skupinou, která díky výhodné kombinaci vlastností obou rodičovských druhů spojenou se schopností nepohlavního rozmnožování obsazuje nové niky nebo s úspěchem koexistuje s oběma rodičovskými druhy na jedné lokalitě (Spaak a Hoekstra 1995; 1997; Declerck a De Meester 2003) (Kapitola 3.3.1.). Z tohoto pohledu se fitness hybridů rodu *Daphnia* zásadním způsobem liší od tradičních představ, ve kterých jsou hybridní všeobecně považováni za méně zdatnou linii (Barton a Hewitt 1985). Na druhé straně, jestliže se hybridní rozmnožují pouze partenogeneticky, míra jejich adaptace k podmínkám vnějšího prostředí závisí pouze na mutačních změnách. V důsledku toho mohou být sice lokálně úspěšnou skupinou, nicméně jejich evoluční význam a tedy i dlouhodobá relativní zdatnost jsou zanedbatelné.

Hybridní druhového komplexu *D. longispina* jsou jedinou známou skupinou hybridů rodu *Daphnia*, která je schopna pohlavního rozmnožování. Pomocí molekulárních nástrojů se v několika posledních letech podařilo detekovat F₂ hybridy i zpětné křížence tohoto komplexu na různých lokalitách v Evropě i v Severní Americe (např. Schwenk a Spaak 1995; Taylor a Hebert 1993a; Spaak et al. 2004). K jejich nálezům dochází ve srovnání s počtem hybridů F₁-generace poměrně vzácně, což svědčí o snížené plodnosti F₁ hybridů. Přesný rozsah limitace schopnosti pohlavního rozmnožování u hybridů způsobený poškozením v průběhu meiózy (sterilita hybridů) (Schwenk 1997) nicméně zatím není znám. Pravděpodobnost dokončení embryonálního vývoje F₁ hybridů je ovlivněna směrem mezidruhového křížení a vlastnostmi rodičovských jedinců (Schwenk et al. 2001). Při křížení stejných druhů může být podíl úspěšně vylíhnutých hybridních vajíček poměrně vysoký i roven nule. Podobné vztahy fungují i při zpětném křížení (Schwenk et al. in MS), ale u zpětných kříženců a jejich potomků by se mohla fertilita opět zvyšovat.

Při studiu přirozených populací naší pozornosti zcela unikají hybridy, kteří buď nejsou schopni partenogenetického rozmnožování nebo se nevylíhnou z trvalých vajíček. V ojedinělém laboratorním pokusu, kde byla experimentálně křížena *D. galeata* a *D. cucullata* (Schwenk et al. 2001) se z vyprodukovaných trvalých vajíček dožilo dospělosti pouze 2,8 % hybridů. Ve většině prací sledujících historii druhového složení perlooček ve sladkovodních ekosystémech jsou analyzováni pouze vylíhlí jedinci (Faustová et al. 2004; Spaak a Keller 2004) a o tom, jaký je skutečný podíl hybridních vajíček v přirozeném prostředí tak zatím máme jen kusé informace. Výsledky ekologicky i evolučně zaměřených studií, které ve své práci dále cituji, tedy byly logicky získány při studiu těch nejúspěšnějších hybridních linií. Domnívám se, že právě tento úspěch z nich činí ideální modely pro studium ekologických i evolučních procesů.

3.2. Modely hybridních zón

Snahou populačních ekologů druhé poloviny devatenáctého století se stalo vytvoření souhrnného modelu popisujícího vznik, stabilizaci a chování hybridních zón. Brzy se ukázalo, že navrhnout univerzální model tak, aby vyhovoval požadavkům všech hybridizujících druhů, je velice složité, ne-li nemožné. Zatímco hybridizací některých druhů vznikají jedinci zcela neplodní se zanedbatelnou fitness oproti rodičovským druhům, hybridizací jiných druhů vznikají jedinci částečně plodní, kteří navíc mohou kombinovat vlastnosti obou rodičovských druhů tak, aby byli zvýhodněni v lokálních podmínkách (Arnold 1997). Kromě toho se také liší charakter hybridních zón. U druhů se spojitým areálem hybridní zóna vzniká na překryvu areálu obou populací. Naopak u druhů s ostrůvkovitým rozšířením, kterými jsou také organismy obývající stojaté vody, hybridní zóna v pravém slova smyslu neexistuje nebo má charakter slepence jednotlivých populací („patchwork of populations“ (Harrison a Rand 1989)). Ve snaze vyhovět těmto předpokladům byly navrženy jednak modely ekologické (např. mosaic models (Howard 1986; Harrison 1986), bounded hybrid superiority model (Moore 1977)), ve kterých je selekce ovlivněna faktory vnějšího prostředí, tak i modely, které předpokládají nezávislost selekčních procesů na faktorech vnějšího prostředí (tension zone models (Barton 1979; Barton a Hewitt 1985)). Nezávislostí na faktorech vnějšího prostředí se myslí, že snížená životaschopnost nebo snížená plodnost hybridů je způsobena výhradně endogenními faktory, jako je částečná genetická inkompabilita rodičovských genomů.

3.3. Temporal hybrid superiority hypothesis

Všechny výše uvedené a široce užívané modely hybridních zón byli původně navrženy pro suchozemské a obligátně sexuální organismy. Pro modelování populačních změn rodu *Daphnia* tedy nejsou příliš vhodné. Zástupci rodu *Daphnia* mají nespojitě areály ostrovního charakteru, kde je migrace mezi jednotlivými subpopulacemi uskutečňována dálkovým transportem. Životní prostředí jednotlivých stanovišť je navíc velice homogenní v porovnání se suchozemským prostředím. Není tedy nijak neobvyklé, že se areály subpopulací více druhů nebo rodičovských druhů a jejich hybridů zcela překrývají a dochází k sympatrii (Taylor a Hebert 1992,1993b). Hybridní zóna sensu stricto tak v podstatě neexistuje (Schwenk a Spaak 1995). Výjimku by mohly tvořit dlouhé průtočné korytovité nádrže, kde se na vertikálním i horizontálním profilu tvoří gradienty abiotických i biotických faktorů (např. živiny, rybí predace) (Seďa a Devetter 2000). Nabídka různých stanovišť v rámci jedné lokality se tak rozšíří. Modely popisující dynamiku hybridních zón obligátně sexuálních organismů navíc předpokládají, že je hybridní zóna udržována opakovanými hybridizačními událostmi. U partenogeneticky se rozmnožujících zástupců rodu *Daphnia* toto není nezbytné, protože ke vzniku populace hybridů teoreticky stačí jedna hybridizační událost. Z přírody skutečně známe několik lokalit, kde je celá populace tvořena pouze jedním hybridním klonem (Hebert et al. 1989). Usnadněna je také následná stabilizace klonální linie, protože partenogeneze umožňuje obcházet problémy spojené s pohlavním rozmnožováním (tzv. *hybrid breakdown*).

Jako model vysvětlující koexistenci hybridů a rodičovských druhů a lokální reprodukční úspěch hybridů rodu *Daphnia* byla navržena hypotéza „*temporal hybrid superiority*“ (Spaak a Hoekstra 1997). Ta konstatuje, že na časově proměnlivých lokalitách, jako jsou jezera mírného pásu, mohou hybridy koexistovat se svými rodičovskými druhy, protože v některých částech roku a za vhodných podmínek vnějšího prostředí mají větší fitness. To je v zásadním rozporu s široce rozšířeným modelem tenzních zón (Barton a Hewit 1985), který předpokládá, že hybridy mají nižší fitness než rodičovské druhy a že je tento handicap kompenzován opakovanou produkcí hybridů. Studie zabývající se populační dynamikou hybridů rodu *Daphnia* ukázaly, že hybridy sice mají přechodný fenotyp mezi oběma rodičovskými druhy, ale jejich reprodukční strategie se více podobá reprodukční strategii jednoho rodičovského druhu (Weider 1993; Spaak 1995; Spaak a Hoekstra 1995). Ve fázi partenogenetického množení tak mohou kombinovat menší velikost, která je selekčně výhodná za specifických podmínek vnějšího prostředí (např. zvýšený predační tlak, limitace potravou - Kapitola 3.3.1 a 3.3.2.) s poměrně vysokou reprodukční rychlostí.

3.3.1. Predační tlak

Klíčovým faktorem vysvětlujícím koexistenci hybridů s rodičovskými druhy a dočasný velký populační růst hybridů v přirozených podmínkách bývá zvýšený predáční tlak ryb. Selekcční tlak pozitivně koreluje s velikostí jedinců (O'Brien et al. 1976; Zaret 1980 dle Spaak a Hoekstra 1995) a s jejich viditelností. To znamená, že drobné druhy a druhy s nepigmentovaným karapaxem mají oproti větším nebo pigmentovaným druhům selekcční výhodu. V populacích některých druhů rodu *Daphnia* (např. *D. galeata*) a jejich hybridů je běžné, že při zvýšeném predáčním tlaku ryb (resp. v přítomnosti rybích kairomonů), dochází ke zmenšování průměrné velikosti těla jedinců (Boersma et al. 1998; Declerck a Weber 2003; Spaak et al. 2000).

Spaak a Hoekstra (1995;1997) a Declerck a De Meester (2003) studovali vliv predáčního tlaku ryb na sympatrický hybridní komplex *D. galeata/D. cucullata*. Zatímco bez přítomnosti ryb byl nejúspěšnější největší a nejplodnější druh *D. galeata*, po introdukci ryb měla nejvyšší vnitřní rychlost růstu populace hybridů. Reprodukční úspěch hybridů při silném predáčním tlaku ryb je dán tím, že hybridi slučují poměrně malou tělesnou velikost snižující riziko predace s vysokou reprodukční rychlostí. Jsou tedy úspěšnější než velká *D. galeata*, která silněji podléhá predáčnímu tlaku, i než malá *D. cucullata*, která nemá tak výhodnou reprodukční strategii. Situace se může vyvíjet i jiným způsobem. Flik a Vijverberg (2003) sledovali na jednom stanovišti populace velkého druhu *D. pulicaria* a menších hybridů *D. galeata* × *D. longispina*. Při introdukci ryb na lokalitu začali obě linie vertikálně migrovat, ale později při zvýšení predáčního tlaku se jejich strategie odlišily. *D. pulicaria*, která je na stanovišti bez ryb kompetičně zdatnější, byla náhle oproti malým hybridům selekčně znevýhodněna a uchýlila se do vrstev hypolimnia. Tím sice získala refugium před rybími predátory, ale vlivem nízkých teplot se její růstová rychlost a tím i fitness snížila. Naopak drobnější hybridi využívali přes den refugia v hypolimniu, ale v noci vyplouvali do teplé metabolicky výhodnější povrchové vrstvy (Flik a Vijverberg 2003). Rychlý populační růst hybridů byl tak podpořen nejen menším predáčním tlakem, ale i diferenciací nik.

Kombinací morfologických i behaviorálních vlastností rodičovských druhů mohou hybridi získat výhodu i v přítomnosti bezobratlých predátorů. Spaak (1995) pozoroval, že juvenilní stádia hybridů *D. cucullata* × *D. galeata*, která nejvíce podléhají predáčnímu tlaku bezobratlých predátorů, mají tělesný růst v podstatě shodný s *D. galeata*, ale jejich cyklomorfóza je více podobná druhu *D. cucullata*. První instar hybridů tedy kombinuje relativní délku přilbovitého protažení hlavy a spiny *D. cucullata* a rychlejší růst *D. galeata*.

3.3.2. Dostupnost potravy

Predační tlak nemusí být klíčovým faktorem utvářejícím populační strukturu za všech podmínek. Na mnoha přirozených lokalitách vůbec planktonožravé ryby nejsou, nebo mají malé populační hustoty. Některé studie také ukazují, že vliv rybí predace se stává důležitým až v pozdním období vegetační sezóny, kdy je přítomno dostatečné množství juvenilních ryb (Boersma et al. 1991). Jestliže je predací tlak ryb nízký, dochází ke vzrůstu populačních hustot filtrátorů ve vodním sloupci nádrže. Filtrátoři odfiltrávají velké množství řas v nádrži a limitujícím faktorem se může stát dostupnost potravy. Potravní dostupnost je pro rod *Daphnia* klíčovým faktorem také na oligotrofních a ultraoligotrofních stanovištích, kde je růst řas redukován nízkou dostupností základních živin.

Boersma a Vijverberg (1994a, b) provedli laboratorní pokus, ve kterém sledovali populační dynamiku populací *D. galeata*, *D. cucullata* a jejich mezidruhových hybridů v různých koncentracích potravy. Zjistili, že při limitaci potravou jsou ve výhodě, ve shodě se *size-efficiency hypothesis* (Brooks a Dodson 1965)⁵, větší jedinci (tzn. *D. galeata* a hybridi) a že dojde ke kompetičnímu vyloučení nejmenšího druhu (*D. cucullata*). Zajímavý byl výsledek pokusu s vysokou koncentrací potravy, kdy měli nejvyšší vnitřní rychlost růstu hybridi. Za situace, kdy víme, jak moc se mohou vlastnosti klonů v rámci jednoho taxonu lišit, zůstává otázkou, nakolik výsledek ojedinelého laboratorního pokusu odpovídá situaci v přirozeném prostředí. Kromě dostupnosti potravy má na strukturu populací vliv i kvalita potravy a velikost částic (Repka 1996). Úspěch nebo neúspěch jednotlivých linií ve výše zmíněném experimentu tak může být artefaktem, protože kvalita potravy nebyla brána v úvahu (pokusné klony byly krmeny pouze dvěma druhy řas). Současné výzkumy přirozených sympatrických populací rodu *Daphnia* vliv predace a vliv dostupnosti potravy shrnují v rámci jedné studie, protože striktní oddělení obou faktorů v prostředí větších nádrží a jezer je téměř nemožné.

3.3.3. Další ekologické faktory

Znalost klíčového faktoru ovlivňujícího úspěšnost populací jednotlivých druhů rodu *Daphnia* a jejich hybridů do značné míry zjednoduší interpretaci a následné modelování populačních změn. Při studiu vztahů mezi populacemi a životním prostředím však nesmíme

⁵ Size-efficiency hypothesis (Brooks a Dodson 1965) říká, že:

- 1) planktonní herbivoři otevřených vod soutěží o potravní partikule vhodných rozměrů (1 až 15 μm)
- 2) větší jedinci mají filtraci účinnější a mohou také pozřít větší partikule
- 3) proto, když je intenzita predace nízká, budou malí planktonní herbivoři kompetitivně vyloučeni velkými formami

zapomínat na to, že vnější prostředí je tvořeno celým souborem ekologických faktorů. Relativní význam abiotických a biotických faktorů je navíc často obtížně definovatelný, protože mohou působit jak ve stejném, tak v opačném směru. Výsledky laboratorních studií zaměřených na jediný faktor se tak nemusí shodovat se skutečností, protože směr selekce při působení jednoho faktoru a výsledný směr selekce při působení celé škály faktorů se může značně lišit. Populace rodu *Daphnia* mají navíc poměrně dynamický vývoj a i malá změna v některém z faktorů vnějšího prostředí může způsobit velké změny ve struktuře a početnosti populací. Predační tlak ani dostupnost potravních zdrojů by tak rozhodně neměly být považovány za jediné faktory ovlivňující fitness hybridů, jejich distribuci v rámci stanoviště a sílu „mezidruhové“ konkurence.

Kromě vlivu predace a dostupnosti potravy byla popsána celá řada faktorů, kterými je možno vysvětlit vztahy populací hybridů a jejich rodičovských druhů. Je to například parazity (Wolinska et al. 2004), morfometrické parametry jezera (Schwenk, nepublikováno podle Schwenk 1997), fluktuace teplot během roku (Spaak a Hoekstra 1997), nebo dostupnost základních prvků. Zástupci rodu *Daphnia* jsou často limitováni fosforem (Sterner a Essen 1994), nenasyčenými mastnými kyselinami (Wacker a von Elert 2001), ale podobně i kombinacemi chloridů a křemičitanů (Schwenk 1997). Obecně se dá říct, že přítomnost hybridů na jednotlivých lokalitách a jejich koexistence s rodičovskými druhy je ovlivněna jak historicko-demografickými faktory, tak současnými environmentálními podmínkami a jejich změnami. Vždy však musíme striktně oddělovat faktory ovlivňující lokální a dočasný reprodukční úspěch hybridů od faktorů, které mají vliv na samotný vznik hybridních linií, jejich reprodukční úspěch cestou pohlavního rozmnožování a možnost jejich dlouhodobého přežívání; ty jsou spíše endogenního charakteru.

Taxon	Predační tlak				Vnitřní rychlost růstu	
	Predační tlak ryb	bezobratlých predátorů	Mezidruhová kompetice	Limitace potravou	Parazitace	za průměrných podmínek
<i>D. galeata</i>	vysoký	nízký	nízká	nízká	nízká	vysoká
<i>D. cucullata</i>	střední	vysoký	nízká	vysoká	nízká	nízká
hybridi	nízký	střední	vysoká	střední	vysoká	vysoká

Tabulka 1. Ekologické charakteristiky *D. galeata*, *D. cucullata* a jejich mezidruhových kříženců.

4. EVOLUČNÍ DŮSLEDKY HYBRIDIZACE RODU *DAPHNIA*

V předchozí kapitole jsem se pokusila ukázat, jak kombinace morfologických i fyziologických vlastností obou rodičovských druhů spolu se schopností nepohlavního

rozmnožování usnadňuje hybridům rodu *Daphnia* založení populace, která je nejen schopna obstát v podmínkách vnějšího prostředí, ale za správné konstelace také úspěšně konkurovat oběma rodičovským druhům. Nepohlavní rozmnožování je výsadou skýtající ohromný potenciál – nejen že nemusí docházet k produkci samců, ale základem celé populace se navíc může stát jediná hybridní samice. Taková situace pochopitelně není možná u žádného obligátně sexuálního organismu, kde je jedinou možností jak stabilizovat hybridní zóny opakovaná hybridizační událost. Na druhé straně, při absenci pohlavního rozmnožování zůstávají jediným zdrojem variability náhodné mutace a přizpůsobivost asexuálních linií na nové vnější podmínky je proto minimální. Otázka dlouhodobého přežívání hybridních linií a evolučních důsledků z toho plynoucích je tak ve srovnání s dočasným ekologickým významem hybridů značně komplikovaná.

4.1. Stabilizace hybridních linií

Délka setrvání hybridů na stanovišti je ovlivněna dvěma faktory: 1) podmínkami vnějšího prostředí (chemické a fyzikální faktory, interakce s jinými organismy) a 2) schopností hybridů přežít nepříznivá období (fyziologické vlastnosti). Jestliže jsou podmínky vnějšího prostředí vhodné a dostatečně stálé, může jedna klonální linie na lokalitě setrávat i mnoho desítek let (Jankowski a Straile 2004). Naopak na lokalitách, které podléhají fluktuacím, je produkce trvalých vajíček pro udržení populace perlooček nezbytná. Různí hybridní rodu *Daphnia* jsou různou měrou uzpůsobeni k udržení hybridních linií v obdobích, kdy je pro ně společné působení biotických a abiotických faktorů nepříznivé. Populace, které se množí partenogeneticky bez produkce trvalých vajíček, jsou nejméně stabilní. Absence odolných dispersních stádií zvyšuje citlivost populace na sezónní výkyvy podnebí, čímž je zvýšena také pravděpodobnost extinkce. Příkladem jsou hybridní *D. „obtusá“* a *D. pileata* obývající periodické tůně v Severní Americe (Hebert a Finston 1996). Tůně pravidelně vysychají, což vede k zániku místních populací perlooček. Zatímco populace obou rodičovských druhů se po opětovném zavodnění obnovují z banky trvalých vajíček, hybridní linie může vzniknout pouze opakovanou hybridizací, protože F1 hybridní jsou zřejmě sterilní.

Možností jak zvýšit stabilitu klonálních linií je obligátní partenogeneze, která je běžná například u arktických tůňových populací rodu *Daphnia* (Hebert et al. 1989; Hebert et al. 1993), ale také ve vysokohorských podmínkách (Mergeay et al, in MS) Obligátně partenogenetické samice jsou schopny vytvářet vedle klasických partenogenetických vajíček také vajíčka trvalá, čímž je vyřešen problém sezónních výkyvů ve faktorech vnějšího prostředí. Trvalá vajíčka jsou generována nepohlavní cestou a posléze se z nich líhnou jedinci

geneticky identičtí se svou matkou. Variabilita v rámci žijící populace i v rámci disperzních stádií je proto v důsledku absence pohlavního rozmnožování minimální. Dlouhodobá perspektiva obligátně partenogenetických linií je tedy v podstatě stejná jako perspektiva linií neprodukujících odolná dispersní stadia. Přestože obligátně partenogenetické linie snadno přecházejí sezónní výkyvy ekologických faktorů, délka jejich persistence na stanovišti je zcela závislá na dlouhodobé stabilitě vnějšího prostředí. Hrozba vymření lokálních populací hybridů tedy není zažehnána, pouze oddálena na dobu, kdy dojde k natolik zásadní změně ekologických podmínek, že se jí uniformní populace hybridů nebudou schopny přizpůsobit.

Některí obligátně partenogenetičtí hybridi se dokonce často uvádějí jako samostatné druhy (např. severoamerické arktické populace označované jako *D. „middendorffiana“* (Dufresne a Hebert 1994)). Populace obligátně partenogenetických hybridů se skutečně jeví jako dobře morfologicky i ekologicky definované druhy, dokud není provedena genetická analýza. Vzhledem k opakovanému vzniku hybridních linií však o speciaci v pravém slova smyslu nejde.

Hybridy z druhového komplexu *D. longispina* jsou příkladem třetí možné životní strategie: neztrácejí zcela schopnost pohlavního rozmnožování a jsou tudíž stejně jako rodičovské druhy schopni rozmnožovat se cyklickou partenogenezí. Přestože v partenogenetické části životního cyklu bývají hybridy tohoto druhového komplexu velmi úspěšní, jejich pohlavní rozmnožování je komplikovanější. O snížené plodnosti F_1 hybridů svědčí poměrně vzácné případy detekce F_2 hybridů a zpětných kříženců (Wolf 1987, Spaak 1996) (Kapitola 3.1.). Přestože se pohlavní rozmnožování F_1 hybridů zdá být v porovnání s frekvencí úspěšného pohlavního rozmnožování rodičovských druhů relativně vzácnou událostí, může mít významné důsledky. Zpětné křížení otevírá cestu k zásahům do genofondu obou rodičovských druhů a teoreticky může dojít i k evoluci a případně dlouhodobější stabilizaci hybridní linie geograficky oddělené od jednoho či obou rodičovských druhů (Kapitola 4.2.2.).

Životní cyklus	Citlivost na krátkodobé (sezónní) fluktuace	Citlivost na dlouhodobé fluktuace
Partenogeneze bez disperzního stadia	Vysoká	Vysoká
Obligátní partenogeneze	Nízká	Vysoká
Cyklická partenogeneze	Nízká	Nízká

Tabulka 2. Míra citlivosti taxonů s různými životními strategiemi k různě dlouhým fluktuacím ekologických faktorů.

4.2. Důsledky hybridizace v přirozeném prostředí

Jedinec, který vzniká procesem hybridizace, má zcela nový genotyp, který se zásadním způsobem liší od genofondu obou rodičovských druhů. Hybridizace je tedy v přirozeném prostředí především zdrojem variability. V porovnání s rychlostí změn v genofondu, které vznikají jako důsledek mutací a rekombinace, se hybridizace jeví jako dramatický proces, kdy k významným evolučním změnám může docházet již během jedné generace. Právě díky rychlosti, se kterou hybridizace tvoří nové kombinace genů a se kterou hybridní jedince vystavuje působení selekce, je hybridizace ideálním modelem pro studium evoluce.

Důsledků, kterými v přirozeném prostředí ústí hybridizační události, je celá řada a různou měrou ovlivňují jak samotné hybridy, tak i oba rodičovské druhy. Interakce hybridů a rodičovských druhů v hybridních zónách jsou často chápány jako balancování mezi splýváním mezidruhových hranic (*fusion*) a posilováním reprodukčních bariér mezi rodičovskými druhy (*reinforcement*) (Harrison 1990). Výsledek závisí především na dlouhodobé fitness hybridů a na stupni prezygotické reprodukční izolace hybridizujících druhů, zejména na selektivitě při výběru partnera (Wilson 1965, podle Harrison 1990). Jestliže je relativní fitness hybridů nízká, dochází k posílení prezygotických reprodukčních bariér rodičovských druhů. V důsledku toho se sníží i frekvence hybridizačních událostí a zformují se dobře reprodukčně izolované druhy (*reinforcement*). Naopak vysoká relativní fitness hybridů podpoří horizontální tok genů a oba rodičovské druhy i se svými hybridy postupně splynou v homogenní (pravděpodobně polymorfni) populaci (*fusion*) (Harrison 1990). V některých případech bývá hybridizace následována izolací hybridů od obou rodičovských druhů, čímž může být nastartován proces speciace. Mechanismem speciace u populací hybridů vzniklých pohlavním rozmnožováním rodičovských druhů může být (Grant 1981, podle Harrison 1990):

- 1) oddělení hybridů vnějšími izolačními mechanismy, které mohou být ekologické (například konkurenční vyloučení rodičovských druhů, osídlení typově nového stanoviště), časové nebo behaviorální (Kapitola 4.2.2.);
- 2) rekombinační speciace⁶, kdy se rekombinanti pocházející z křížení hybridů F₁-generace pohlavně rozmnožují mezi sebou, ale nekříží se s rodičovskými druhy nebo s jinými rekombinantními genotypy (Flégr 2005);

⁶ Rekombinační speciace je v přirozeném prostředí vzácná a dochází k ní především u rostlin. Žádný známý druh rodu *Daphnia* tímto způsobem pravděpodobně nespocioval.

3) nebo proces alopolyloidizace, kdy u hybridů dochází k násobení počtu chromosomů (viz. Kapitola 4.2.3.).

Jak už jsem ukázala výše, různí hybridi rodu *Daphnia* se zásadním způsobem liší historií svého vzniku, svou relativní fitness i svou životní strategií. Evolučních důsledků z toho plynoucích je proto celá škála, liší se hybrid od hybrida a nabízí pole neorané mnohým evolučním biologům. Narozdíl od ekologie hybridů rodu *Daphnia*, která velkou měrou neodpovídá univerzálním modelům hybridních zón, jsou evoluční důsledky hybridizace tohoto rodu v souladu se současnými představami o dynamice a evoluci populací hybridů a jejich rodičovských druhů. Evolučním důsledkem hybridizace rodu *Daphnia* je pak především introgrese, speciace a polyploidizace hybridních linií.

4.2.1. Introgrese

Nejzásadnějším, ale zároveň poměrně častým evolučním procesem, který hybridizaci rodu *Daphnia* provází, je horizontální tok genů (introgrese). Tento proces můžeme definovat jako výměnu genů mezi druhy, poddruhy, rasami nebo jinými soustavami populací (Rieseberg a Wendel 1993, podle Schwenk 1997), ale stejný termín byl použit i pro pojmenování několika dalších fenoménů (Harrison 1990). Proces introgrese zahrnuje cytoplazmatickou introgresi (přenos mitochondriálních nebo chloroplastových genomů) i introgresi jaderné DNA, přičemž k oběma typům toku genů nemusí docházet současně nebo jejich síla nemusí být stejná. Z přirozeného prostředí známe mnoho případů, kdy je cytoplazmatický tok genů silnější než jaderný nebo naopak. Přesné mechanismy těchto nesouladů nejsou známy, ale výchytky mohou být způsobeny například selekcí vůči cizorodým genům (Rieseberg et al. 1991) nebo asymetrickou reproduktivní izolací (Aubert a Solignac 1990). Intenzivní studie introgrese u rostlin (např. Ellstrand et al. 1999, Hardig et al. 2000, Rieseberg 1998) a u živočichů (např. Aubert et al. 1997, Dowling a Hoeh 1991, Epifanio a Philipp 2000) v několika posledních letech ukázaly, že introgrese je mocným nástrojem evoluce a že její vliv na variabilitu a genetickou diverzitu přirozených populací může být významný; a to ať v pozitivním (Stebbins a Daly 1961) nebo negativním (Rhymer a Simberloff 1996) slova smyslu.

V rámci rodu *Daphnia* dochází k horizontálnímu přenosu genů procesem tzv. „introgresivní hybridizace“. Tento termín poprvé užili Anderson a Hubricht (1938) k popisu důsledků opakovaného zpětného křížení hybridů a rodičovských druhů. K přenosu genů dochází tehdy, jestliže se hybridi F₁-generace kříží zpětně s jedním nebo druhým rodičovským

druhem (reciproční křížení). Polovina genomu, kterou do rozmnožování vkládá hybrid obsahuje geny obou rodičovských druhů, protože při meióze dochází k separaci chromozómů náhodně. Zpětný kříženec tak teoreticky má tři čtvrtiny genomu od jednoho druhu a jednu čtvrtinu od druhého.

Podmínkou introgresivní hybridizace je alespoň částečná fertilita hybridů a zpětných kříženců. Tento požadavek splňují v rámci rodu *Daphnia* především hybridní druhového komplexu *D. longispina* (Kapitola 2.2.). Introgrese byla u této skupiny také několikrát nezávisle pozorována (například Gießler 1997; Spaak 1996), ale ve všech případech šlo o introgresi jaderné DNA. Horizontální přenos mitochondriální DNA nebyl u rodu *Daphnia* nikdy pozorován (Schwenk 1993, Taylor a Hebert 1993b), což je poměrně překvapivé, protože mitochondriální DNA je obvykle k introgresi mnohem více náchylná než jaderná DNA (Harrison 1990). Absence cytoplazmatické introgrese může být vysvětlena nízkou fertilitou hybridních samic, které často produkují prázdná nebo jinak poškozená eřipia (Carvalho a Wolf 1989). Někdy je také počet sexuálních samic hybridů v porovnání s počtem samců nízký (Taylor nepublikováno, podle Taylor a Hebert 1993b) a příspěvek sexuálních samic hybridů při zpětném křížení je tak nepozorovatelný.

Jestliže je populační hustota jednoho rodičovského druhu v porovnání s populační hustotou druhého rodičovského druhu nízká, hybridní se s větší pravděpodobností páří s hojnějším druhem. V důsledku nerovnoměrného zpětného křížení pak introgrese u rodu *Daphnia* probíhá asymetricky a někdy je dokonce jednosměrná (Taylor a Hebert 1993b).

Rozsah přenosu genů mezi populacemi je závislý především na schopnosti dispersního šíření jedinců a na pravděpodobnosti jejich úspěšného páření s domácími populacemi na nově osídlené lokalitě. Zástupci rodu *Daphnia* mají nespojitý areál ostrovního charakteru a k introgresi tak dochází především mezi populacemi různých druhů v rámci jedné lokality nebo lokalit blízkých. Výstavba rezervoárů se stojatou vodou, jakými jsou například přehradní nádrže a rybníky, a eutrofizace vod významným způsobem rozšiřuje nabídku potenciálních stanovišť. Usnadněna je také migrace, protože vzdálenosti mezi jednotlivými lokalitami se zkracují. V důsledku výše uvedených jevů se do přímého kontaktu dostávají i druhy, které se dříve setkávaly jen výjimečně (Petrušek, osobní sdělení). Jestliže jsou hybridní schopni pohlavního rozmnožování, jak je tomu u hybridů druhového komplexu *D. longispina*, fungují jako spojka mezi oběma rodičovskými druhy, přes kterou dochází k přelévání genů. V důsledku toho má evoluce obou rodičovských druhů síťovitý charakter („*reticulate evolution*“), s čímž je spojen také nesoulad druhově specifických markerů (Schwenk et al.

1995). Studium introgrese je poměrně komplikované a vyžaduje sofistikované metody molekulární detekce introgresantů.

O přesných důsledcích přenosu genů rodu *Daphnia* toho tedy zatím není příliš známo a výsledky jednotlivých studií většinou nelze zobecnit pro všechny populace daného druhu. Domnívám se, že u ekologicky dobře oddělených taxonů (např. *D. galeata mendotae* a *D. dentifera*) je introgrese především nápomocným faktorem při procesu osidlování nových stanovišť, ale její vliv na genofond rodičovských druhů je relativně malý. Důsledky introgrese u druhů, které obývají podobná stanoviště a areály jejich rozšíření se téměř překrývají (*D. galeata* a *D. cucullata*), je složitější odhadnout. Nelze vyloučit, že masivní introgrese povede postupně k unifikaci rodičovských genotypů a ke splývání populací hybridů a rodičovských druhů na lokalitách, kde se oba rodičovské druhy vyskytují současně.

4.2.2. Speciace cestou hybridizace

Složitost fylogenetických vztahů rodu *Daphnia* zaskočila nejednoho badatele, který se jim snažil přijít na kloub (Kapitola 2.1.). Dnes už víme, že mnohé komplikace působí častá hybridizace a introgrese, v důsledku kterých se cesty fylogenetického vývoje některých druhů opakovaně spojují, rozdělují a kříží (*reticulate evolution*). O to víc je překvapující, že následkem hybridizace v rámci tohoto rodu může být i speciace – tedy odštěpení zcela nové nezávislé linie.

Nearktická *D. galeata mendotae* je již pár desítek let považována za samostatný druh (Brooks 1957) a oprávněnost tohoto statutu byla potvrzena několika nezávislými studiemi (Taylor a Hebert 1993c; Hebert a Colbourne 1996). Taylor et al. (2005) publikovali komplexní fylogenetickou studii, ve které porovnávali sekvence mitochondriálního genu pro malou ribosomální podjednotku (12S rDNA), sekvence ITS⁷ a restrikční místa na ITS tohoto druhu s některými dalšími severoamerickými a evropskými zástupci druhového komplexu *D. longispina*. Mitochondriální sekvence *D. galeata mendotae* byly podle očekávání velice podobné sekvencím evropského druhu *D. galeata* a oba druhy spolu na základě analýzy mtDNA⁸ tvořily monofylum. Fylogram založený na srovnávací analýze sekvencí ITS z jaderné DNA se ale zásadním způsobem lišil. Druh *D. galeata mendotae* se prolínal hned dvěma větvemi. Většina jedinců tvořila těsné seskupení s druhem *D. dentifera* a několik zbylých individuí bylo tradičně přiřazeno k druhu *D. galeata*. Tedy zatímco mtDNA

⁷ Internal transcribed spacer (Kapitola 5.2.2.)

⁸ Mitochondriální DNA.

D. galeata mendotae je blízce příbuzná mtDNA *D. galeata*, její jaderné sekvence ITS obsahují četné známky introgrese z *D. dentifera*.

Tento zdánlivý rozpor vyřešili autoři studie elegantním způsobem. Domnívají se, že druh *D. galeata mendotae* vznikl procesem izolace rekombinantů vnějšími ekologickými faktory. Přesněji, že hybridizaci druhů *D. galeata* a *D. dentifera* následovalo několik zpětných křížení hybridů F₁-generace s druhem *D. galeata*, přičemž rekombinanti byli posléze odděleni od obou rodičovských druhů vnějšími izolačními mechanismy (rozdílná preference stanovišť (Duffy et al. 2004), geografická bariéra při zalednění). Tím je vysvětlena jak vysoká podobnost mitochondriálních sekvencí *D. galeata mendotae* a *D. galeata*, tak introgrese z *D. dentifera*. Hybridní původ tohoto druhu dokládá také restriční vzor ITS, kde *D. galeata mendotae* sdílí většinu restričních míst s oběma rodičovskými druhy. *D. galeata mendotae* je tak pravděpodobně zcela unikátním případem speciace cestou hybridizace v rámci celého rodu *Daphnia*.

4.2.3. Polyploidní linie

Zajímavým důsledkem hybridizace je vznik a stabilizace polyploidních populací. Tento fenomén, kdy dochází k hybridizaci následované reprodukční izolací hybridů v důsledku jednoho nebo více zdvojení nebo znásobení chromosomové sádky, je poměrně častý u rostlin, ale známe ho i z živočišné říše (Soltis a Soltis 1993). Populace polyploidních hybridů rodu *Daphnia* sice jsou reprodukčně izolovány od rodičovských linií, ale rozmnožují se pouze obligátní partenogenezí (Hebert et al. 1989). O speciaci cestou alopolyloidizace, u které je podmínkou schopnost pohlavního rozmnožování mezidruhových kříženců, se tedy nejedná.

U rodu *Daphnia* jsou známy populace polyploidních hybridů i populace polyploidů vzniklých pouze znásobením počtu chromosomů jednoho druhu. Polyploidie je poměrně častá v arktických oblastech Severní Ameriky a Evropy (Weider et al. 1987), zatímco směrem na jih polyploidních linií postupně ubývá. Na jižní polokouli jsou polyploidní populace známy z nejjihnějších oblastí Jižní Ameriky (Adamowicz 2002) a z vysokých nadmořských výšek Bolivijských And (Mergeay et al., in MS). Tento čistý vztah mezi zeměpisnou šířkou, nadmořskou výškou a stupněm ploidie je v souladu s tvrzením, že polyploidie je selektována v extrémních životních podmínkách. Studie založené na alozymových analýzách ukázaly, že klonální diverzita arktických polyploidních hybridů je velmi vysoká, ale populace na

jednotlivých stanovištích jsou obvykle tvořeny méně než třemi klony⁹ (Hebert a Crease 1983; Wilson a Hebert 1992). Z toho je zřejmé, že k hybridizačním událostem a následné polyploidizaci dochází opakovaně.

Všechny známé polyploidní linie náleží do skupiny *D. pulex*. V arktických oblastech žijí populace polyploidních jedinců druhu *D. „middendorffiana“*¹⁰ a *D. „tenebrosa“* a polyploidní mezidruhová kříženci druhů *D. pulicaria* a *D. „pulex“* (Weider a Hebert 1987). Taxon *D. „middendorffiana“* je tvořen apomiktickými polyploidními jedinci s pigmentovanou kutikulou. Většina jedinců je tetraploidní, ale malé procento některých populací je pravděpodobně tvořeno i pentaploidy (Beaton a Hebert 1988). Druh *D. „tenebrosa“* se vyskytuje jako diploidní i jako polyploidní forma a může být, ale nemusí být pigmentovaný. Žádná souvislost mezi stupněm ploidie a pigmentací ale nebyla prokázána (Dufresne a Hebert 1995). Některé polyploidní klony z Jižní Ameriky mohou být také hybridního původu (Adamowicz 2002), ale nelze to tvrdit s jistotou, protože systematika jihoamerických perlooček je zatím neúplná.

Jedinci taxonu *D. „middendorffiana“* jsou geneticky velmi heterogenní (Weider a Hebert 1987) a jejich mitochondriální DNA bývá velmi podobná mtDNA *D. pulicaria* nebo mtDNA *D. melanica* (Dufresne a Hebert 1994). Dufresne a Hebert (1994) se proto domnívají, že v minulosti došlo k mezidruhovému křížení samců *D. „pulex“* a samic *D. pulicaria* nebo *D. melanica* a následnému zdvojení chromosomové sádky diploidního hybridu do dnešní tetraploidní podoby. Tuto teorii podporuje také to, že všechny arktické polyploidní linie hybridů *D. „pulex“* × *D. pulicaria* mají mitochondriální DNA po *D. pulicaria*, zatímco diploidní F₁ hybridi těchto druhů z oblastí mírného pásu mají mtDNA typickou pro *D. „pulex“* (Crease et al. 1989). Zdá se tedy, že přítomnost polyploidie by mohla být kontrolována směrem mezidruhového křížení. Diploidní hybridi vzniknou, jestliže je mateřským druhem *D. „pulex“*, polyploidi, jestliže je mateřským druhem *D. pulicaria* nebo *D. melanica* (Dufresne a Hebert 1994).

Polyploidní *D. „tenebrosa“* je morfologicky i na základě alozymových dat velmi podobná diploidní formě. Polyploidní jedinci tedy bývají charakterizováni jako autopolyploidi. Nicméně mitochondriální divergence mezi jednotlivými klony je velmi vysoká a není vyloučeno, že dochází k hybridizaci i mezi jednotlivými liniemi

⁹ Jedinci byli označeni jako klony, protože se shodovali ve všech analyzovaných lokusech. Nicméně nelze vyloučit, že při využití většího množství genetických markerů by klonálních linií bylo rozpoznáno více.

¹⁰ Některé druhy rodu *Daphnia* z amerického kontinentu uvádím v uvozovkách, protože systematika a názvosloví perlooček z této oblasti jsou často založené pouze na morfologické podobnosti s některými euroasijskými druhy a jejich nomenklatura je nesprávná.

D. „tenebrosa“ (Dufresne a Hebert 1995). Polyploidní *D. „tenebrosa“* tak mohou mít i alopolyloidní původ.

Kromě výše zmíněných polyploidů píše Dufresne a Hebert (1994) ještě o dalším, poměrně unikátním tetraploidním nemelanizovaném klonu z jezera Churchill v Kanadě. Tento klon měl jadernou DNA typickou pro druh *D. „pulex“* a byl homozygotní ve většině zkoumaných lokusů. Jeho mitochondriální haplotyp byl ale velmi podobný mitochondriálnímu haplotypu *D. „tenebrosa“*. Autoři studie tento fakt vysvětlují tím, že v minulosti došlo k hybridizaci samic *D. „tenebrosa“* a samců *D. „pulex“*. Hybridizaci pak mohlo následovat umlčení (silencing) mateřského jaderného genomu a replikace jaderného genomu *D. „pulex“* do tetraploidní podoby. Tím by byla vysvětlena také chybějící heterozygotnost těchto klonů. Pokud jsou všechny teorie o vzniku polyploidních linií správné, heterozygotnost polyploidů je dána genetickou divergencí obou rodičovských druhů. Hybridizace blízké příbuzných druhů, jako je *D. „pulex“* a *D. pulicaria*, následovaná zdvojením chromosomové sádky diploidního hybridu povede ke vzniku vysoce heterozygotních populací. Naopak hybridizace geneticky vzdálenějších druhů, jako je *D. „tenebrosa“* a *D. „pulex“*, následovaná umlčením mateřského genomu by vedla ke vzniku homozygotů (Dufresne a Hebert 1994).

5. METODY DETEKCE HYBRIDŮ RODU *DAPHNIA*

V několika posledních desetiletích byla použita takřka desítky metod umožňujících determinaci druhů rodu *Daphnia*. Většinu z nich lze zároveň využít k detekci mezidruhových kříženců. Jednotlivé metody se liší svou přesností, časovou náročností a cenovou dostupností. Pro získání základního přehledu, odhadu frekvence výskytu hybridů a případně pro ověření dílčích výsledků obvykle stačí určení hybridů na základě morfologických znaků. Většina moderních metod detekce je však založena na molekulárních znacích a využívány jsou jak metody znakové, tak distanční. Současné studie se zpravidla nespolehají na výsledky získané jedinou metodou, ale kombinují více způsobů detekce hybridů a dalších rekombinantů. Z vlastní zkušenosti vím, že výsledky získané jedinou metodou nebo získané na základě jednoho molekulárního znaku nemusí být spolehlivé i přesto, že byly odzkoušeny na stovkách individuí.

5.1. Detekce na základě morfologických znaků

Detekce hybridů na základě morfologických znaků vyžaduje buď jistou dávku zkušeností nebo sofistikovaný počítačový program. K detekci se obvykle využívají dospělé

samice, u kterých předpokládáme, že už nebude docházet v posunu sledovaných morfologických znaků. Samci prakticky využívání nejsou, protože jsou mnohem vzácnější než samice a jejich morfologie není tak dobře popsána. Hybridy F₁-generace lze často rozeznat podle celkového vzezření, protože jejich fenotyp bývá v porovnání s oběma rodičovskými druhy přechodný (Wolf a Mort 1986; Giebler 1997), tj. dochází k posunu morfologických znaků (například velikost těla, vzdálenost místa inserce antenul od vrcholu rostra nebo sklon frontální části hlavy) do středních hodnot mezi oběma rodičovskými druhy (Obrázek 4). Taková metoda však stěží odhalí zpětné křížence, kteří jsou morfologicky podobní jednomu rodičovskému druhu, a další generace hybridů. V přirozeném prostředí navíc dochází posunu morfologických znaků pod tlakem vnějších selekčních faktorů a plasticita fenotypu hybridů a obou rodičovských druhů je velká (Brooks 1957; Benzie 1986). Rozsah znaku jednotlivých taxonů se proto může překrývat.

V morfologických studiích rodu *Daphnia* jsou často využívány metody morfometrie. Při tradičním postupu (Giebler et al. 1999, Giebler 2001) je proměřována celá sada kvantitativních (např. délka těla, šířka těla, vzdálenost oka od vrcholu rostra) i kvalitativních (např. poloha antenul, sklon frontální části hlavy, velikost a poloha oka) morfologických znaků a morfologická divergence jedinců je vyhodnocována některou mnohorozměrnou statistickou metodou (např. analýza hlavních komponent PCA, mnohorozměrná klasifikace objektů MDS, analýza diskriminačních funkcí DFA, shluková analýza). Výsledkem je graf, kde jedinci s podobnou morfologií tvoří samostatné skupiny. Jednotlivé skupinky však většinou nejsou dobře oddělené a metoda se proto nepoužívá přímo pro determinaci druhů, ale zpravidla se kombinuje s nějakou další molekulárně-biologickou metodou. Další možností je využití geometrické morfometrie. Pro rod *Daphnia* byla zatím odzkoušena eliptická Fourierova analýza obrysu (Schwenk et al. in MS), kdy je tvar sledovaného objektu nejprve vyjádřen větším počtem bodů podél jeho obrysu a zkoumaný obrys je následně popsán sérií několika harmonických funkcí. Výsledky všech analýz jsou vyhodnocovány počítačovými programy. Pro vyhodnocení výsledků tradičních morfometrických metod obvykle stačí komerčně dostupné programové balíky (SPSS, Statistica, SPLUS, NCSS), pro účely geometrické morfometrie většinou slouží programy specializované (tpsDig, EFA) (Zima a Macholán 2004).

5.2. Molekulárně–biologické metody detekce

Velká morfologická variabilita a absence stabilních morfologických znaků byla po dlouhou dobu příčinou velkého zmatku v systematice rodu *Daphnia* (Flössner 2000; Benzie

2005). Situace se usnadnila až se zpřístupněním molekulárně–biologických nástrojů, které umožnily na základě druhově specifických molekulárních znaků poměrně přesnou determinaci druhů i mezidruhových kříženců. Pro určování hybridů i rodičovských druhů tohoto rodu byla po dlouhou dobu jedinou dostatečně spolehlivou a cenově dostupnou metodou elektroforéza proteinů (alozymová elektroforéza) (Wolf a Mort 1986; Hebert a Beaton 1989; Giessler 1997). V současnosti máme k dispozici i metody, které jsou založené na amplifikaci DNA metodou PCR, jako je sekvenace jaderné a mitochondriální DNA (Taylor et al. 2005), RFLP (Billiones et al. 2004), RAPD (Ender a Schierwater 1993; Schwenk et al. 1995) nebo AFLP (Gili et al. 2004).

5.2.1. Alozymová elektroforéza

Podstatou alozymové elektroforézy je oddělení alozymů, tedy různých alelických forem téhož enzymu, v elektrickém poli podle elektromobility. Elektromobilita enzymů je určena jejich nábojem, velikostí a tvarem. Změna v mobilitě proteinů je pak podmíněna změnami v sekvencích DNA, které daný protein kódují. Základními předpoklady pro použití alozymových dat je dědičnost vizualizovaných znaků, kodominantní charakter exprese proteinů a selekční neutralita alternativních alel na daném lokusu (Macholán 2004).

Pro účely alozymové elektroforézy se používají čerstvé nebo v tekutém dusíku zmražené vzorky (Macholán 2004). Po homogenizaci jsou jednotlivé vzorky nanášeny na gel a celý gel je vložen do komory, kde probíhá samotná elektroforéza. Výsledky jsou nakonec vizualizovány barvením. Pro analýzu alozymů zástupců rodu *Daphnia* je v současné době využíván téměř výhradně celulózo–acetátový gel (Hebert a Beaton 1993) a enzymy jsou barveny specificky – přeměnou specifického substrátu. Pro determinaci jednotlivých druhů i mezidruhových kříženců rodu *Daphnia* jsou využívány enzymy, jejichž jednotlivé alelické formy jsou druhově specifické. Elektromobilita alozymů se tedy liší mezi jednotlivými druhy. Rodičovské druhy jsou v těchto znacích homozygotní, zatímco mezidruhoví kříženci jsou heterozygotní a vykazují oba typy rodičovských alel. Vhodným druhově specifickým lokusem je zejména aspartát aminotransferáza (sAAT) (Wolf a Mort 1986), dále se využívá i aldehyd oxidáza (AO) (Giessler 1997). Zkušenosti s jeho využitím u českých populací rodu *Daphnia* jsou však problematické (Petrušek, osobní sdělení). V populačních studiích jsou využívány i lokusy druhově nespecifické, jako je fosfoglukomutáza (PGM) nebo fosfoglukóza izomeráza (PGI) (Wolf a Mort 1986; Keler a Spaak 2004; Spaak et al. 2004).

Alozymová elektroforéza je pro účel určování druhů a mezidruhových kříženců rodu *Daphnia* velmi dobře odzkoušenou a spolehlivou metodou. Kromě toho je to metoda poměrně

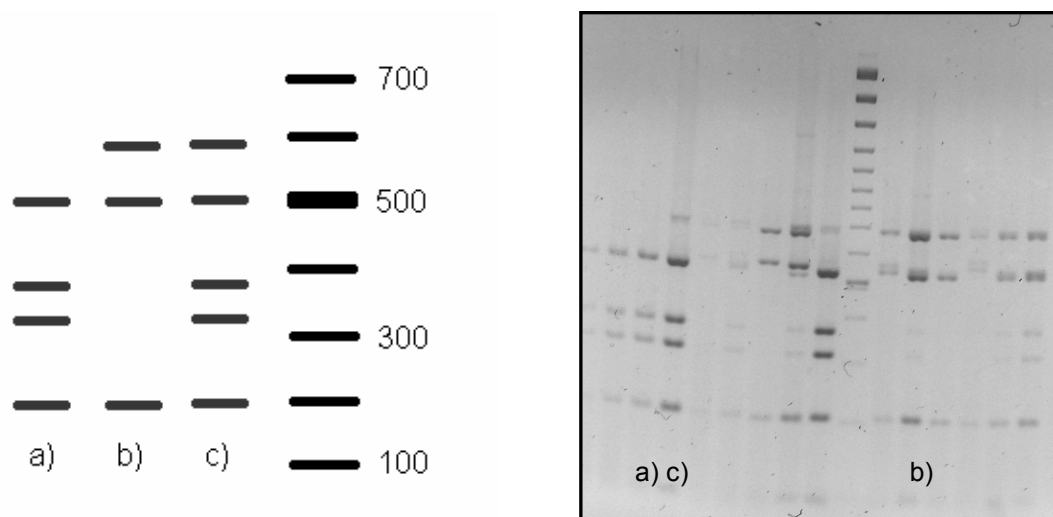
levná a rychlá a hodí se pro zpracování velkého množství vzorků (v řádu tisíců). Na druhé straně, všechny vzorky musí být čerstvé nebo zmražené v tekutém dusíku, což je pro odběry ve volné přírodě nepraktické. Někdy jsou také špatně odečitatelné výsledky z gelů, například jestliže mají jednotlivé alely podobnou elektromobilitu. Vzhledem k relativně nízké variabilitě alozymů (ve srovnání s metodami založenými na analýze DNA) může dojít také k přehlédnutí atypických genotypů (včetně případných odlišných taxonů), které se na sledovaných markerech neliší od běžně nalézaných druhů.

5.2.2. ITS-RFLP

Metoda ITS-RFLP byla na rozdíl od alozymové elektroforézy pro druhový komplex *D. longispina* rovnou navržena tak, aby umožnila determinaci jednotlivých druhů a mezidruhových kříženců tohoto komplexu (Billiones et al. 2004). ITS-RFLP je restriční analýza (RFLP = *restriction fragment length polymorphism*) (Dowling et al. 1996) části jaderného genomu kódujícího ribosomální RNA, která obsahuje nekódující přepisovanou oblast (*internal transcribed spacer* = ITS) a gen pro 5.8S rRNA. Oblast ITS je velmi proměnlivá a výborně se hodí pro studium blízce příbuzných druhů především tam, kde jednotlivé druhy nebo mezidruhové křížence nelze odlišit podle morfologických znaků, jak je tomu i u druhového komplexu *D. longispina* (Taylor et al. 2005). Velkou výhodou této metody je, že lze analyzovat jak čerstvé (popř. zmražené), tak i lihové vzorky. Metoda je ve srovnání s jinými náročnějšími metodami, jako je sekvenování nebo AFLP, relativně levná, rychlá a jednoduchá, ale zároveň i stejně účinná. Výborně se hodí k detekci kryptických druhů, invazivních druhů a mezidruhových hybridů (Billiones et al. 2004). Na rozdíl od alozymové elektroforézy lze tímto způsobem zpracovávat i nevyhlášená vejčička a metoda ITS-RFLP se proto stává vynikajícím pomocníkem při analýze banky trvalých vejčiček ze sedimentu ve studiích rekonstruujičích ekologické a evoluční procesy ve sladkovodních nádržích (Billiones et al. 2004; Vaníčková, nepublikováno). Naopak nevýhodou metody je, že stěží odhaluje hybridy F₂-generace, zpětné křížence a další rekombinanty. Úsek ITS se navíc v genomu vyskytuje v mnoha kopiích a teoreticky tak může docházet ke vzniku nesmyslných restričních vzorů v důsledku procesů, jakými jsou konverze genů nebo synchronizovaná evoluce (*concerted evolution*) (Dover et al. 1993).

Při restriční analýze se postupuje tak, že požadovaná oblast je u každého jedince nejprve amplifikována metodou PCR. Amplifikáty jsou posléze rozštěpeny na kratší fragmenty pomocí restričních enzymů. Rozštěpené vzorky jsou naneseny na agarózový gel a jednotlivé fragmenty jsou podle délky rozděleny na elektroforéze. Výsledek je vizualizován

pod UV lampou pomocí ethidiumbromidu, který po navázání na DNA intenzivně fluoreskuje. Každá restriční endonukleáza rozpoznává specifickou palindromickou sekvenci a v její blízkosti nebo přímo v ní DNA štěpí. Pro účel determinace jednotlivých druhů a mezidruhových hybridů druhového komplexu *D. longispina* byly na základě známých sekvencí vybrány restriční enzymy tak, aby výsledné restriční vzory byly druhově specifické a hybridi F₁-generace měli restriční vzor kombinující vzory obou rodičovských druhů (Obrázek 5). V původní variantě ITS-RFLP byly pro restriktce navrženy endonukleázy Mwo I a Sau96 I (Billiones et al. 2004). Nicméně po aplikaci této varianty na některé populace ze střední a severní Evropy se ukázalo, že metoda často vede ke špatnému určení druhů. Přesněji, že druh *D. galeata* vykazuje kromě typického restriční vzoru ještě další dva vzory zaměnitelné se vzory jiných druhů (Skage et al., in MS). Následná sekvenace úseku ITS prokázala vnitrodruhovou i vnitropopulační variabilitu v rozpoznávacích sekvencích restričního enzymu Mwo I druhu *D. galeata*, což nastartovalo vývoj nové varianty ITS-RFLP pro druhový komplex *D. longispina*, na kterém se podílela také naše laboratoř (Skage et al., in MS) (viz. Příloha). Nový protokol vyvinutý na základě velkého množství sekvencí ITS různých druhů využívá souběžné restriktce dvěma jinými endonukleázami a zatím se zdá, že není postižen variabilitou ovlivňující cílová restriční místa.



Obrázek 5. Restriční vzor *D. galeata*, *D. cucullata* a jejich mezidruhového hybrida vzniklý rozštěpením úseků ITS restriční endonukleázou MwoI a následným rozdělením fragmentů na elektroforéze.

Na obrázku vlevo je schematicky znázorněn restriční vzor a) *D. galeata*, b) *D. cucullata* a c) mezidruhového křížence. Na obrázku vpravo je označeno totéž na fotografii skutečného gelu.

ZÁVĚR

Zajímavé ekologické vztahy mezi hybridy rodu *Daphnia* a jejich rodičovskými druhy a evoluční procesy spojené s hybridizací tohoto rodu přitahují od počátku devadesátých let zájem řady světových laboratoří. Intenzivní výzkum hybridizace rodu *Daphnia* napomohl v několika posledních letech k vyřešení četných taxonomických problémů. Hybridizací se také podařilo osvětlit rozšíření a genetické vlastnosti některých druhů a linií, které byly původně za samostatné druhy považovány. Přestože už dnes máme k dispozici dostatek molekulárně–biologických nástrojů, které nám umožňují sledovat distribuci hybridů v přirozeném prostředí, velká část ekologických studií stále pracuje s laboratorně chovanými klony. Skutečné ekologické nároky a preference jednotlivých linií v přirozeném prostředí tedy bude ještě potřeba studovat.

Moje bakalářská práce je stručným shrnutím dosavadních poznatků o hybridizaci rodu *Daphnia* a měla by sloužit jako podkladový materiál pro moji budoucí magisterskou diplomovou práci. Ta je součástí projektu sledujícího distribuci jednotlivých druhů druhového komplexu *D. longispina* a jejich mezidruhových kříženců v korytovitých přehradních nádržích v České republice (GA ČR 206/04/0190). Mým úkolem bude v první řadě srovnání přesnosti a spolehlivosti alozymové elektroforézy a ITS-RFLP při detekci hybridů a dále charakterizace atypických genotypů vyskytujících se v některých českých nádržích.

SEZNAM LITERATURY

- Adamowicz S.J., Gregory T.R., Marinone M.C. & Hebert P.D.N. (2002) New insights into the distribution of polyploid *Daphnia*: the Holarctic revisited and Argentina explored *Molecular Ecology*, 11, 1209-1217
- Adamowicz S.J., Hebert P.D.N. & Marinone M.C. (2004) Species diversity and endemism in the *Daphnia* of Argentina: a genetic investigation. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 140, 171-205
- Agar W.E. (1920) The genetics of a *Daphnia* hybrid during parthenogenesis. *Journal of Genetics*, 10, 303-330
- Anderson E. & Hubricht L. (1938) Hybridization in *Tradescantia*. III. The evidence for introgressive hybridization. *American Journal of Botany*, 25, 396-402
- Anderson E. (1948) Hybridization of the habitat. *Evolution*, 2, 1-9
- Arnold M.L. (1997) Natural hybridization and evolution. Oxford University Press, New York, U.S.A.
- Aubert J. & Solignac M. (1990) Experimental evidence for mitochondrial DNA introgression between *Drosophila* species. *Evolution*, 44, 1272-1282
- Aubert J., Barascud B., Descimon H. & Michel F. (1997) Ecology and genetics of interspecific hybridization in the swallowtails, *Papilio hospiton* gene and *P. machaon* I, in Corsica (Lepidoptera, Papilionidae). *Biological Journal Of the Linnean Society*, 60, 467-492
- Banta A.M. (1913) One hundred parthenogenetic generations of *Daphnia* without sexual forms. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 11, 180-182
- Barton N.H. & Hewitt H.H. (1985) Analysis of hybrid zones. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 16, 113-148
- Barton N.H. (1979) The dynamics of hybrid zones. *Heredity*, 43, 341-359
- Barton N.H. (1980) The fitness of hybrids between two chromosomal races of the grasshopper *Podisma pedestris*. *Heredity*, 45, 47-59
- Beaton M.J. & Hebert P.D.N. (1988) Geographical parthenogenesis and polyploidy in *Daphnia pulex*. *American Naturalist*, 132, 837-845
- Benzie J.A.H. (1986) Phenetic and cladistic analyses of the phylogenetic relationships within the genus *Daphnia* worldwide. *Hydrobiologia*, 140, 105-124
- Benzie J.A.H. (2005) Cladocera: the genus *Daphnia* (including *Daphniopsis*). Kenobi Productions, Backhuys Publishers, Ghent, Leiden.
- Billiones R., Brehm M., Klee J. & Schwenk K. (2004) Genetic identification of *Hyalodaphnia* species and interspecific hybrids. *Hydrobiologia*, 526, 43-53
- Boersma M. & Vijverberg J. (1994) Resource depression in *Daphnia galeata*, *Daphnia cucullata* and their interspecific hybrid: Life history consequences. *Journal of Plankton Research*, 16, 1741-1758
- Boersma M. & Vijverberg J. (1994) Seasonal variations in the condition of two *Daphnia* species and their hybrid in a eutrophic lake: Evidence for food limitation. *Journal of Plankton Research*, 16, 1793-1809
- Boersma M., Spaak P. & De Meester L. (1998) Predator-mediated plasticity in morphology, life history, and behavior of *Daphnia*: The uncoupling of responses. *American Naturalist*, 152, 237-248
- Boersma M., van Densen W.L.T. & Vijverberg J. (1991) The effect of predation by smelt (*Osmerus eperlanus*) on *Daphnia hyalina* in a shallow eutrophic lake. *Verhandlungen Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie*, 24, 2438-2442
- Brooks J.L. & Dodson S.I. (1965) Predation, body size, and composition of plankton. *Science*, 150, 28-35
- Brooks J.L. (1957) The systematics of North American *Daphnia*. *Mem. Connect. Acad. Arts. Sci.*, 13, 1-180
- Bullini L. (1994) Origin and evolution of animal hybrid species. *Trends Ecol. Evol.*, 9, 422-426
- Burckhardt G. (1899) Faunistische und systematische Untersuchungen über das zooplankton der größeren Seen der Schweiz und ihrer Grenzgebiete. *Revue Suisse Zool.*, 7, 353-715
- Campton D.E. & Utter F.M. (1985) Natural hybridization between steelhead trout (*Salmo gairdneri*) and coastal cutthroat trout (*Salmo clarki clarki*) in 2 Puget Sound Streams. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 42, 110-119
- Carson H.L., Nair P.S. & Sene F.M. (1975) *Drosophila* hybrids in nature: Proof of gene exchange between sympatric species. *Science*, 189, 806-807
- Carvalho G.R. & Wolf H.G. (1989) Resting eggs of lake-*Daphnia*. I. Distribution, abundance and hatching of eggs collected from various depths in lake sediments. *Freshwater Biology*, 22, 459-470

- Colbourne J.K. & Hebert P.D.N. (1996) The systematics of North American *Daphnia* (Crustacea: Anomopoda): a molecular phylogenetic approach. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 351, 349-360
- Crease T.J., Stanton D.J. & Hebert P.D.N. (1989) Polyphyletic origins of asexuality in *Daphnia pulex*. II. Mitochondrial-DNA variation. *Evolution*, 43, 1016-1026
- Darwin C. (1859) On the origin of species by means of natural selection or the preservation of favoured races in the struggle for life. John Murray, London.
- Declerck S. & De Meester L. (2003) Impact of fish predation on coexisting *Daphnia* taxa: a partial test of the temporal hybrid superiority hypothesis. *Hydrobiologia*, 500, 83-94
- Declerck S. & Weber A. (2003) Genetic differentiation in life history between *Daphnia galeata* populations: an adaptation to local predation regimes? *J. Plankton Res.*, 25, 93-102
- Dobzhansky T. (1937) Genetics and the origin of species. Columbia University Press, New York.
- Dodson S.I. (1989) The ecological role of chemical stimuli for the zooplankton: predator-induced morphology in *Daphnia*. *Oecologia*, 78, 361-367
- Dover G.A., Linares A.R., Bowen T. & Hancock J.M. (1993) Detection and quantification of concerted evolution and molecular drive. In: E.A. Zimmer, T.J. White, reducing the Biochemical Data, Academic Press Inc, Methods in Enzymology 224: 525-541,
- Dowling T. E., Moritz C., Palmer J. D. & Rieseberg L. H. (1996). Molecular Systematics, Second Edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers Sunderland, MA, USA.
- Dowling T.E. & Hoeh W.R. (1991) The extent of introgression outside the contact zone between *Notropis cornutus* and *Notropis chrysocephalus* (Teleostei, Cyprinidae). *Evolution*, 45, 944-956
- Dowling T.E., Smith G.R. & Brown W.M. (1989) Reproductive isolation and introgression between *Notropis cornutus* and *Notropis chrysocephalus* (family Cyprinidae): Comparison of morphology, allozymes, and mitochondrial DNA. *Evolution*, 43, 620-634
- Duffy M.A., Tessier A.J. & Kosnik M.A. (2004) Testing the ecological relevance of *Daphnia* species designations. *Freshwater Biology*, 49, 55-64
- Dufresne F. & Hebert P.D.N. (1994) Hybridization and origins of polyploidy. *Biological Sciences*, 258, 141-146
- Dufresne F. & Hebert P.D.N. (1995) Polyploidy and clonal diversity in an arctic cladoceran. *Heredity*, 75, 45-53
- Einsle U. (1966) Einige Beobachtungen und Hypothesen zur Taxonomie der Gattung *Daphnia*. *Schriften des Vereins für Geschichte des Bodensees und seiner Umgebung*, 84, 1-17
- Ellstrand N.C., Prentice H.C. & Hancock J.F. (1999) Gene flow and introgression from domesticated plants into their wild relatives. *Annual review of Ecology and Systematics*, 30, 539-563
- Ender A. & Schierwater B. (1993) Identification of nuclear markers in *Daphnia* hybrid complexes using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). *Verh. Dt. Zool. Ges.*, 86, 45
- Ender A., Schwenk K., Stadler T., Streit B. & Schierwater B. (1996) RAPD identification of microsatellites in *Daphnia*. *Molecular Ecology*, 5, 437-441
- Epifanio J. & Philipp D. (2000) Simulating the extinction of parental lineages from introgressive hybridization: the effects of fitness, initial proportions of parental taxa, and mate choice. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 10, 339-354
- Faustová M., Petrušek A. & Černý M. (2004) Status of *Daphnia* resting egg banks in Bohemian Forest lakes affected by acidification. *Hydrobiologia*, 526, 23-31
- Flégr J. (2005) Specie. In. *Evoluční biologie*. Academia. Praha. 382-407
- Flik B. & Vijverberg J. (2003) Contrasting migration behaviour of *Daphnia pulicaria* and *D. galeata x hyalina*, in avoidance of predation by 0+perch (*Perca fluviatilis*). 491, 289-299
- Flössner D. (1972) Kiemen- und Blattfüsser, Branchiopoda, Fischläuse, Branchiura. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena.
- Flössner D. (1993) Zur Kenntnis einiger *Daphnia*-Hybriden (Crustacea: Cladocera).
- Flössner D. (2000) Die Haplopoda und Cladocera Mitteleuropas. Backhuys Publisher, Leiden.
- Forbes S.A. (1893) A preliminary report on the aquatic invertebrate fauna of Yellowstone National Park, Wyoming, and the Flathead region of Montana. *Bull. U.S. Fish. Comm.*, 11, 207-256
- Gießler S. (1997) Analysis of reticulate relationships within the *Daphnia longispina* species complex. Allozyme phenotype and morphology. *Journal of Evolutionary Biology*, 10, 87-105
- Gießler S. (1997) Gene flow in the *Daphnia longispina* hybrid complex (Crustacea, Cladocera) inhabiting large lakes. *Heredity*, 3, 231-241
- Gießler S. (2001) Morphological differentiation within the *Daphnia longispina* group. *Hydrobiologia*, 442, 55-66

- Gießler S., Mader E. & Schwenk K. (1999) Morphological evolution and genetic differentiation in *Daphnia* species complexes. *J. Evol. Biol.*, 12, 710-723
- Gili M., Monaghan M.T. & Spaak P. (2004) Amplified fragment length polymorphism (AFLP) reveals backcrosses in the *Daphnia galeata-hyalina* species complex. *Hydrobiologia*, in press
- Grant P.R. & Grant B.R. (1992) Hybridization of bird species. *Science*, 256, 193-197
- Grant V. (1981) Plant speciation. *Columbia University Press, New York*
- Haney R.A. & Taylor D.J. (2003) Testing paleolimnological predictions with molecular data: the origins of Holarctic *Eubosmina*. *Journal of Evolutionary Biology*, 16, 871-882
- Hann B.J. (1987) Naturally occurring interspecific hybridization in *Simocephalus* (Cladocera, Daphniidae): its potential significance. *Hydrobiologia*, 145, 219-224
- Hardig T.M., Brunfeldt S.J., Fritz R.S., Morgan M. & Orians C.M. (2000) Morphological and molecular evidence for hybridization and introgression in a willow (*Salix*) hybrid zone. *Molecular Ecology*, 9, 9-24
- Harrison R. G. (1990) Hybrid zones: windows on evolutionary process. *Oxford Surveys in Evolutionary Biology*, 7, 69-128
- Harrison R. G. (1993) Hybrids and hybrid zones: historical perspective. In: *Hybrid zones and the evolutionary process*. Oxford University Press. Oxford. 3-12
- Harrison R.G. & Rand D.M. (1989) Mosaic hybrid zones and the nature of species boundaries. In: *Speciation and its consequences* (eds. Otte D & Endler JA), pp. 111-133. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts
- Harrison R.G. (1986) Pattern and process in a narrow hybrid zone. *Heredity*, 56, 337-349
- Hebert P.D.N. & Beaton M.J. (1989) Methodologies for allozyme analysis using cellulose acetate electrophoresis. Helena Laboratories, Beaumont, Texas.
- Hebert P.D.N. & Beaton M.J. (1993) Methodologies for allozyme analysis using cellulose acetate electrophoresis - a practical handbook. 2 edn. Helena Laboratories.
- Hebert P.D.N. & Finston T.L. (1996) A taxonomic reevaluation of North American *Daphnia* (Crustacea, Cladocera). 2. New species in the *Daphnia pulex* group from the South-Central United States and Mexico. *Canadian Journal of Zoology*, 74, 632-653
- Hebert P.D.N. (1983) Clonal diversity in cladoceran populations. In: *Population biology, retrospect and prospect* (eds. King CE & Dawson PS), pp. 37-60. Columbia University Press, New York
- Hebert P.D.N. (1985) Interspecific hybridization between cyclic parthenogens. *Evolution*, 39, 216-220
- Hebert P.D.N., Beaton M.J., Schwartz S.S. & Stanton D.J. (1989) Polyphyletic origins of asexuality in *Daphnia pulex*. I. Breeding-system variation and levels of clonal diversity. *Evolution*, 43, 1004-1015
- Hebert P.D.N., Schwartz S.S. & Ward R.D. (1993) Macrogeographic patterns of breeding system diversity in the *Daphnia pulex* group. I. Breeding systems of Canadian populations. *Heredity*, 70, 148-161
- Hellich B. (1877). Die Cladoceren Böhmens. Praha.
- Hobæk A. & Larsson P. (1990) Sex determination in *Daphnia magna*. *Ecology*, 71, 2255-2268
- Hobæk A., Skage M. & Schwenk K. (2004) *Daphnia galeata* x *D. longispina* hybrids in western Norway. *Hydrobiologia*, 526, 55-62
- Hofmann W. (1991) The late-glacial/holocene *Bosmina* (*Eubosmina*) fauna of Lake Constance (Untersee) (F.R.G.): traces of introgressive hybridization. *Hydrobiologia*, 225, 81-85
- Howard D. J. (1986) A zone of overlap and hybridization between two ground cricket species. *Evolution*, 40, 34-43
- Hrbáček J. (1987) Systematics and biogeography of *Daphnia* species in the northern temperate regions. In: *Daphnia* (eds. Peters RH & de Bernardi R), pp. 37-76, Pallanza
- Jankowski T. & Straile D. (2004) Allochronic differentiation among *Daphnia* species, hybrids and backcrosses: the importance of sexual reproduction for population dynamics and genetic architecture. *Journal of Evolutionary Biology*, 17, 312-321
- Jankowski T. (2002) From Diapause to Sexual Reproduction. Evolutionary Ecology of the *Daphnia* Hybrid Complex from Lake Constance. In: Universität Konstanz, Konstanz 1-104
- Keller B. & Spaak P. (2004) Nonrandom sexual reproduction and diapausing egg production in a *Daphnia* hybrid species complex. *Limnology and Oceanography*, 49, 1393-1400
- Lieder U. (1983) Introgression as a factor in the evolution of polytypical plankton Cladocera. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie*, 68, 269-284
- Lieder U. (1996) Crustacea : Cladocera, *Bosminidae*. Gustav Fischer, Stuttgart, Jena, Lübeck, Ulm.
- Lilljeborg V. (1901) Cladocera Sueciae. *Nova Acta r. Soc. Scient. Upsal.*, 3 (19), 701
- Linné C. (1774) *Systema vegetabilium*. Printed for Ray Society. London.
- Lotsy J. P. (1916) Evolution by means of hybridization. M. Nijhoff. The Hauge.

- Lotsy J. P. (1931) On the species of the taxonomist in it's relation to evolution. *Genetica*, 13, 1-16
- Lyell C. (1832) Principles of Geology. John Murray. London.
- Lynch M. (1983) Ecological genetics of *Daphnia pulex*. *Evolution*, 37, 358-374
- Macholán M. (2004) Elektroforéza proteinů. In: Zima J., Macholán M., Muclinger P., Piálek J. (2004) Genetické metody v zoologii. Univerzita Karlova. Nakladatelství Karolinum 117-165
- Mergeay J., Aguilera X., Declerk S., Petrusek A., De Meester L.: The genetic legacy of polyploid Bolivian *Daphnia*: the tropical Andes as a source for the North and South American *D. pulex* complex. Nепublikovaný rukopis.
- Moore W.S. (1977) An evaluation of narrow hybrid zones in vertebrates. *The Quarterly Review of Biology*, 52, 263-277
- Mort M.A. (1991) Bridging the gap between ecology and genetics: The case of freshwater zooplankton. *Trends in Ecology & Evolution*, 6, 41-45
- O'Brien W.J., Slade N.A. & Vinyard G.L. (1976) Apparent size as the determinant of prey selection by bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*). *Ecology*, 57, 1304-1310
- Petrusek A., Hobæk A., Nilssen J. P.ú, Skage M., Černý M., Brede N., Schwenk K.: A taxonomic reevaluation of the European *Daphnia longispina* complex. Nепublikovaný rukopis.
- Repka S. (1996) Inter- and intraspecific differences in *Daphnia* life histories in response to two food sources: the green-alga *Scenedesmus* and the filamentous cyanobacterium *Oscillatoria*. *Journal of Plankton Research*, 18, 1213-1223
- Rhymer J.M. & Simberloff D. (1996) Extinction by hybridization and introgression. *Annual review of Ecology and Systematics*, 27, 83-109
- Rieseberg L.H. & J.F. Wendel (1993) Introgression and its consequences in plants. In: R.G. Harrison
- Rieseberg L.H., Baird S.J.E. & Desrochers A.M. (1998) Patterns of mating in wild sunflower hybrid zones. *Evolution*, 52, 713-726
- Rieseberg L.H., Choi H.C. & Ham D. (1991) Differential cytoplasmic versus nuclear introgression in *Helianthus*. *J. Hered.*, 82, 489-493
- Seda J. & Devetter M. (2000) Zooplankton community structure along a trophic gradient in a canyon-shaped dam reservoir. *Journal of Plankton Research*, 22, 1829-1840
- Shan R.K. & Frey D.G. (1983) *Pleuroxus denticulatus* and *P. procurvus* (Crustacea: Chydoridae) in North America: distribution, experimental hybridization and the possibility of natural hybridization. *Can. J. Zool.*, 61, 1605-1617
- Shan R.K.C. & G. F.D. (1968) Induced interbreeding between two stocks of a chydorid cladoceran. *BioScience*, 18, 203-205
- Schwenk K., Mader E., Brehm M., Siedendorf B., Petrusek A.: The genetic and phenotypic consequences of interspecific hybridization and directional introgression in cyclically parthenogenetic *Daphnia*. Nепublikovaný rukopis.
- Schwenk K. & Spaak P. (1995) Evolutionary and ecological consequences of interspecific hybridization in cladocerans. *Experientia*, 51, 465-481
- Schwenk K. (1993) Interspecific hybridization in *Daphnia*: distinction and origin of hybrid matriline. *Mol. Biol. Evol.*, 10, 1289-1302
- Schwenk K. (1997) Evolutionary genetics of *Daphnia* species complex - Hybridism in syntopy. In: University of Utrecht
- Schwenk K., Bijl M. & Menken S.B.J. (2001) Experimental interspecific hybridization in *Daphnia*. *Hydrobiologia*, 442, 67-73
- Schwenk K., Ender A. & Streit B. (1995) What can molecular markers tell us about the evolutionary history of *Daphnia* species complexes? *Hydrobiologia*, 307, 1-7
- Schwenk K., Posada D. & Hebert P.D.N. (2000) Molecular systematics of European *Hyalodaphnia*: the role of contemporary hybridization in ancient species. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 267, 1833-1842
- Skage M., Hobæk A., Ruthová Š., Keller B., Sed'a J., Petrusek A., Spaak P.: Intra-genomic sequence variation necessitates a new genetic method to distinguish species and hybrids in the *Daphnia longispina* complex. Nепublikovaný rukopis.
- Soltis D. E. & Soltis P. S. (1993) Molecular data and the dynamic nature of polyploidy. *Critical reviews in Plant Science*, 12, 243-273
- Spaak P. & Hoekstra J.R. (1995) Life history variation and the coexistence of a *Daphnia* hybrid with its parental species. *Ecology*, 76, 553-564
- Spaak P. & Hoekstra J.R. (1997) Fish predation on a *Daphnia* hybrid species complex: A factor explaining species coexistence? *Limnology and Oceanography*, 42, 753-762
- Spaak P. & Keller B. (2004) No evidence for adaptive micro-evolution to a decrease in phosphorus-loading of a *Daphnia* population inhabiting a pre- alpine lake. *Hydrobiologia*, 526, 15-21

- Spaak P. (1995) Sexual reproduction in *Daphnia*: interspecific differences in a hybrid species complex. *Oecologia*, 104, 501-507
- Spaak P. (1996) Temporal changes in the genetic structure of the *Daphnia* species complex in Tjeukemeer, with evidence for backcrossing. *Heredity*, 76, 539-548
- Spaak P. (2000) Evolutionary Ecology of *Daphnia*. In: *Department of Environmental Sciences of the*, p. 114. Swiss Federal Institute of Technology (ETH), Zürich
- Spaak P., Denk A., Boersma M. & Weider L.J. (2004) Spatial and temporal patterns of sexual reproduction in a hybrid *Daphnia* species complex. *Journal of Plankton Research*, 26, 625-635
- Spaak P., Vanoverbeke J. & Boersma M. (2000) Predator-induced life-history changes and the coexistence of five taxa in a *Daphnia* species complex. *Oikos*, 89, 164-174
- Stace C.A. (1987) Hybridization and the plant species. In: *Differentiation Patterns in Higher Plants*.
- Stebbins G.L. & Daly K. (1961) Changes in the variation pattern of a hybrid population of *Helianthus* over an eight-year period. *Evolution*, 15, 60-71
- Sterner R.W. & Hessen D.O. (1994) Algal nutrient limitation and the nutrition of aquatic herbivores. *Annual review of Ecology and Systematics*, 25, 1-29
- Straile D. & Geller W. (1998) Crustacean zooplankton in Lake Constance from 1920 to 1995: Response to eutrophication and re-oligotrophication. *Archiv für Hydrobiologie, Beiheft Ergebnisse der Limnologie*, 53, 255-274
- Taylor D.J. & Hebert P.D.N. (1993a) A reappraisal of phenotypic variation in *Daphnia galeata mendotae* - the role of interspecific hybridization. *Can. J. Fish. aquat. Sci.*, 50, 2137-2146
- Taylor D.J. & Hebert P.D.N. (1993b) Habitat-dependent hybrid parentage and differential introgression between neighboring sympatric *Daphnia* species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90, 7079-7083
- Taylor D.J. & Hebert P.D.N. (1993c) Cryptic intercontinental hybridization in *Daphnia* (crustacea) - the ghost of introductions past. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 254, 163-168
- Taylor D.J. (1992) *Daphnia galeata mendotae* as a cryptic species complex with interspecific hybrids. *Limnol Oceanogr*, 37, 658-665
- Taylor D.J., Finston T.L. & Hebert P.D.N. (1998) Biogeography of a widespread freshwater crustacean: Pseudocongruence and cryptic endemism in the North American *Daphnia laevis* complex. *Evolution*, 52, 1648-1670
- Taylor D.J., Ishikane C.R. & Haney R.A. (2002) The systematics of Holarctic bosminids and a revision that reconciles molecular and morphological evolution. *Limnology and Oceanography*, 47, 1486-1495
- Taylor D.J., Sprenger H.L. & Ishida S. (2005) Geographic and phylogenetic evidence for dispersed nuclear introgression in a daphniid with sexual propagules. *Molecular Ecology*, 14, 525-537
- Wacker A. & von Elert E. (2001) Polyunsaturated fatty acids: Evidence for non-substitutable biochemical resources in *Daphnia galeata*. *Ecology*, 82, 2507-2520
- Weider L. & Hebert P. (1987) Microgeographic genetic heterogeneity of melanistic *Daphnia pulex* at a low arctic site. *Heredity*, 58, 391-399
- Weider L.J. (1993) Niche breadth and life history variation in a hybrid *Daphnia* complex. *Ecology*, 74, 935-943
- Weider L.J., Beaton M.J. & Hebert P.D.N. (1987) Clonal diversity in high-arctic populations of *Daphnia pulex*, a polyploid apomictic complex. *Evolution*, 41, 1335-1346
- Weismann A. (1877) Beitrage zur Naturgeschichte der Daphnoiden - theil III., 28, 176-211
- Wilson E. O. (1965) The challenge from related species. In: *The genetics of colonizing species*. Academic Press. New York. 7-27
- Wilson C.C. & Hebert P.D.N. (1992) The maintenance of taxon diversity in an asexual assemblage: An experimental analysis. *Ecology*, 73, 1462-1472
- Wolf H.G. (1987) Interspecific hybridization between *Daphnia hyalina*, *D. galeata*, and *D. cucullata* and seasonal abundances of these species and their hybrids. *Hydrobiologia*, 145, 213-217
- Wolf H.G. & Mort M.A. (1986) Inter-specific hybridization underlies phenotypic variability in *Daphnia* populations. *Oecologia*, 68, 507-511
- Wolinska J., Keller B., Bittner K., Lass S. & Spaak P. (2004) Do parasites lower *Daphnia* hybrid fitness? *Limnology and Oceanography*, 49, 1401-1407
- Zaret T.M. (1980) Predation and freshwater communities. Yale University Press, New Haven.
- Zima J. & Macholán M. (2004) Analýza fenotypu. In: Zima J., Macholán M., Muclinger P., Piálek J. (2004) Genetické metody v zoologii. Univerzita Karlova. Nakladatelství Karolinum. 17-44