

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Zoologie

Mgr. Tereza Adamcová



Diverzita a kvartérní historie vybraných plžů
skupiny Helicoidea

Diversity and Quaternary history of selected helicoid
land snails

Disertační práce

školitelka: doc. RNDr. Lucie Juříčková, PhD.

konzultant: Mgr. Ondřej Korábek, PhD.

Praha 2024



Prohlášení

Prohlašuji, že tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu, a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Práci jsem zpracovala samostatně ve spolupráci se spoluautory jednotlivých článků.

V Praze dne 13. června 2024

Tereza Adamcová

Adamcová

Abstrakt

Pochopení toho, proč jsou suchozemští plži distribuováni tak, jak jsou, a jak dynamická jsou jejich rozšíření, vyžaduje nejprve znát diverzitu a fylogenetické vztahy mezi druhy a vnitrodruhovými liniemi a poté prozkoumat důkazy dokumentující minulá rozšíření a změny v rozsahu jejich areálů. Tato práce se zaměřuje na několik vybraných zástupců suchozemských plžů z nadčeledi Helicoidea Rafinesque, 1815, především na rod *Monachoides* Gude & Woodward, 1921 z čeledi Hygromiidae Tryon, 1866, ale také na několik zástupců z čeledi Helicidae Rafinesque, 1815. Zkoumali jsme jejich taxonomii, diverzitu mitochondriálních linií a tam, kde to bylo možné, jsme použili fosilní data k dokumentaci jejich postglaciální kolonizace.

Hlavním modelovým druhem této disertační práce je *Monachoides incarnatus* (O. F. Müller, 1774). Je to hojný euryvalentní suchozemský plž omezený směrem na západ i východ jen na střední Evropu. V kvartérní paleorekonstrukci se používá jako jeden z důležitých indikátorů lesa. V holocénu se však *M. incarnatus* velmi dobře přizpůsobil lidskému vlivu a je schopen používat náhradní ruderalní stanoviště v urbánních a suburbánních zónách. Naším hlavním cílem bylo určit polohu glaciálního refugia *M. incarnatus* a směry jeho postglaciální kolonizace.

Nejprve bylo nutné revidovat stávající rod *Monachoides*. Ovzorkovali jsme velkou část areálu výskytu rodu, analyzovali sekvence mitochondriálních genů a jaderného genu a prozkoumali konchologickou diverzitu, což ve výsledku vedlo ke zrušení rodu *Monachoides*. Tři druhy z Balkánu (*M. fallax* (Wagner, 1914); *M. taraensis* De Winter & Maassen, 1992; *M. kosovoensis* De Winter & Maassen, 1992) nově řadíme do rodu *Xerocampylaea* Kobelt, 1871, jeden druh z Banátu (*M. bacescui* Grossu, 1979) jsme synonymizovali s druhem *M. incarnatus* a zbývající dva druhy (*M. incarnatus* a *M. vicinus* (Rossmässler, 1842)) jsme přesunuli do rodu *Perforatella* Schlüter, 1838. Navíc jsme objevili novou genetickou linii na území Chorvatska, která již ale kdysi byla popsána. My jej nově stanovujeme jako neotyp *Perforatella welebitana* (Pfeiffer, 1847). Zároveň uvádíme determinaçní znaky na jejichž základě lze jasně rozlišit dva syntopické druhy *P. incarnata* (O. F. Müller, 1774) a *P. welebitana*.

Pro pochopení dynamické povahy biodiverzity je zásadní zjistit, jak se mění druhové areály v průběhu kvartérního klimatického cyklu. Oblast Západního Balkánu je považována za refugium s nepřerušenu diverzifikací, kdežto střední a severní Evropa byla opakovaně rekolonizována po odeznění chladných fází klimatického cyklu, které vedlo k vymírání. Radiokarbonově jsme datovali nejstarší fosilní nálezy *P. incarnata* a *P. vicina* (Rossmässler, 1842) na území České a Slovenské republiky a zjistili jsme, že *P. incarnata* poměrně rychle reagovala na změnu klimatu a rozšířila se do střední Evropy na přelomu pozdního glaciálu a holocénu, tudíž překvapivě brzy. Fosilní data jsme propojili s fylogeografickými daty a poukázali jsme na výjimku z obecného paradigma, kdy se oblast Balkánu pokládá za refugium s nepřerušenu diverzifikací. Výsledky fylogenetických analýz ukazují na původ a glaciální refugia *P. incarnata* jižně od Alp, v severním Chorvatsku a ve Slovinsku. Další refugium jsme objevili v severozápadní Itálii. Navíc jsme překvapivě zjistili, že *P. incarnata* kolonizovala v poledové době západní Balkán od severu. Obdobný směr postglaciální kolonizace sdílí i *Caucasotachea vindobonensis* (Pfeiffer, 1828). U středoevropských plžů byl takový typ kolonizace, ze severu na jih, pozorován poprvé. Dvě linie kolonizovaly české území, ze západu a jihovýchodu, čímž se vytvořil široký překryv mezi rozdílnými vnitrodruhovými liniemi, které by jinak zůstaly geograficky izolované. Na rozdíl od těchto velkých změn ve velikosti areálu, druhy z jižního Balkánu, i když se některé jejich linie mohly v holocénu značně rozšířit, vykazují stará fylogeografická rozdělení, která naznačují nenarušenou diverzifikaci *in situ*.

Klíčová slova: morfologie schránky, plž, postglaciální kolonizace, refugium, schránka, taxonomie.

Abstract

Understanding why land snails are distributed the way there are and how dynamic their distribution ranges are requires first knowing the diversity of and phylogenetic relationships among the species and intraspecific lineages, and then examining evidence documenting past distributions and changes in range extents. The present work focuses on a few selected representatives of terrestrial land snails from the superfamily Helicoidea Rafinesque, 1815, especially the genus *Monachoides* Gude & Woodward, 1921 of the family Hygromiidae Tryon, 1866, but also on several helicids. We examined their taxonomy, and diversity of mitochondrial lineages, and, where applicable, used fossil data to document their postglacial spread.

The main model species of this dissertation is *Monachoides incarnatus* (O. F. Müller, 1774). It is an abundant euryvalent land snail limited from west and east to central Europe, used as one of the important indicators of woodland in Quaternary palaeoecology. In the Holocene, however, *M. incarnatus* adapted very well to human-impacted habitats and can survive in semi-ruderal sites of urban and suburban zones. Our main objective was to determine the location of the glacial refugia of *M. incarnatus* and the directions of its postglacial colonization. First, it was necessary to revise the existing genus *Monachoides*. We were able, based on sampling a large part of the genus' range, analyses of mitochondrial and nuclear gene sequences, and conchological observations, to reverse the genus *Monachoides*. Three species from the Balkans (*M. fallax* (Wagner, 1914); *M. taraensis* De Winter & Maassen, 1992; *M. kosovoensis* De Winter & Maassen, 1992) were newly placed in the genus *Xerocampylaea* Kobelt, 1871, one species from the Banat (*M. bacescui* Grossu, 1979) was synonymized with *M. incarnatus*, and the remaining two species (*M. incarnatus* and *M. vicinus* (Rossmässler, 1842)) were moved to the genus *Perforatella* Schlüter, 1838. In addition, we discovered a new genetic lineage in Croatia, which had already been described. We redefine it as the neotype of *Perforatella welebitana* (Pfeiffer, 1847). We also provide determinate characters based on which the two syntopic species *P. incarnata* (O. F. Müller, 1774) and *P. welebitana* can be clearly distinguished.

To understand the dynamic nature of biodiversity, it is crucial to determine how species ranges change over the Quaternary climate cycle. The Western Balkan region is considered a refugium with uninterrupted diversification, whereas central and northern Europe was recolonized following climate fluctuations that led to extinctions. We radiocarbon-dated the earliest fossil records of *P. incarnata* and *P. vicina* (Rossmässler, 1842) on the territory of Czechia and Slovakia and found that *P. incarnata* responded relatively quickly to climate change and spread to Central Europe at the turn of the Late Glacial and Holocene, thus surprisingly soon. We linked the fossil data with molecular phylogeographic data and pointed out an exception to the general paradigm, where the Balkan region is assumed to be a refugium with unbroken diversification. The results of phylogenetic analyses point to the origin and glacial refugia of *P. incarnata* south of the Alps, in northern Croatia and Slovenia. Another refugium was discovered in northwestern Italy. Remarkably, we found that *P. incarnata* colonized the western Balkans from the north during the postglacial period. A similar direction of postglacial colonization is shared by *Caucasotachea vindobonensis* (Pfeiffer, 1828). In Central European land snails, this type of colonization, from north to south was observed for the first time. Two lineages colonized the Czech territory, from the west and the southeast, creating a broad overlap between divergent intraspecific lineages that would otherwise remain geographically isolated. In contrast to these large changes in range size, species from southern Balkans, even though some of their lineages might have expanded considerably in the Holocene, show old phylogeographic divisions indicating undisturbed diversification *in situ*.

Keywords: shell morphology, land snail, postglacial colonization, refugium, shell, taxonomy.

Poděkování

Ráda bych zde poděkovala všem, kteří mají zásluhy na vzniku této práce. V první řadě patří obrovský dík mé školitelce, Lucce Juříčkové, která mi po celou dobu studia pomáhala nejen ve šnekařských, ale i v osobních, záležitostech. Děkuji! Druhý obrovský dík náleží mému konzultantovi, Ondrovi Korábkovi. Děkuji mu, že ačkoliv jsem ho v prvním ročníku doktorského studia vyděsila, že pipetovat umím jen s balónkem a skleněnou pipetou, měl se mnou po celou dobu mého studia trpělivost. Děkuji i jeho ženě Aniče, která byla nadmíru chápavá, když jsem při prvních návštěvách laboroky volala Ondrovi i čtyřicetkrát denně.

Děkuji Adamovi Petruskovi za laboratorní zázemí a cenné rady během celého mého studia. Děkuji tímto i vedení laboroky ekologie na Přf UK, především Jasně Vukić za rady a povzbuzování při víc jak ročních nezdarech s amplifikací DNA. Velice děkuji Miroslavu Hylišovi za SEMovou pomoc, a hlavně kolegyni Dagmar Bernešce Říhové, která mě do světa SEMu zasvětila. Chtěla bych zde také poděkovat Marcu T. Neiberovi, který mi jakožto veliký odborník na čeled' Hygromiidae poskytl několik věcných rad a připomínek. Děkuji moc všem spoluautorům článků jejichž jsem autorem či spoluautorem.

Velice děkuji všem, kteří mi pomohli v terénu nasbírat vzorky, ať už u nás, nebo v zahraničí: Alena Kocurková, Berneška, Bernhard Hausdorf, Damiano Ghezzi, Dilian Georgiev, Frank Walther, Jasna P. Simonová, Jitka Horáčková, Kateřina Kubíková, Małgorzata Proćków, manželé Kmentovi, Michal Mañas, Petr Dolejš, Radovan Coufal, Tomáš Čejka, Štěpánka Podroužková a další. Vojenu Ložkovi velice děkuji (in memoriam) za zábavné šnekařské debaty. Nikdy nezapomenu, jak mi u sebe doma řekl: "Ty máš fobii z hadů? Tak to jsi na prd zoolog." a pak mi vyprávěl své celoživotní poznatky, zážitky a historky, abych prý nebyla "tak na prd zoolog". Raďovi Coufali děkuji za ochotné poskytnutí nádherných fotografií plžů.

Za veškerou podporu a pomoc děkuji svým kamarádům a kolegům, kterých je tolik, že se omlouvám všem, na něž zapomenu. Kromě již výše zmíněných děkuji také Zině Tomášové za pomoc s terénním sběrem na Slovensku a v Maďarsku, Vojtovi Novákovi a Kubovi K. za společné četné terénní výjezdy po České republice a mému tatínkovi děkuji za nezapomenutelný „šnektrek“ po jižním Německu a východní Francii.

Práce byla podpořena Univerzitou Karlovou, projektem GA UK č. 244120 (Vznik, přežívání, mísení a mizení diverzity Evropských suchozemských plžů: rody *Monachoides* a *Xerocampylaea* (Gastropoda: Pulmonata: Hygromiidae)).

Závěrem obrovský dík patří mojí rodině, jež mě všestranně podporovala po celou dobu mého studia i přesto, že jí často unikal smysl mého počínání. Děkuji za vše! Zvlášť veliké poděkování si zaslouží můj manžel. Bez jeho podpory a pochopení by tato práce nikdy nevznikla.

Seznam publikací, které jsou součástí disertace:

(Článek 1) Adamcová T., Juříčková L., Pročków M., Neubert E., Petrussek A. & Korábek O. (2024). Taxonomic revision and dissolution of the genus *Monachoides* (Gastropoda, Stylommatophora). *Zoologica Scripta*, 53, 419–437. <https://doi.org/10.1111/zsc.12658>

(Článek 2) Korábek O., Adamcová T., Pročków M., Petrussek A., Hausdorf B. & Juříčková L. (2023). In both directions: Expansions of European land snails to the north and south from glacial refugia. *Journal of Biogeography*, 50(4), 654–668. <https://doi.org/10.1111/jbi.14531>

(Článek 3) Korábek O., Kosová T., Dolejš P., Petrussek A., Neubert E. & Juříčková L. (2021). Geographic isolation and human-assisted dispersal in land snails: A Mediterranean story of *Helix borealis* and its relatives (Gastropoda: Stylommatophora: Helicidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 193(4), 1310–1335. <https://doi.org/10.1093/zoolinnean/zlaa186>

(Článek 4) Juříčková L., Horáčková J., Jansová A., Škodová J., Kosová T. & Ložek V. (2019). Did humans and natural forests coexist nearby? A case study of the Lateglacial and Holocene Mollusca in the Moravian Karst, Czech Republic. *Boreas*, 48(4), 929–939. <https://doi.org/10.1111/bor.12390>

Podíl na publikacích:

Pod citacemi článků jsou uvedeny mé podíly na publikacích obsažených v disertační práci.

(Článek 1) Adamcová T., Juříčková L., Pročków M., Neubert E., Petrusek A. & Korábek O. (2024). Taxonomic revision and dissolution of the genus *Monachoides* (Gastropoda, Stylommatophora). *Zoologica Scripta*, 53, 419–437. <https://doi.org/10.1111/zsc.12658>

T. Adamcová je na této publikaci první a korespondenční autor. Na publikaci má hlavní podíl. Podíl: organizace práce, terénní sběr dat, laboratorní práce, získání sekvenčních dat, fylogenetické analýzy, studium morfologie, pitvání a studium pohlavního systému, pořízení snímků ze SEM, sepisování a úprava rukopisu a zajistila financování.

doc. RNDr. Lucie Juříčková, Ph.D.



(Článek 2) Korábek O., Adamcová T., Pročków M., Petrusek A., Hausdorf B. & Juříčková L. (2023). In both directions: Expansions of European land snails to the north and south from glacial refugia. *Journal of Biogeography*, 50(4), 654–668. <https://doi.org/10.1111/jbi.14531>

T. Adamcová se na této publikaci podílela z velké části. Byla při vytvoření myšlenky, zajistila terénní sběr dat, shromáždění genetický dat, shromáždění fosilních dat, zajistila financování a společně psala rukopis.

doc. RNDr. Lucie Juříčková, Ph.D.



(Článek 3) Korábek O., Kosová T., Dolejš P., Petrussek A., Neubert E. & Juříčková L. (2021). Geographic isolation and human-assisted dispersal in land snails: A Mediterranean story of *Helix borealis* and its relatives (Gastropoda: Stylommatophora: Helicidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 193(4), 1310–1335. <https://doi.org/10.1093/zoolinnea/zlaa186>

T. Adamcová se na této publikaci podílela sběrem materiálu v terénu a zpracováním genetických dat.

doc. RNDr. Lucie Juříčková, Ph.D.



(Článek 4) Juříčková L., Horáčková J., Jansová A., Škodová J., Kosová T. & Ložek V. (2019). Did humans and natural forests coexist nearby? A case study of the Lateglacial and Holocene Mollusca in the Moravian Karst, Czech Republic. *Boreas*, 48(4), 929–939. <https://doi.org/10.1111/bor.12390>

T. Adamcová se na této publikaci podílela zpracováním vzorků, dále diskutovala výsledky a podílela se na jejich interpretaci.

doc. RNDr. Lucie Juříčková, Ph.D.



Obsah

Úvod	10
1. Nadčeled' Helicoidea	11
2. Rod <i>Monachoides</i>	12
2. 1. Taxonomie.....	12
2. 2. Rozšíření a ekologie	18
2. 3. Determinační znaky.....	23
3. Glaciální refugia a postglaciální kolonizace	28
4. Fosilní doklady	31
5. Ostatní druhy z nadčeledi Helicoidea.....	33
Závěr.....	34
Seznam literatury	35

Úvod

Suchozemští plži jsou vhodnou modelovou skupinou pro studium biogeografické dynamiky, jelikož díky jejich nízké schopnosti se šířit se u nich zachovává fylogeografická struktura vyplývající ze změn rozšíření zřetelněji a déle. Obecně typicky vykazují silnou geografickou strukturu v distribuci vnitrodruhových linií. Kromě toho se navíc jejich ulity zachovávají ve vápenatých sedimentech, což umožňuje alespoň částečně sledovat změny v distribuci během i několika kvartérních cyklů klimatických změn (Ložek 1964, Juříčková et al. 2014b, Korábek et al. 2018). Díky fosilním schránkám lze propojit poznatky molekulární fylogeografie s přímými doklady dřívějšího výskytu a rekonstruovat minulý rozsah areálů. Vedle fylogeografických analýz a odhadů minulého rozšíření na základě modelování ekologické niky jsou fosilní data zásadní součástí studia dlouhodobých změn rozšíření druhů (Gavin et al. 2014). U suchozemských plžů propojili poznatky molekulární fylogeografie s přímými doklady dřívějšího výskytu (fosilním záznamem) až Korábek et al. (2018), kteří rekonstruovali glaciální refugia a postglaciální šíření našeho největšího suchozemského plže, hlemýžďe zahradního (*Helix pomatia* Linnaeus, 1758). V této práci se zabývám diverzitou a fylogeografií několika Evropských suchozemských plžů, a snažím se právě o zapojení fosilních dat tam, kde jsou k dispozici.

Modelovou skupinou mé práce jsou zástupci skupiny Helicoidea, a hlavně vlahovka narudlá, *Monachoides incarnatus* (Obr. 1). Vybrali jsme *M. incarnatus*, jelikož stejně jako *H. pomatia* patří k našim nejběžnějším suchozemským plžům a, ačkoliv *M. incarnatus* vyžaduje o něco vlhčí místa a je více lesní, mají v zásadě podobné areály výskytu a široce se překrývající ekologickou valenci. Některé studie ukazují, že glaciální refugia a následné reakce na klimatické změny jsou druhově specifické a individuální (Stewart et al. 2009), ale různé fylogeografické studie porovnávají druhy, u kterých není zvláštní důvod očekávat podobnost v postglaciální kolonizaci. Ačkoliv se zde jedná o dva fylogeneticky relativně nepříbuzné druhy, chtěli jsme u obou výše zmíněných středoevropských druhů porovnat jejich fylogeografii s hypotézou, že oba druhy mohou mít podobné zdroje postglaciálního šíření. Naším cílem bylo nalézt glaciální refugium u *M. incarnatus* a zjistit, zda druh sdílí obecnější vzorec postglaciální kolonizace s jinými druhy skupiny Helicoidea.



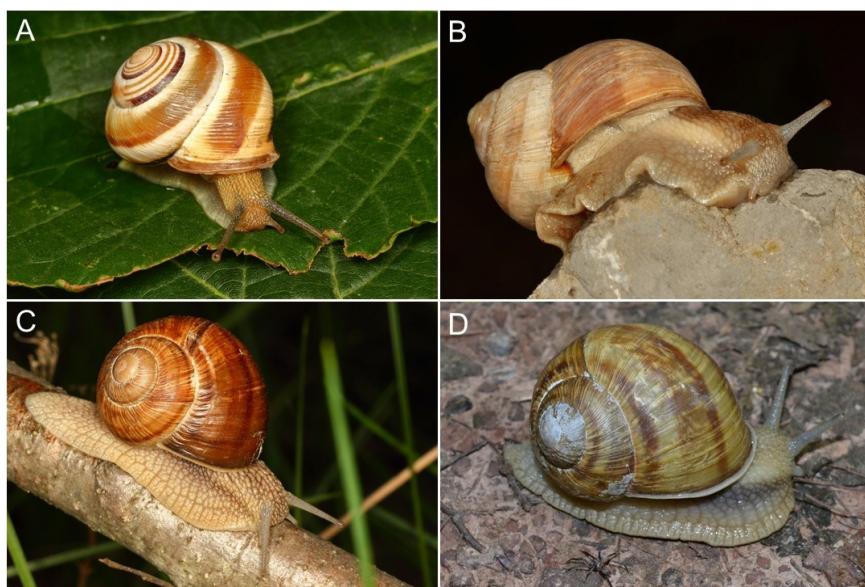
Obr. 1:
Monachoides
incarnatus –
vlahovka narudlá.

1. Nadčeled' Helicoidea

Nadčeled' Helicoidea je téměř celosvětově rozšířená nadčeled' zahrnující řadu velkých, rozšířených, komerčně cenných druhů, stejně jako mnoho málo známých, lokálně endemitních druhů. Byla zavedena v roce 1815 a od té doby byla mnohokrát revidována. Od druhé poloviny 19. století byl systém Helicoidea založen na anatomii pohlavního systému (Moquin-Tandon 1855, Pilsbry 1893-1895, Hesse 1931, Hesse 1934, Zilch 1960), v čemž pokračovali později někteří autoři (např. Nordsieck 1987, Schileyko 1991, Puente 1994). Nejnovější revize nadčeledi Helicoidea jsou pak založené na fylogenezi (Razkin et al. 2015, Bouchet et al. 2017).

Z druhů skupiny Helicoidea jsme se zabývali druhy *Caucasotachea vindobonensis*, *Helix pomatia*, *Helix thessalica* O. Boettger, 1886 (Obr. 2) a především *Monachoides incarnatus*. *Monachoides incarnatus* patří do čeledi Hygromiidae, ostatní vybrané druhy náleží do čeledi Helicidae. Druhy rodu *Helix* Linnaeus, 1758 dlouhodobě studuje konzultant řešitelky Ondřej Korábek, a tak jsme mohli použít již publikovaná data pro mezidruhové srovnání. Výhodou tohoto srovnání je velký překryv areálů rozšíření druhů *M. incarnatus* a *H. pomatia*. *Caucasotachea vindobonensis* je také součástí studií O. Korábka a navíc oba druhy spolu sdílí na jižním okraji areálu, v oblasti Balkánu, podobné lokality. Vybrali jsme tedy druhy, které mají podobné areály výskytu nebo spolu alespoň části svých areálů sdílí, druhy, které přitom nejsou sesterské, a druhy, které v některých oblastech v rámci svého rozšíření mají i podobné ekologické nároky. Dalším druhem skupiny Helicoidea, z čeledi Helicidae, kterým jsme se zabývali, je *Helix borealis* Mousson, 1859 (Obr. 2B), vyskytující se v oblasti Mediteránu. Ten zde reprezentuje mediteránní druhy, kde lze předpokládat menší variabilitu prostředí v průběhu kvartéru, a proto také starší geografickou strukturu bez známek velkých změn velikosti areálu.

Než vůbec začneme hledat glaciální refugia některého z druhů vybraného rodu, je zapotřebí jasně definovat jeho vymezení, tedy které všechny populace k němu patří. Proto bylo nezbytné, abychom v první řadě provedli taxonomickou revizi celého středoevropského rodu *Monachoides* a nově jsme pochopili biogeografii celého rodu (**Článek 1**). Ucelená studie rodu *Monachoides* dosud publikována nebyla, a tak jsme se na něj zaměřili my.



Obr. 2: Vybrané druhy z nadčeledi Helicoidea.

A. *Caucasotachea vindobonensis* (foto: R. Coufal),

B. *Helix borealis* (foto: R. Coufal),

C. *Helix pomatia* (foto: R. Coufal) a

D. *H. thessalica* (foto: O. Korábek).

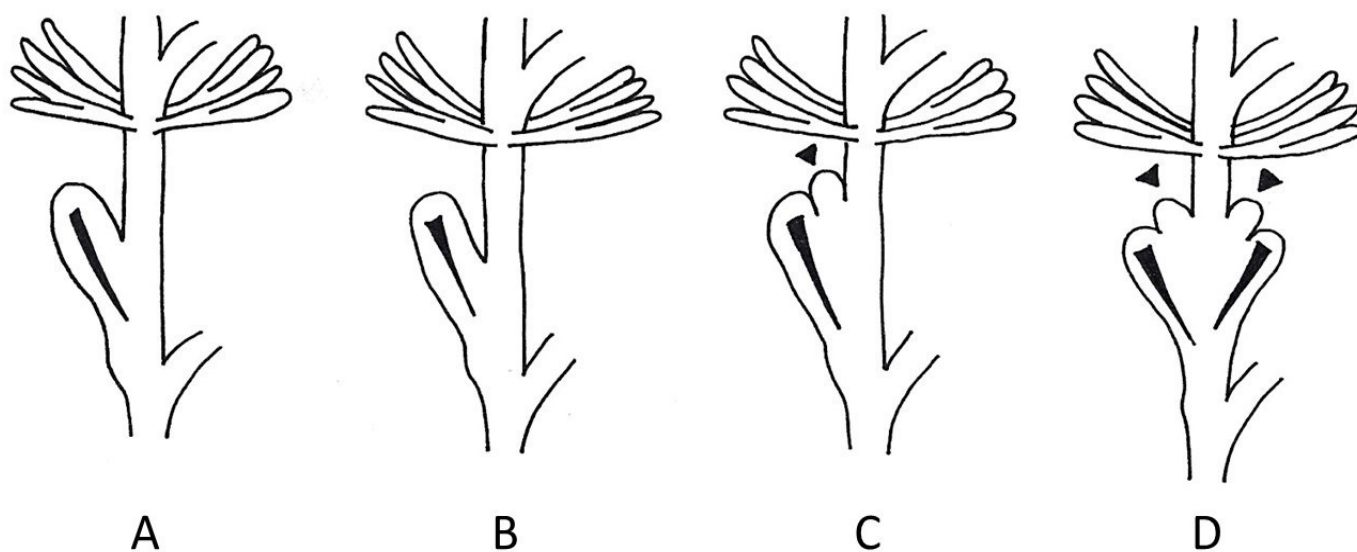
2. Rod *Monachoides*

2. 1. Taxonomie

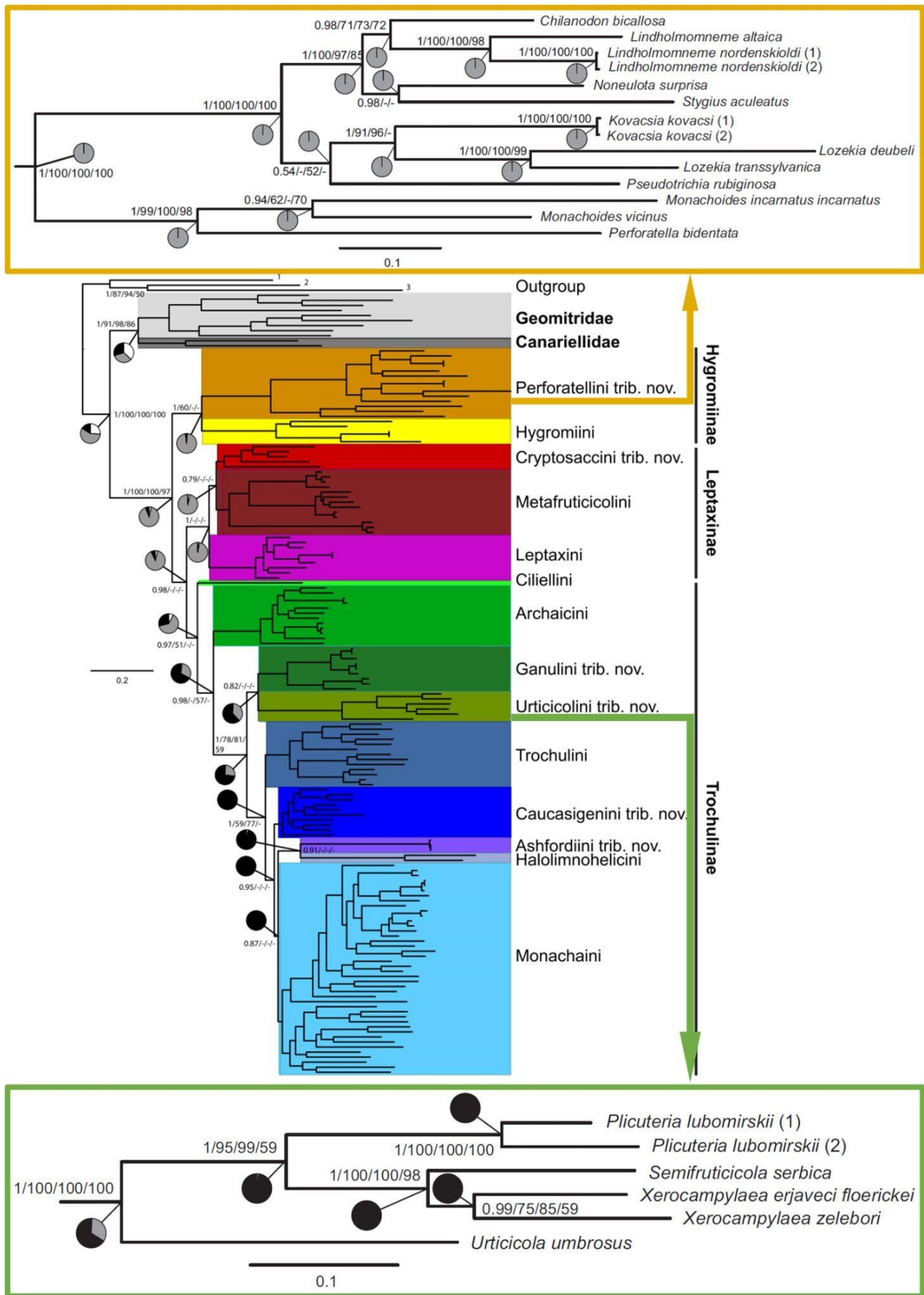
Revize některých skupin suchozemských plžů byly provedeny již před desítkami let, a to za pomoci konchologie a/nebo anatomie (např. Schileyko 1972a, Nordsieck 1987). I v dnešní době jsou některé revize skupin suchozemských plžů založeny na morfologii či anatomii (např. Man et al. 2022), ale většina současných revizí již bývá založena na molekulární fylogenezi (např. Razkin et al. 2015, Bouchet et al. 2017, Neiber et al. 2017b), která přinesla u některých skupin zásadní změny v systematice.

Rod *Monachoides* patří do čeledi Hygromiidae, jejíž systematika byla založena na anatomii pohlavní soustavy, a to zejména na počtu a uspořádání šípových vaků (Schileyko 1970, 1972a, 1972b, 1978, 1991, 2006; Nordsieck 1993). Neiber et al. 2017b provedli její zásadní revizi, když rekonstruovali fylogenezi čeledi za pomoci molekulárních analýz zahrnujících téměř všechny rody a zcela tak přestavěli její klasifikaci (Razkin et al. 2015, Neiber et al. 2017b, podrobněji v **Článku 1**). Revizí rodu *Monachoides* přispíváme, k již publikovaným taxonomickým revizím dalších rodů v čeledi (např. Proćków et al. 2013 a 2019, Bamberger et al. 2020, Pieńkowska et al. 2022).

Neiber et al. 2017b řadí rod *Monachoides* do tribu Perforatellini (Obr. 4). Do tribu Perforatellini spojili středoevropské rody *Perforatella* a *Monachoides* jejichž zástupci ztrácejí přídavný váček, který se vyskytuje v blízkosti šípového vaku většiny druhů čeledi (accessory sac; Obr. 3) a které tvoří sesterskou skupinu zbývajících rodů (*Chilanodon* Westerlund, 1897; *Kovacsia* Nordsieck, 1993; *Lindholmommenme* Haas, 1936; *Lozekia* Hudec, 1970; *Noneulota* Schileyko & Horsák, 2007; *Pseudotrachia* Schileyko, 1970; *Stygius* Schileyko, 1970) (Obr. 4).



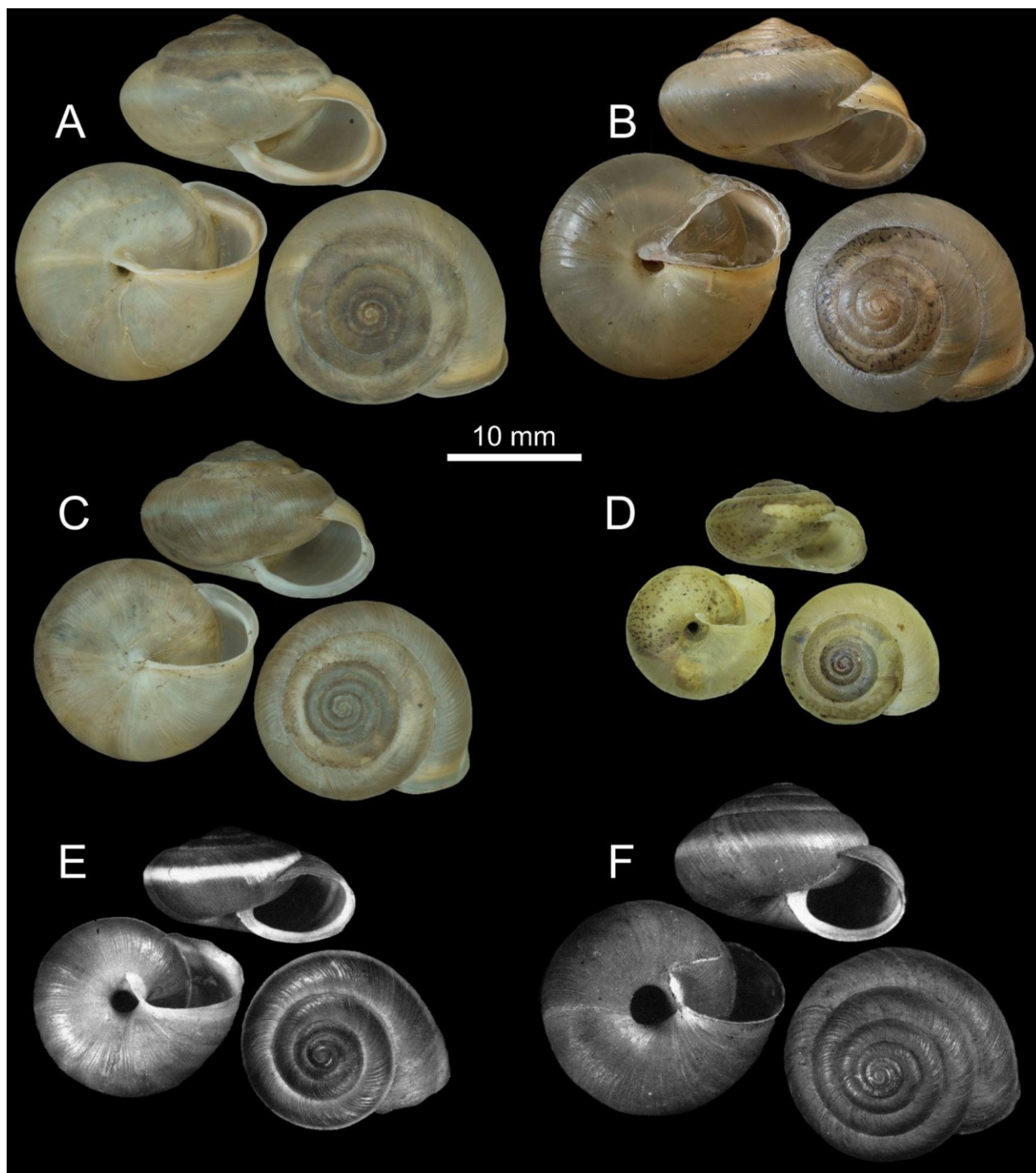
Obr. 3: Přídavný váček u rodu *Perforatella* (A) a v rodě *Xerocampylaea* (B, C, D) buď vůbec není (B) nebo vzniká jeden (C) nebo dva (D).



Obr. 4: Konsenzuální strom čeledi Hygromiidae s přiblížením na tribus Perforatellini (oranžově) a tribus Urticolini (zeleně) (Neiber et al. 2017).

Donedávna se mělo za to, že rod *Monachoides* zahrnuje šest druhů ze střední a jihovýchodní Evropy (Obr. 5A–F):

- *Monachoides bacescui* Grossu, 1979
- *Monachoides fallax* (Wagner, 1914)
- *Monachoides incarnatus* (O. F. Müller, 1774)
- *Monachoides kosovoensis* De Winter & Maassen, 1992
- *Monachoides taraensis* De Winter & Maassen, 1992
- *Monachoides vicinus* (Rossmässler, 1842)



Obr. 5: Druhy původně řazené do rodu *Monachoides*. **A.** *M. incarnatus* (foto: T. Adamcová), **B.** *M. bacescui* (foto: Ana-Maria Krapal), **C.** *M. vicinus* (foto: T. Adamcová), **D.** *M. fallax* (foto: T. Adamcová), **E.** *M. taraensis* (De Winter & Maassen, 1992), **F.** *M. kosovoensis* (De Winter & Maassen, 1992).

Naše molekulární analýzy vedly k zásadním změnám v taxonomii rodu *Monachoides*. Nově zařazujeme Balkánské druhy *M. fallax* (Obr. 5D), *M. kosovoensis* (Obr. 5F) a *M. taraensis* (Obr. 5E) do nepříbuzného rodu *Xerocampylaea* v tribu Urticicolini (Obr. 4, **Článek 1**). Do rodu *Xerocampylaea* se donedávna řadil pouze jeden druh (Welter-Schultes 2012), ale podle právě probíhající taxonomické revize založené na molekulárních analýzách, na které nyní spolupracujeme s Małgorzatou Proćków z Wrocławu, rod zahrnuje zřetelně více druhů. Na jejich taxonomické revizi se dále pracuje. S rodem *Xerocampylaea* je to totiž mnohem složitější než s rodem *Monachoides*. Není známé rozšíření mnoha druhů/taxonů, které k rodu náleží, sekvenční data v Genbanku téměř chybí, řada jmen označujících objevené linie byla dlouho pokládána za synonyma. Je zapotřebí provést další sběr vzorků a již nyní je ale zřejmé, že toto studium potrvá několik let, než se podaří definovat jednotlivé taxony a odhalit jejich vztahy v rodě *Xerocampylaea*. Z těchto důvodů, hlavně tedy časových, jsem nemohla studii rodu *Xerocampylaea* do disertace zařadit. Rod *Xerocampylaea* (Obr. 7) se vyskytuje na jihovýchodě Evropy, kde se jeho areál překrývá s rodem *Monachoides* (Kerney et al. 1983, Welter-Schultes 2012).

Dále jsme provedli revizi statutu banátského druhu *M. bacescui* (Obr. 5B), který se nově stává synonymem široce rozšířeného druhu *M. incarnatus*. Grossu (1979) odlišil *M. bacescui* pouze podle délky glandulae mucosae (Obr. 14: mucous glands), která je ale u *M. incarnatus* značně variabilní. Také jsme do studie zahrnuli morfologicky zřetelně odlišnou formu, která se vyskytuje v severní Itálii a byla popsána jako *Helix armata* Stabile, 1859 (*M. incarnatus armatus* (Stabile, 1859)). Jedná se o izolovanou populaci se zoubkem na spodním okraji ústí (Obr. 6). Naše fylogenetické analýzy ale ukázaly, že se jedná pouze o vnitrodruhovou linii v rámci druhu *M. incarnatus* a *H. armata* se stává synonymem *M. incarnatus* (**Článek 1**).



Obr. 6: *Monachoides incarnatus armatus* (foto: T. Adamcová).

Vedle těchto synonymizací jsme objevili novou samostatnou genetickou linii v rodě *Monachoides*, rozšířenou pouze na území Chorvatska. Nejprve jsme se domnívali, že popíšeme nový druh, ale po bližším prozkoumání jsme jej ztotožnili s taxonem popsaným jako *Monachoides incarnatus welebitanus* (Pfeiffer, 1847), který podrobněji charakterizuje až Falkner (1990). Pfeifferův původní popis neumožňuje přesnou determinaci, ani neuvádí místo výskytu či typovou lokalitu. Typový materiál byl s největší pravděpodobností ztracen během druhé světové války (Zilch 1967) a jelikož dle fylogenetických analýz nemůže být poddruhem *M. incarnatus*, designovali jsme neotyp (**Článek 1**).

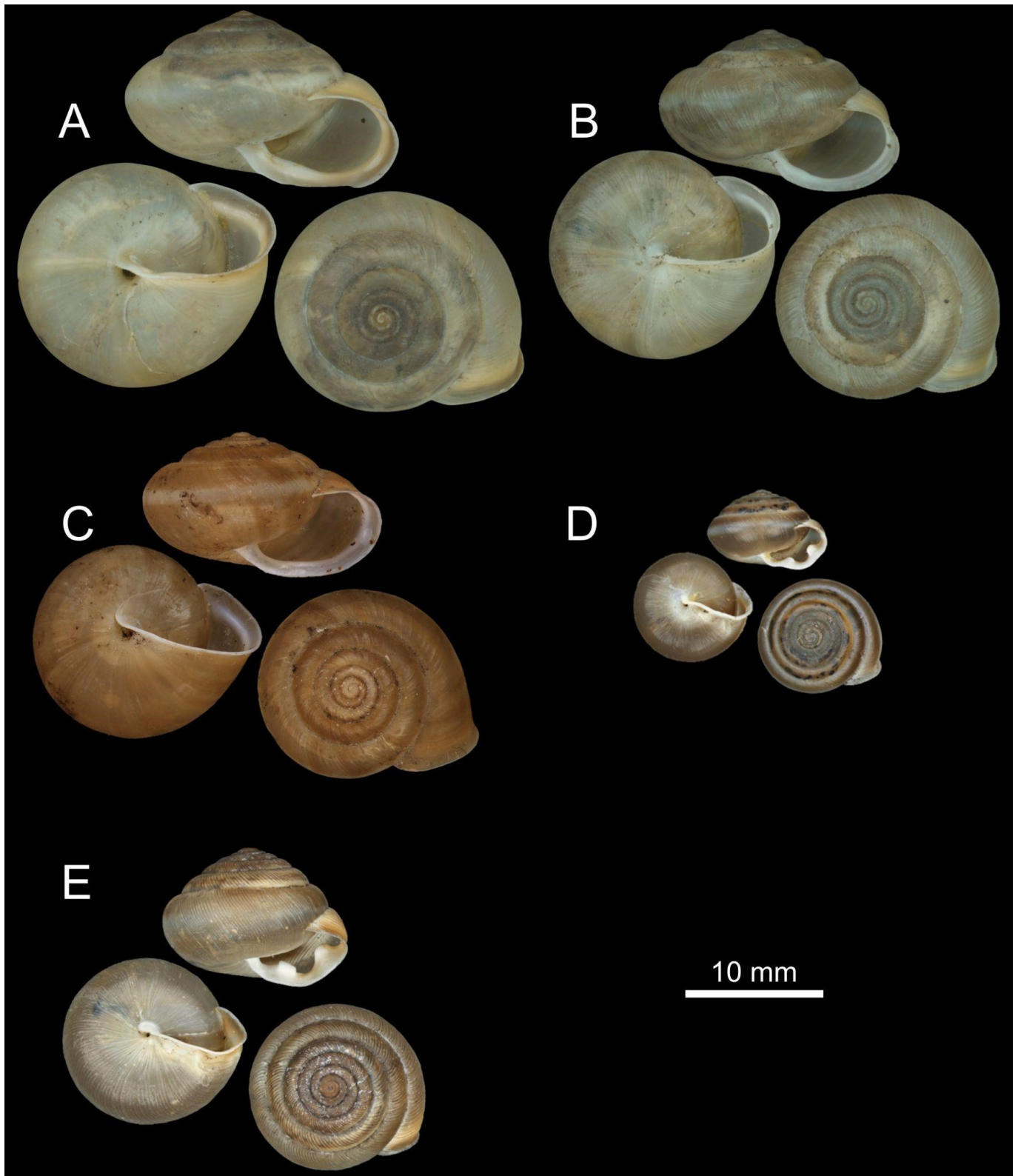
Nově znovupopsaný druh označujeme *Perforatella welebitana* (Pfeiffer, 1847). Podle našich výsledků náleží totiž tento druh, spolu se zbývajícími dvěma druhy rodu, *M. incarnatus* (Obr. 5A) a *M. vicinus* (Obr. 5C), do rodu *Perforatella*. Nově se tak přejmenovávají na *Perforatella incarnata* a *Perforatella vicina* a rod *Monachoides* zcela zaniká, neboť všechny dříve řazené druhy rodu *Monachoides* jsou přemístěny do jiných dvou rodů nebo jsou synonymizovány:

- *Monachoides bacescui* → *Perforatella incarnata*
- *Monachoides fallax* → *Xerocampylaea fallax*
- *Monachoides incarnatus* → *Perforatella incarnata*
- *Monachoides incarnatus armatus* → *Perforatella incarnata*
- *Monachoides incarnatus welebitanus* → *Perforatella welebitana*
- *Monachoides kosovoensis* → *Xerocampylaea kosovoensis*
- *Monachoides taraensis* → *Xerocampylaea taraensis*
- *Monachoides vicinus* → *Perforatella vicina*

Do rodu *Perforatella* v původním pojetí patří pouze dva druhy *Perforatella bidentata* (Gmelin, 1791) a *Perforatella dibothrion* (Kimakowicz, 1884), v novém pojetí tedy místo původních dvou druhů zahrnuje druhů pět (Obr. 8, **Článek 1**).



Obr. 7: *Xerocampylaea* v údolí řeky Tara v Černé Hoře (foto: L. Juříčková).



Obr. 8: Rod *Perforatella* v novém pojetí. **A.** *P. incarnata* (foto: T. Adamcová), **B.** *P. vicina* (foto: T. Adamcová), **C.** *P. welebitana* (foto: T. Adamcová), **D.** *P. bidentata* (foto: O. Korábek), **E.** *P. dibothrion* (foto: O. Korábek).

2. 2. Rozšíření a ekologie

Perforatella incarnata (O. F. Müller, 1774)

Perforatella incarnata (Obr. 8A a 10) je hlavním modelovým druhem této práce a současně nejrozšířenějším druhem rodu (Obr. 13). Tento plž je zajímavý svým rozšířením (**Článek 1**), protože ačkoliv je velice běžný ve střední Evropě, nezasahuje příliš na západ a východ Evropy. Východní hranice rozšíření jsou poměrně málo známé. Zasaahuje svým rozšířením až po západní Ukrajinu (Balashov 2016), Moldavsko (Balashov et al. 2013) a vyskytuje se i v jižním a jihozápadním Rumunsku (Poliński 1924, Soós 1943, Grossu 1983, Gheoca et al. 2024). Jižní hranice prochází přes Balkánský poloostrov a severní Itálii. Na západě proniká *P. incarnata* až do Německa a jihovýchodní Francie (Kerney et al. 1983, Cossignani & Cossignani 1995, Welter-Schultes 2012), kde ale jeho rozšíření nesleduje žádnou zřetelnou fyzickou bariéru. Hranice rozšíření tedy může být dána bariérou nižších pohoří ve Francii (Francouzské středohoří, Argony, Vogézy, Monts d'Arrée a Montagne Noire), Ardenami v Belgii a dalšími pohořími na západě Německa (pohoří Eifel, Rothaar, Harz), spíše ale může být dána příliš oceánským klimatem západní Francie, jelikož podobnou hranici rozšíření na západě mají další lesní druhy suchozemských plžů, např. *Platyla polita* (Hartmann, 1840), *Sphyradium doliolum* (Bruguière, 1792), *Euobresia diaphana* (Draparnaud, 1805), *Vitrea diaphana* (S. Studer, 1820), *Aegopinella nitens* (Michaud, 1831), *Macrogastra ventricosa* (Draparnaud, 1801), *M. plicatula* (Draparnaud, 1801), *Isognomostoma isognomostomos* (Schröter, 1784), *Fruticicola fruticum* (O. F. Müller, 1774) nebo *Euomphalia strigella* (Draparnaud, 1801) (Welter-Schultes 2012). Cirkulace atlantského vzduchu přináší velmi odlišné teplotní a vlhkostní podmínky, než jsou v kontinentální oblasti Evropy. Západní hranice rozšíření *P. incarnata* téměř kopíruje hranici atlantského klimatu, ale i středoevropských smíšených lesů vegetačních zón (Obr. 9). Domníváme se, že spíše než fyzické přírodní bariéry, limitují v šíření druhu dále na západ klimatické parametry jeho niky. Severní hranice prochází Dánskem, jižním Švédskem a Polskem a limitem je zde pravděpodobně teplota.



Obr. 9: Vegetační zóny Evropy a Kavkazu (Britannica, 2024) s vyznačením hranic rozšíření *P. incarnata*.

Perforatella incarnata je primárně lesním druhem, jak je zřejmé z pleistocenních kontextů jeho výskytu, obývá dnes ale široké spektrum biotopů a lze jej nalézt na ruderálních lokalitách v urbánních a suburbánních zónách (křoviny, vlhké porosty vysokých bylin, dubové lesy, porosty rákosu a vysokých ostřic na okraji rybníků, zahrady, parky, skládky, kopřiviště apod.). Jedná se o vlhkomilný druh, který je na vlhkých místech početnější (např. Wiktor 2004). Jeho tolerance ke znečištění polétavým prachem (Gärdenfors 1987) by mohla pomoci vysvětlit jeho postupné rozšiřování z lesů do ruderálních lokalit (např. Dvořák 2005, Horsák et al. 2013).



Obr. 10: *Perforatella incarnata*, vlevo juvenil, vpravo adulti (foto: R. Coufal).

Perforatella vicina (Rossmässler, 1842)

Perforatella vicina (Obr. 8B a 11) je karpatským druhem, který je rozšířený v Karpatech od České republiky až do Rumunska (Grossu 1983). Ve východních Čechách má západní hranici svého souvislého rozšíření. Zasahuje na Broumovsko a na Moravě je na příhodných místech poměrně hojný. V Polsku zasahuje na Podkarpatsko a podél Sudet, na sever Polska proniká místy až do Bělověžského pralesa a do Mazur (Riedel 1988, Cameron et al. 2010). Na Ukrajině je rozšířen až po hřeben Slovechno-Ovruč (Balashov & Gural-Sverlova 2012). Jsou známy izolované výskyty v Bavorsku v Německu (Franská Alba; Häßlein 1960) a Pintér & Suara (2004) jej uvádí i v jižním Maďarsku (Obr. 13). *P. vicina* je výhradně lesní druh, který preferuje přirozené vlhčí lesy než předchozí druh (**Článek 1**).



Obr. 11: *Perforatella vicina*, vlevo subadult, vpravo juvenilové (foto: R. Coufal).

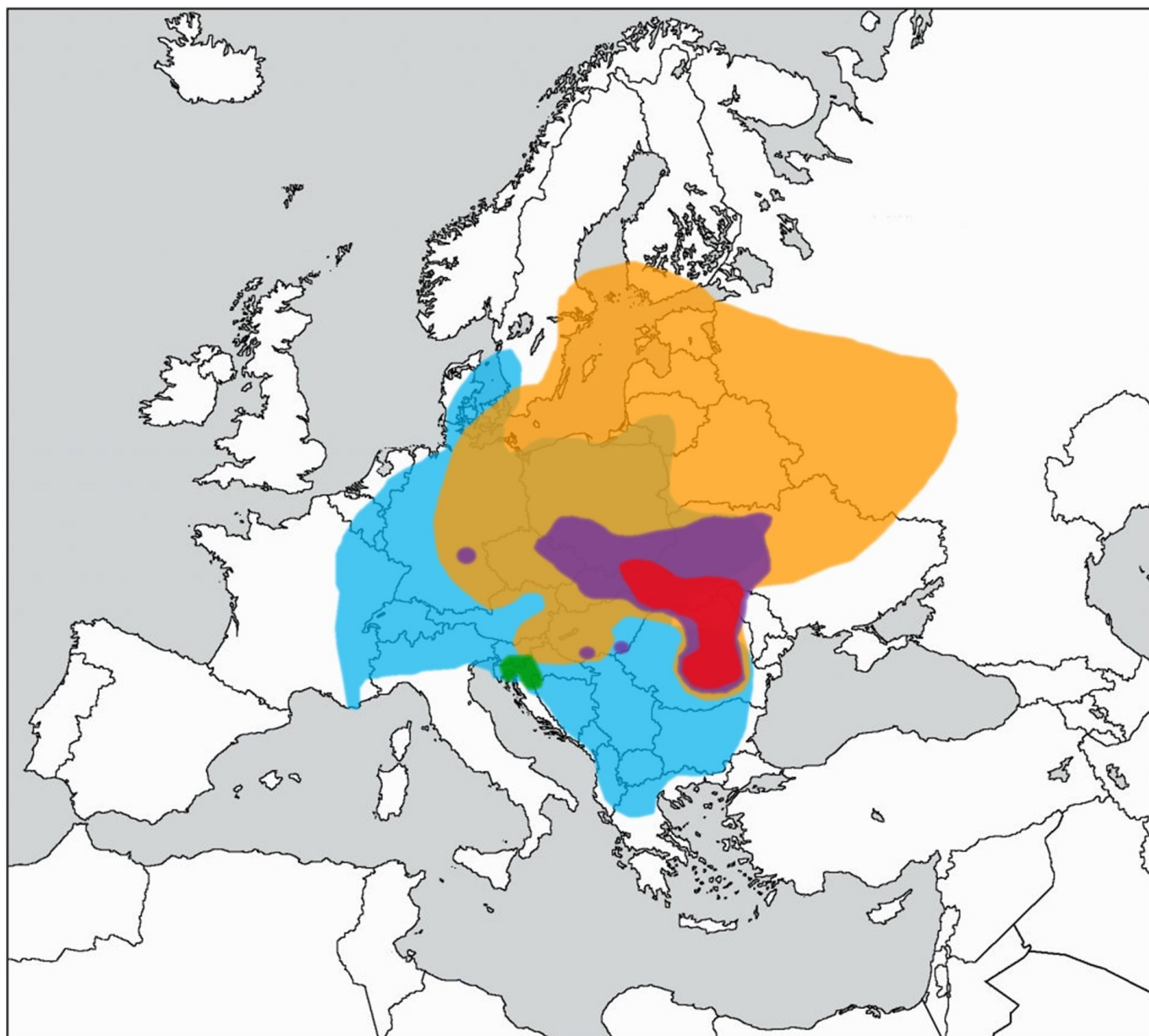
***Perforatella welebitana* (Pfeiffer, 1847)**

Perforatella welebitana (Obr. 8C a 12) je druh rozšířený výhradně na území Chorvatska (Obr. 13). Zaznamenali jsme výskyt tohoto druhu v župách (chorvatsky *županija*): Primorsko-goranska, Karlovačka a Ličko-Senjska. Předpokládáme, že jedinec, kterého uvádí Falkner (1990) je právě *P. welebitana*, a proto pravděpodobně zasahuje svým výskytem do krasové oblasti (Taborska jama – Županova jama) táhnoucí se až ke slovinské Ljubljani (Falkner 1990). *P. welebitana* se vyskytuje především v listnatých lesích s převahou buku a habru (**Článek 1**), převážně v krasových oblastech se závrtý.



Obr. 12: *Perforatella welebitana*, adult. (foto: R. Coufal).

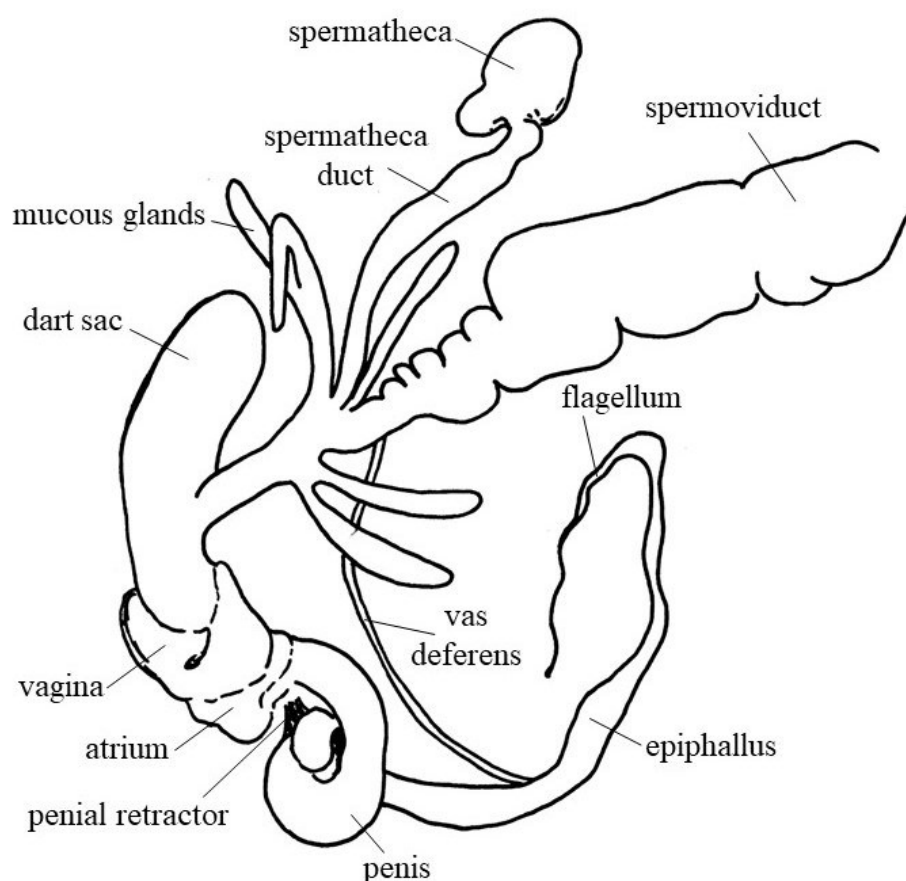
Po přeražení balkánských druhů, z původního rodu *Monachoides*, do rodu *Xerocamypylaea* se tribus Perforatellini stává tribem s poměrně severním rozšířením. *Perforatella* (v novém pojetí), *Lozekia* a *Kovacsia* jsou rody se středoevropským areálem výskytu, ale s jihovýchodní afinitou (Karpáty; Neiber et al. 2017). Ostatní rody z tribu (*Chilanodon*, *Lindholmomneme*, *Noneulota*, *Pseudotrichia* a *Stygus*) se převážně vyskytují v oblasti Sibiře. Rod *Perforatella* se tak nově stává rodem z jihovýchodu střední Evropy (Obr. 13).



Obr. 13: Mapa rozšíření druhů rodu *Perforatella* dle literatury a vlastních sběrů. Kromě *P. welebitana* jsou areály výskytu dle literatury vždy podle Kerney et al. 1983 a Welter-Schultes 2012, případně je uveden další zdroj. Areály jednotlivých druhů jsou odlišeny barvami: *P. bidentata* – oranžově. *P. dibothrion* – červeně. *P. incarnata* – modře (vlastní sběry, Cossignani & Cossignani 1995, Wiktor 2004). *P. vicina* – fialově (vlastní sběr, Pintér & Suara 2004) a *P. welebitana* – zeleně (vlastní sběr a Falkner 1990).

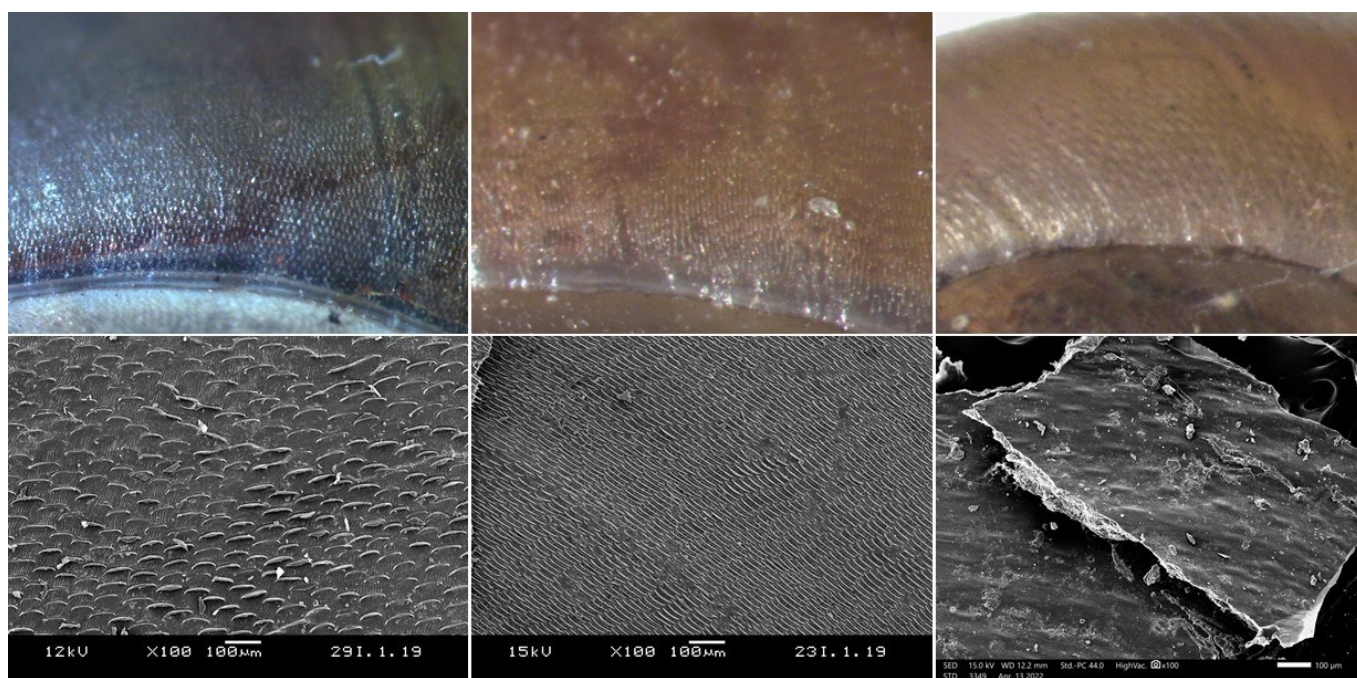
2. 3. Determinační znaky

Protože některé tradičně užívané determinační znaky, především anatomické, se ukazují jako evolučně nestabilní a zavádějící (např. Neiber & Hausdorf 2017, Neiber et al. 2017a, Neiber et al. 2018; Článek 1), hledali jsme nové morfologické znaky, kterými by bylo možné jednoznačně definovat druhy *P. incarnata*, *P. vicina* a *P. welebitana*. Druh *P. welebitana* byl na počátku vyčleněn hlavně na základě analýzy DNA. Jelikož není determinace druhů pouze podle DNA v praxi běžně použitelná, zaměřili jsme se na nalezení morfologických znaků, které bude moci používat úplně každý. Snahou bylo odlišit *P. welebitana* od běžně rozšířené *P. incarnata*, neboť žijí sympatricky a mohou být zaměnitelné. Zkoumali jsme hned několik znaků, u kterých jsme zjistili, že je nelze bezpečně použít. Výška a šířka ulity, počet závitů, barva a tvar schránky a embryonální závitů se ukázaly jako v tomto případě nedostatečné determinační znaky, byť se u plžů jinak běžně používají. Všechny tyto parametry jsou u obou druhů v rámci jejich areálu výskytu do jisté míry variabilní a zjištěná rozpětí se překrývají. Po změření tloušťky dvou hlavních vrstev schránky – periostraka a ostraka a změření výšky periostrakálních hrbolků, které *P. incarnata* a *P. welebitana* vytváří na povrchu ulity, se ukázalo, že ani v těchto případech nějaké výrazné a prokazatelné odlišnosti nejsou. Anatomii pohlavního systému (Obr. 14) nelze vždy použít, protože vyžaduje, aby byli dostupní dospělí živí jedinci. Po vypitvání několika desítek jedinců se prokázalo, že genitály jsou prakticky stejné (spolehlivým znakem se jeví jen pozice papily uvnitř penisu) a vnější rozměry orgánů nelze spolehlivě použít k identifikaci druhu (Článek 1).

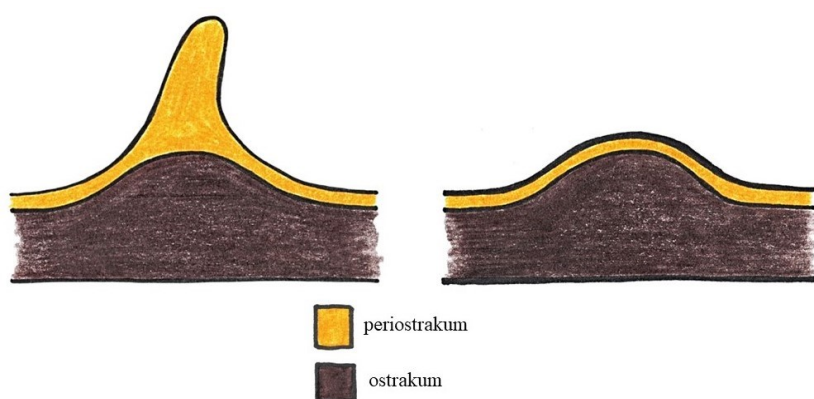


Obr. 14: Pohlavní systém druhu *P. incarnata*.

Nakonec jsme objevili spolehlivé determinační znaky ve tvaru a uspořádání hrbolků na povrchu schránky, tvořících povrchovou mikroskulpturu ulit. Povrchová mikroskulptura schránek plžů je dnes velmi málo prozkoumaná. Existuje jen několik málo prací, kdy se autoři zabývají mikroskulpturou schránky u jednotlivých druhů plžů (Hedegaard 1990, Taylor & Reid 1990, Chaki et al. 1992, Hedegaard 1997, Chateigner et al. 2000, Bächle et al. 2006, Ligaszewski et al. 2009). Ve většině případů je povrchová skulptura schránky opomíjena. Zvláště u čeledi Hygromiidae jsou tyto struktury variabilní, ale existují pouze izolované informace pro jednotlivé vybrané druhy (např. De Winter & Maassen 1992, Neiber 2019 nebo Proćków et al. 2019). V případě druhů *P. incarnata*, *P. vicina* a *P. welebitana* se jedná o morfologický determinační znak, který je využitelný nejen u recentního, ale i u fosilního materiálu. Všechny tři zmíněné druhy mají na povrchu ulity hrbolky (Obr. 15), ovšem odlišného charakteru (Obr. 16) a vzhledu (Obr. 17A–D). *Perforatella incarnata* a *P. welebitana* mají ostrakální hrbolky na něž navazuje výrazný periostrakální hrbolek, ale u *P. vicina* je hrbolek ostrakální, který u dospělců pouze kopíruje tenká vrstva periostraka (Obr. 16).

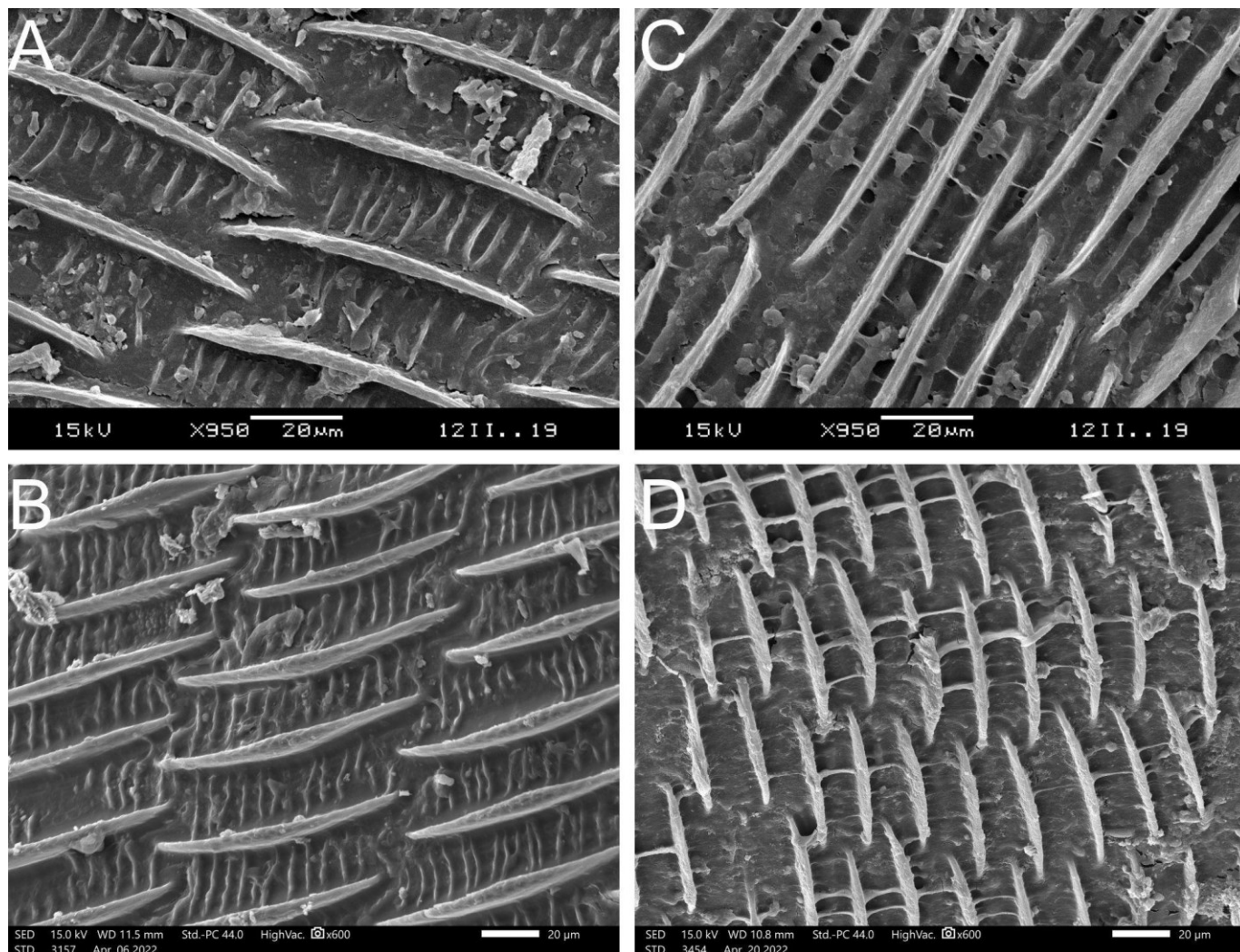


Obr. 15: Specifická povrchová mikroskulptura schránky. V prvním řádku jsou fotografie z optického mikroskopu a v druhém řádku ze skenovacího elektronového mikroskopu. Vlevo *P. incarnata*, uprostřed *P. welebitana*, vpravo *P. vicina*.



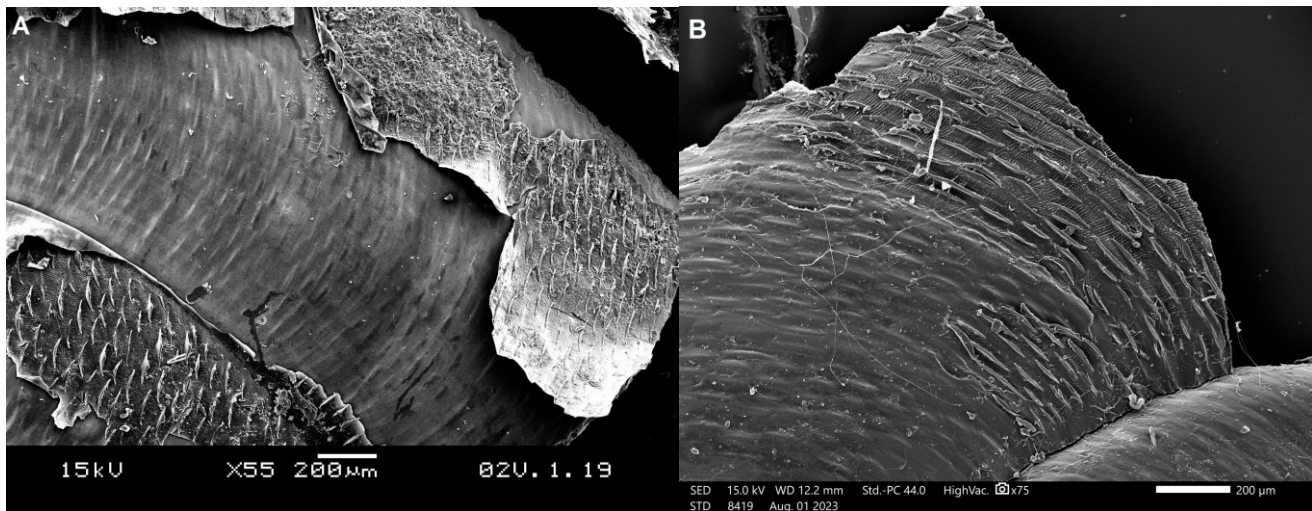
Obr. 16: Průřez povrchovým hrbolkem u dospělých jedinců *P. incarnata*, *P. welebitana* a juvenilních jedinců *P. vicina* do zachování periostraka (vlevo) a u dospělých jedinců *P. vicina* (vpravo).

Dospělí jedinci *P. incarnata* a *P. welebitana* navíc vytváří mezi hrbolky další periostrakální linie, které jsou druhově specifické (Obr. 17A–D). U *P. incarnata* (Obr. 17A a B) nedoléhají ke stěně hrbolku, kdežto u *P. welebitana* (Obr. 17C a D) jsou na stěnu hrbolku přilepené.



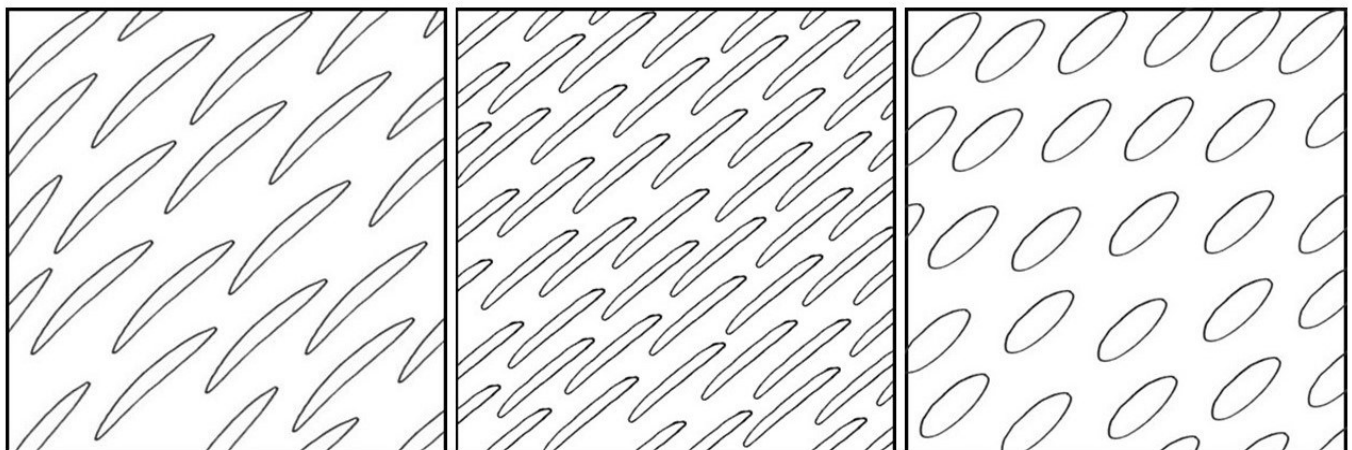
Obr. 17A–D: Rozdíly v periostrakálních strukturách vznikajících mezi hrbolky u *P. incarnata* (A a B) a *P. welebitana* (C a D).

Za povšimnutí stojí povrchová mikroskulptura u juvenilních jedinců *P. vicina* (Obr. 18B), která zůstala doposud bez povšimnutí. U čerstvých juvenilních schránek, často jen u živých mláďat a jen na posledním závitě, se zachovávají periostrakální struktury mezi hrbolky. Tato povrchová část periostraka se u *P. vicina* oloupe většinou dříve, než jedinec dospěje. Struktura juvenilních jedinců *P. vicina* je velice podobná druhu *Lozekia transsilvanica* (Westerlund, 1876) (Fehér et al. 2009), u které se ale zachovává i v dospělosti. Že podobná struktura existuje u mladých *P. vicina* nebylo známo (**Článek 1**).



Obr. 18A–B: Odlupující se periostrakum – je vidět periostrakum i ostrakum u dospělého jedince *P. incarnata* (A) a juvenilního jedince *P. vicina* (B).

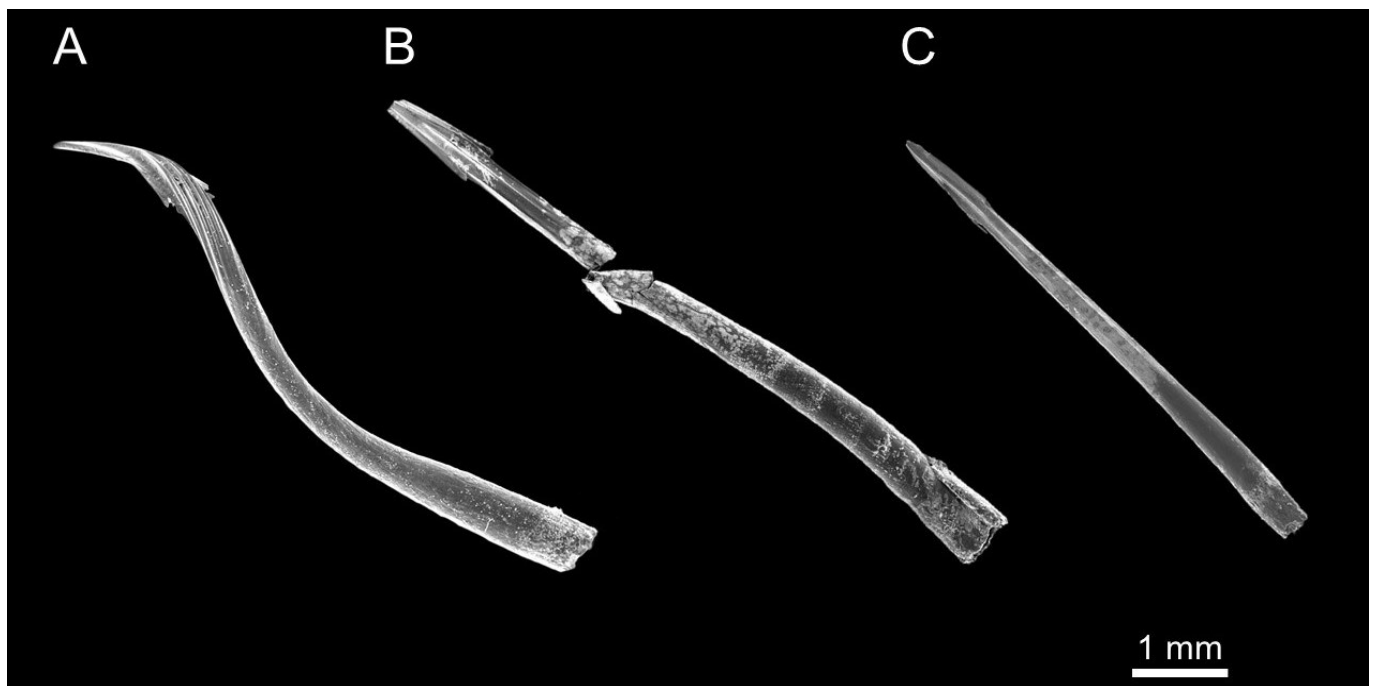
Perforatella incarnata a *P. vicina* lze často nalézt i ve fosilním materiálu na území České a Slovenské republiky (**Článek 4**). U fosilního materiálu zůstávají pouze ostrakální hrbolky, protože periostrakální vrstva často degraduje a zcela se oloupe (Obr. 18A). Díky zachování druhově specifických ostrakálních hrbolků můžeme determinovat i malý úlomek schránky. Potvrdili jsme, že *P. vicina* má zachovávanější ostrakální hrbolky širší, než *P. incarnata* (Obr. 19). Fosilní materiál pro *P. welebitana* chybí, neboť se vyskytuje pouze na území Chorvatska, odkud jeho fosilní záznamy nemáme, a proto jsme mohli pro srovnání prozkoumat pouze recentní schránky bez periostraka.



Obr. 19: Schéma hustoty ostrakálních hrbolků, vlevo u *P. incarnata*, uprostřed *P. welebitana*, vpravo *P. vicina*.

Dalším determinačním znakem je větší počet hrbolků na plochu u *P. welebitana*, než je u *P. incarnata* (Obr. 15 a 19, **Článek 1**). Tento znak lze využít i bez optického mikroskopu, protože větší počet hrbolků vytváří u *P. welebitana* matný až lehce sametový vzhled povrchu schránky. Pod optickým mikroskopem je pak větší hustota hrbolků dobře rozpoznatelná.

Naprosto spolehlivým znakem, odlišujícím *P. welebitana* od *P. incarnata*, je rozdílná morfologie šípů lásky (Obr. 20, Článek 1). Rod *Perforatella*, jako i ostatní rody z čeledi Hygromiidae (např. Koene & Schulenburg 2005), má v šípovém vaku šíp lásky. Jedná se o aragonitový šíp, který plž zapichuje před pářením do druhého jedince a stimuluje tak výměnu spermií mezi oběma jedinci. *Perforatella incarnata* má šíp spirálovitě zkroucený se dvěma čepelemi na špičce a s několika nízkými tupými podélnými záhyby mezi nimi. *Perforatella vicina* má šíp mírně zakřivený, se špičkou podobnou hrotu šípů se dvěma čepelemi a dvěma až třemi menšími dalšími čepelemi nebo záhyby na každé straně. *Perforatella welebitana* má dosti podobný šíp jako *P. vicina*, ale u *P. welebitana* bývá větší a prohnutější. *Perforatella welebitana* má mírně zakřivený šíp se špičkou podobnou šípů a se dvěma čepelemi a dvěma až třemi menšími dalšími čepelemi nebo záhyby na každé straně. Ačkoli jsou šípů lásky skryté v šípovém vaku, lze je získat snadno i v domácích podmínkách. Je zapotřebí živého jedince utopit ve vodě, následně opatrně vytáhnout tělo ze schránky a vložit jej do louhu. Veškerá tkáň se ve 4 g hydroxidu sodného rozpuštěného ve 100 ml (destilované) vody rozpustí a zůstane pouze šíp. Tvar šípů, který je rozhodující pro determinaci je vidět i pouhým okem. Šíp je velice křehký, takže je třeba dát pozor při manipulaci.



Obr. 20: Šípů lásky druhů *P. incarnata* (A), *P. welebitana* (B) a *P. vicina* (C).

3. Glaciální refugia a postglaciální kolonizace

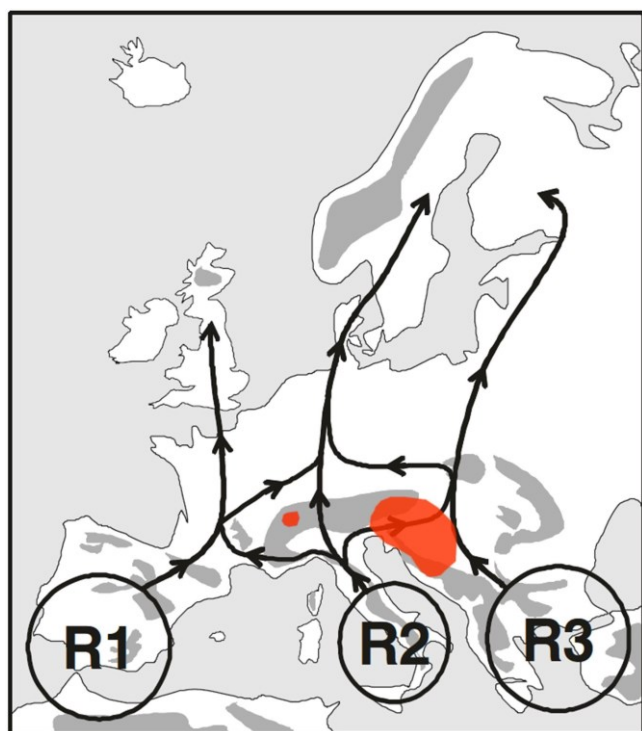
Klima, kolísající v průběhu kvartéru, tedy střídání dob ledových a meziledových během posledních 2,6 milionů let, výrazně ovlivnilo současné rozšíření druhů na severní polokouli (Hewitt 1996, Taberlet et al. 1998, Hewitt 2000, Hofreiter & Stewart 2009). Glaciální cykly a jejich dopady na biotu ukazují, že areály druhů mohou být velmi dynamické s přímým vlivem na distribuci druhové a genetické diverzity (např. Hewitt 1999). Změny v poloze a rozsahu areálů jednotlivých druhů během posledního glaciálu jsou zásadní pro chápání jejich současných hranic i dynamické povahy biodiverzity. Z hlediska současného rozšíření je zejména důležité znát, jak se měnily druhové areály během posledního glaciálu a holocénu. V průběhu několika tisíc let se přitom hranice druhových areálů posunovaly až o stovky kilometrů (Ložek 1964, Stewart et al. 2009, Horsák et al. 2016, Horsáková et al. 2024). Současné areály druhů jsou totiž často výsledkem postglaciální kolonizace z glaciálních refugií.

Refugium znamená útočiště. Útočiště, kde daný druh, skupina druhů či populace přečkali období s nepříznivými podmínkami způsobené čimkoliv a kdy zároveň došlo k razantnímu zmenšení jejich areálu. Jedná se o místo, kde podmínky prostředí nepřekročily práh tolerance daného druhu a kde druh přežívá, dokud se nezlepší podmínky v jeho původním „rozsáhlém“ areálu. Během glaciálů bylo klima chladné a suché, a to bylo důvodem vymírání druhů, které byly přizpůsobené podnebí mírného pásu a dnes reprezentují hlavní část naší flóry a fauny. Glaciální refugia jsou oblasti, které umožnily přežití flóře a fauně během dob ledových – glaciálů. Jsou to stanoviště, která poskytla populacím útočiště, neboť se jinde v krajině vyskytovat nemohly (např. Hewitt 2000, Horsák et al. 2019). Po skončení doby ledové, kdy se zlepšily okolní podmínky, byly zdrojem pro rekolonizaci původních areálů.

Glaciální refugia můžeme doložit dvěma způsoby. Tradičně se identifikace glaciálních refugií provádí paleoekologicky, pomocí nálezů fosilních organismů a jejich pozůstatků datovaných do doby nejvíce omezující přežívání druhů. Druhý způsob, jak odhalit glaciální refugia je pomocí molekulárně-genetických analýz, kdy je zpravidla v místě refugia vyšší genetická variabilita v rámci druhu.

Refugia temperátních druhů jsou předmětem studií již poměrně dlouho, u většiny temperátních druhů se ale stejně neví, kde přesně přečkaly poslední glaciál. Původně se předpokládalo, že během LGM (posledního glaciálního maxima) přibližně před 21 000 lety (Mix et al. 2001), našly teplomilné a temperátní druhy útočiště v jižní Evropě, především na Apeninském, Balkánském a Pyrenejském poloostrově (Obr. 21; Hewitt 1999), odkud se po oteplení šířily do severně položených částí areálu, směrem do střední Evropy (Hewitt 1999). Tato jižní refugia představují významný prvek ve fylogeografii Evropy, ale ještě významnější pro fylogeografii Evropy jsou dost možná severnější glaciální refugia. Existují důkazy, že některé temperátní druhy přežily poslední glaciál i ve vyšších zeměpisných šířkách, v tzv. kryptických severních refugiích (Stewart & Lister 2001). Jedná se o malá refugia temperátních druhů severně od posledně zmíněných poloostrovů v Mediteránu, obtížně detekovatelná pomocí paleoekologických metod. Mimo Mediterán jsou doložena další skrytá refugia v jižní Francii (oblast Dordogne), na severu Alp a v Karpatech (např. Stewart & Lister 2001, Kotlík et al. 2006, Sommer & Nadachowski 2006, Schmitt 2007, Bhagwat & Willis 2008, Birks & Willis 2008, Provan & Bennett 2008, Svenning et al. 2008, Stewart et al. 2010, Varga 2010, Schmitt & Varga 2012). Karpaty jsou zásadním zdrojem pro naše území a byly nejspíše nejdůležitějším kryptickým severním refugiem pro přežívání temperátních druhů a zároveň nejsevernějším

glaciálním refugiem Evropy (Sommer & Benecke 2005, Sommer & Nadachowski 2006). Další významná refugia jsou ta submediteránní, na území dnešního Chorvatska a Slovinska (např. Sommer & Nadachowski 2006; Obr. 21 a 22). Řada jiných druhů přeživala ve středoevropských (severních) refugiích (Kotlík et al. 2006, Benke et al. 2009 nebo Stewart et al. 2010). Hornaté části střední Evropy disponují vysokou stanovištní diverzitou, proto zřejmě poskytla daleko více refugií pro druhy, které přežily glaciál, a tak nemusely migrovat tak daleko na jih nebo jihovýchod Evropy.



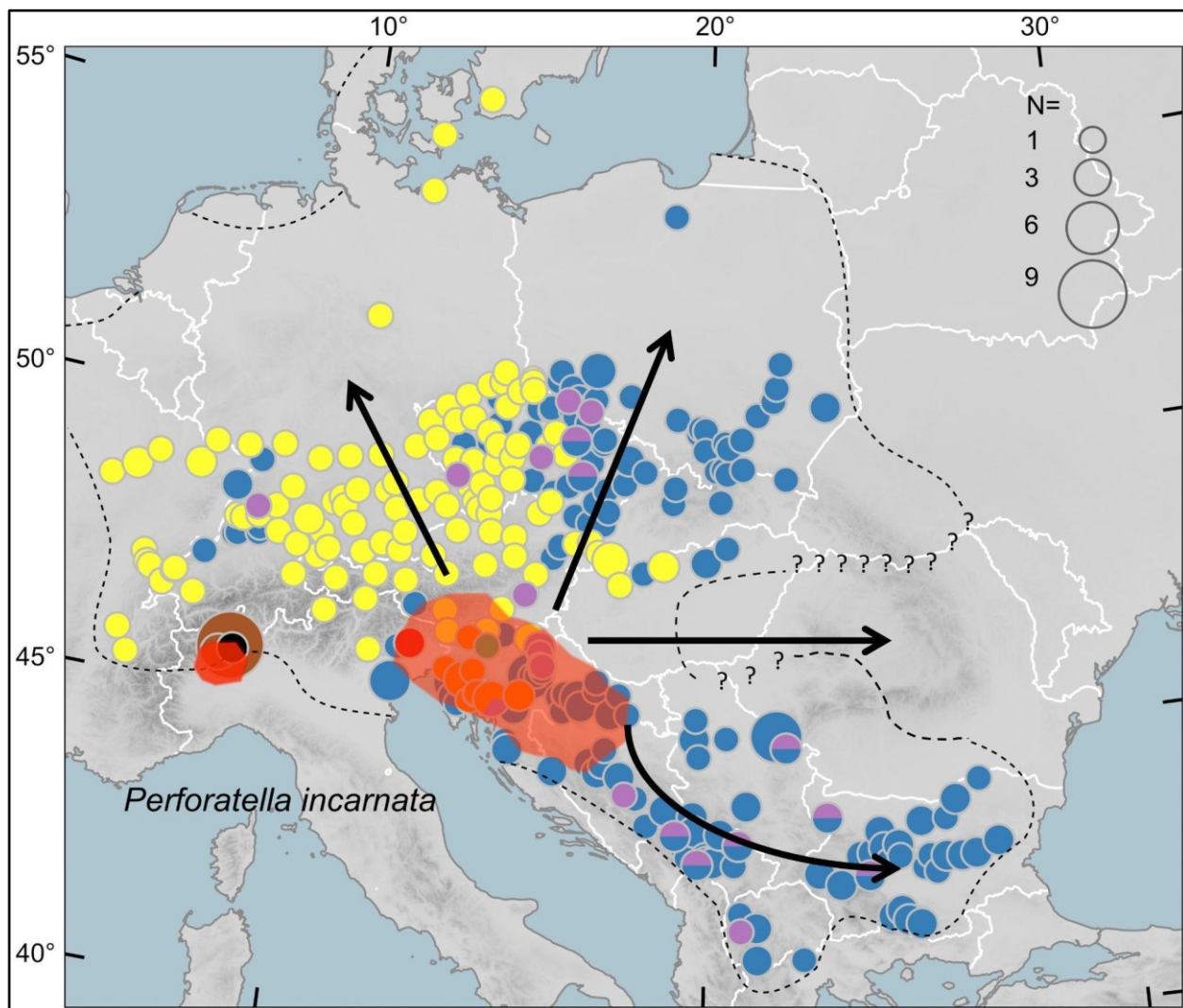
Obr. 21: Tradičně předpokládaná středomořská glaciální refugia (označeno “R”) a postglaciální změny (šipky) dle Schmitt & Varga 2012 doplněné o refugia *Perforatella incarnata* (červeně označeno).

Poloha glaciálních refugií není dobře známá u naprosté většiny běžných a široce rozšířených druhů suchozemských plžů střední Evropy. Převážná většina dosavadních fylogeografických prací přinášela poznatky týkající plžů, kteří měli těžiště svého areálu na západě Evropy (jižní a jihovýchodní Francie, Pyreneje a centrální Francie, jižní Německo) nebo v Alpách (např. Pfenninger et al. 2003, Pinceel et al. 2005, Scheel & Hausdorf 2012, Weigand et al. 2012, Grindon & Davison 2013, Harl et al. 2014, Kruckenhauser et al. 2014). Například Scheel & Hausdorf 2012, Grindon & Davison 2013, Harl et al. 2014 nebo Kruckenhauser et al. 2014 nepřímo doložili refugia druhů s omezeným rozšířením v Alpách a v jižní Francii (Pfenninger & Posada 2002), nicméně šlo o plže, kteří jsou tolerantnější ke chladu či obývají skalní biotopy. Výsledky tak nejsou dobře interpretovatelné pro lesní druhy. Mnohé práce mají geograficky omezený rozsah vzorkování. Nicméně pomocí fylogeografických studií byla pro několik druhů plžů potvrzena i refugia ve střední Evropě, v Alpách nebo v Západních Karpatech (Haase & Bisenberger 2003, Gittenberger et al. 2004, Dépraz et al. 2008, Haase & Misof 2009, Weigand et al. 2012, Haase et al. 2013, Harl et al. 2014).

Druhy se po skončení nepříznivých podmínek šířily z refugií do svých původních areálů různými směry. Tradičně se tak dělo z jihu na sever, ale i východním či západním směrem. V jednom z prvních článků, které popisovaly fylogeografický vzorek postglaciální kolonizace z jihu na sever, Taberlet et al. (1998) uvádí, že severní oblasti byly obecně kolonizovány z iberských a balkánských refugií a italské linie byly často izolovány kvůli přítomnosti alpské bariéry. Naše studie toto zásadně komplikuje. Zjistili jsme, že

glaciální refugia *P. incarnata* se nacházela v severním Chorvatsku a ve Slovinsku, další jsme objevili v severozápadní Itálii pro formu označovanou jako “*Monachoides incarnatus armatus*” (Obr. 6 a 22, **Článek 2**). *Perforatella incarnata* ale postglaciálně kolonizovala ze severněji položených refugií podél jihozápadního okraje Panonské pánve nejen střední Evropu, ale i celou jižní část svého rozsáhlého areálu. Ukázali jsme tak výjimku z obecného paradigma, kdy západní Balkán bývá pokládán za jedno z hlavních glaciálních refugií s nepřerušovanou diverzifikací. Podařilo se nám to hned u dvou suchozemských plžů (**Článek 2**). Italská forma se zubem (“*Monachoides incarnatus armatus*”) zůstala izolována v severozápadní Itálii, jižně od Alp.

Rod *Perforatella* je zjevně poměrně severním rodem, který na Balkáně chladná období nepřežíval. Z oblastí glaciálních refugií, která jsme zjistili v severozápadní Itálii a v severním Chorvatsku a Slovinsku, se druh *P. incarnata* šířil dvěma směry, jak na sever, tak i na jih, směrem na Balkán (to je částečně případ i *C. vindobonensis*) (**Článek 2**, Obr. 22). U evropských plžů je takový typ postglaciálního šíření ze severu na jih, doložený poprvé, mohou ale existovat i další příklady (např. *Cochlodina laminata* (Montagu, 1803)).



Obr. 22: Směry postglaciální kolonizace (černé šipky) z refugií v severním Chorvatsku, ve Slovinsku a v severozápadní Itálii (červeně vyznačené oblasti) u *P. incarnata*. Barevné body reprezentují genetickou diverzitu v rámci druhu *P. incarnata*, černá přerušovaná čára značí hranice areálu *P. incarnata* (podrobněji v článku **Článek 2**).

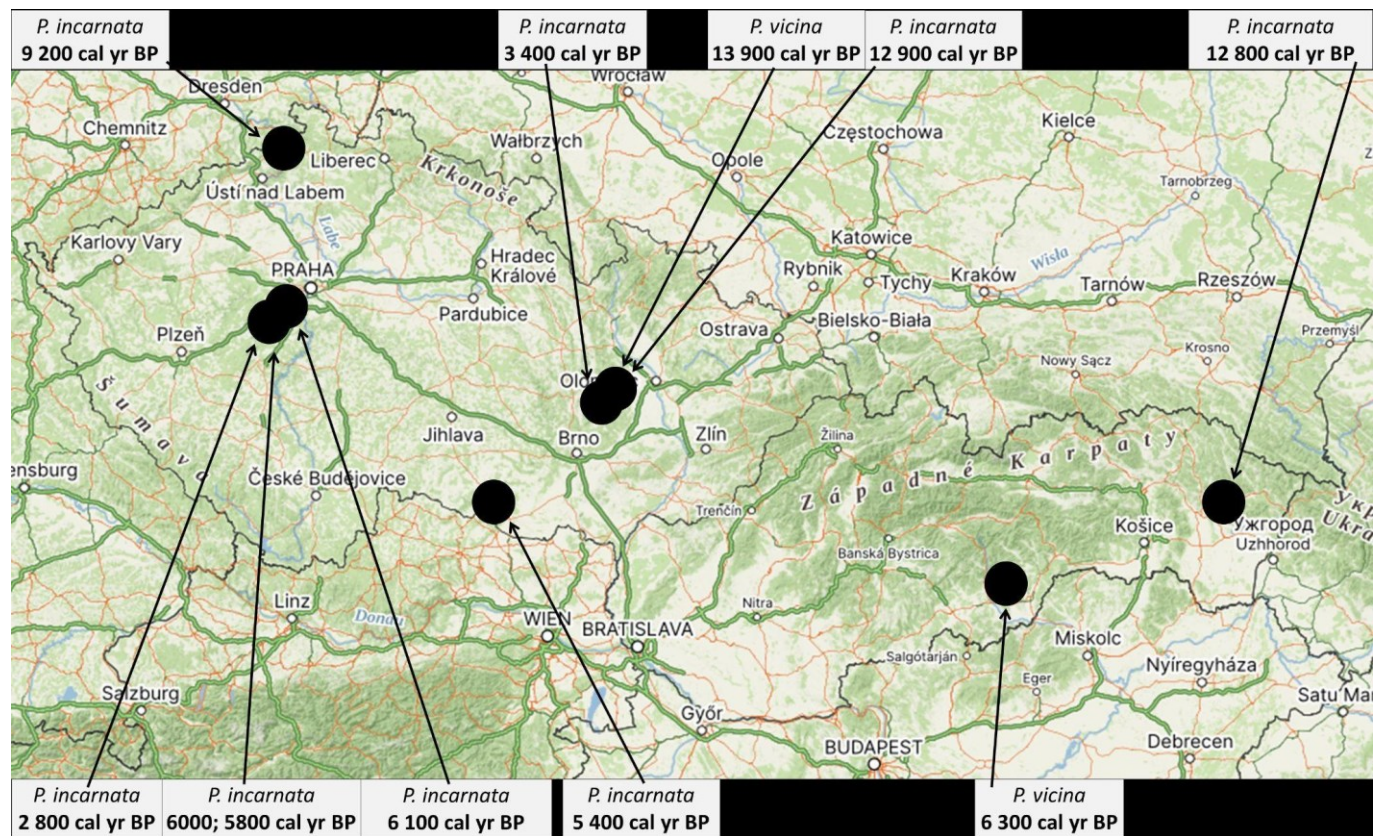
4. Fosilní doklady

V České a Slovenské republice bylo ovzorkováno a analyzováno světově unikátní množství kvartérních nalezišť (sub)fosilních suchozemských plžů, především díky Vojenu Ložkovi a Lucii Juříčkové. Jelikož největší část nalezišť pochází z období po posledním glaciálním maximu, mohou radiokarbonová data dokumentovat průběh kolonizace těchto území od posledního glaciálu po recent (Horáčková et al. 2015, Juříčková et al. 2014a).

Na území České republiky se setkávají postglaciální kolonizační vlny od západu, jihu a východu, ale i starší biogeografické celky s centrem kolem Alp na jedné a Karpat na druhé straně (Hewitt 1999). V rodě *Perforatella* (v novém pojetí) to znamená překrývající se areály středoevropské *P. incarnata* a karpatské *P. vicina*. O současných areálech výskytu obou posledně zmíněných druhů již bylo napsáno v kapitole 2.2. *Perforatella incarnata* se na území Česka nachází už v sedimentech z nejstaršího Pleistocénu a vyskytuje se dále prakticky průběžně ve všech interglaciálních sedimentech až do současnosti (Ložek 1964, Horáčková et al. in prep. a **Článek 4**). My jsme doložili jedny z nejstarších postglaciálních výskytů těchto suchozemských plžů ve střední Evropě u *P. incarnata* a *P. vicina* (Obr. 23) na území Moravského krasu z Holštejnské jeskyně. *Perforatella incarnata* a *P. vicina* jsou radiokarbonově datovány do interstadiálu Bølling–Allerød (*P. incarnata* – 12 900 před dneškem, *P. vicina* – 13 900 před dneškem) (**Článek 4**). Kromě Holštejnské jeskyně byly velmi staré nálezy posledně zmíněných druhů objeveny i v dalších pěti profilech. Profil Barová jeskyně dokládá výskyt *P. incarnata* i v období těsně před posledním glaciálním maximem (LGM). *Perforatella incarnata* se vzácně vyskytoval i v době po LGM spolu s dalšími středoevropskými lesními druhy (*Discus ruderatus* (Férussac, 1821) a *Vertigo pusilla* O. F. Müller, 1774) a vyskytoval se na území Moravského krasu i na úplném počátku holocénu (kolem 11 000 před dneškem) společně s dalšími odolnými lesními druhy (*Alinda biplicata* (Montagu, 1803), *Cochlodina laminata*, *Discus rotundatus* (O. F. Müller, 1774), *Eucobresia diaphana*, *Platyla polita*, *Semilimax kotulae* (Westerlund, 1883), *Vertigo pusilla* a *Vitrea crystallina* (O. F. Müller, 1774)). Naopak *P. vicina* se spolu s dalšími karpatskými lesními druhy (*Macrogastra borealis* (O. Boettger, 1878), *M. tumida* (Rossmässler, 1836), *Laciniaria plicata* (Draparnaud, 1801) a *Vestia turgida* (Rossmässler, 1836)) objevil ve většině profilů Moravského krasu až ve druhé polovině klimatického optima nebo později (**Článek 4**). Na území Slovenska dokládá profil Veľká Drienčanská jaskyňa výskyt *P. vicina* 6 300 před dneškem.

Pomocí fylogeografické analýzy jsme našli refugia — a díky radiokarbonově datovaným fosilním záznamům jsme zjistili, kdy se z refugií rozšířily druhy *P. incarnata* a *P. vicina* do střední Evropy. Díky kombinaci fylogenetických analýz a přímého radiokarbonového datování fosilního materiálu dokážeme dobře popsat nejen pravděpodobný směr, ale i časový průběh postglaciální kolonizace *P. incarnata*. Kombinací fosilních a genetických dat ke studiu dynamiky areálů středoevropských plžů bylo zatím využito velice výjimečně (Korábek et al. 2018) a často i neúplně (např. Harl et al. 2014). Radiokarbonové datování odhalilo, že druhy *P. incarnata*, ale i *P. vicina*, rychle zareagovaly na klimatické změny a rozšířily se do střední Evropy již na přelomu pozdního glaciálu a holocénu (**Článek 2 a 4**). Tudíž překvapivě brzy. Fosilní data je ve střední Evropě raději k brzkým kolonizátorům, bohužel fosilní data z jihu Evropy chybí. Velikou výhodou je, že na území České a Slovenské republiky můžeme využít hustou síť lokalit, kterou díky Vojenu Ložkovi máme (Horáčková & Juříčková, Czech Quaternary Mollusk Database, nepublikovaná data) a tak

se nabízí, abychom podobnou studii jako je tato provedli i na dalších družích měkkýšů. Ideální je používat běžné druhy plžů, které lze snadno najít, neboť jsou vhodné jak pro fylogeografické analýzy, tak je i větší pravděpodobnost, že budou přítomny ve fosilním záznamu.



Obr. 23: Radiokarbonově datované vzorky *P. incarnata* a *P. vicina* z území České a Slovenské republiky.

Občas se při radiokarbonovém datování setkáváme s problémy, kdy přítomnost fosilního uhlíku, tzv. mrtvého uhlíku (dead carbon), ve schránkách může nadhodnotit jejich stáří (např. Goodfriend & Stipp 1983). Tento fosilní, “mrtvý” uhlík se do schránek dostává buď příjmem potravy nebo vstřebáním rozpuštěného karbonátu pokožkou nohy (Frick 1965, Goodfriend & Stipp 1983) a následně je do schránky zabudován, čímž snižuje množství ^{14}C ve schránce oproti okolnímu prostředí (např. Rubin et al. 1963, Goodfriend & Stipp 1983). Může docházet k chybám v měření v řádech tisíců let, což snižuje přesnost získaných radiouhlíkových dat (např. Goodfriend & Stipp 1983, Quarta et al. 2007, Xu et al. 2011, Forman et al. 2021). Tyto problémy s radiokarbonovým datování je třeba řešit. V současné době se proto výzkumný tým školitelky věnuje minimalizaci zkreslení výsledků radiokarbonového datování schránek suchozemských plžů právě mrtvým uhlíkem, jelikož jen velice málo studií se doposud věnovalo faktorům, které ovlivňují zkreslení radiokarbonových dat (viz citace v tomto odstavci).

5. Ostatní druhy z nadčeledi Helicoidea

Ačkoliv je má disertační práce zaměřená zejména na rod *Monachoides*, zabývala jsem se i dalšími druhy z nadčeledi Helicoidea — *Caucasotachea vindobonensis*, *H. pomatia*, *H. thessalica* (**Článek 2**) a *Helix borealis* (**Článek 3**).

První tři jmenované druhy mají rozsáhlé překryvy areálu s *P. incarnata*, a tak nás zajímalo, jestli spolu sdílely i glaciální refugia a směry postglaciálního šíření. Hned u třech druhů ze skupiny Helicoidea — *P. incarnata*, *C. vindobonensis* a *H. pomatia* – jsme odhalili refugia nacházející se v pásu jižně od Panonské pánve, od jihovýchodních Alp až po jihozápadní Karpaty (ale ne severněji). Zjistili jsme, že *C. vindobonensis* sdílí unikátní směr postglaciální kolonizace s *P. incarnata*, směrem na jih, na Balkán. *Helix pomatia* sdílí do jisté míry také jižní směr postglaciální kolonizace, ale týká se to jen výskytů v Bulharsku, jinak je směr jeho postglaciální expanze spíše východní. Jen *H. thessalica* jižní směr postglaciální kolonizace s ostatními druhy nesdílí, jde o druh s jižním centrem diverzity a jižní části areálu byly dlouhodobě osídlené (**Článek 2**).

U suchozemských plžů se v oblastech potenciálních refugií objevují poměrně často endemické linie (např. Pinceel et al. 2005, Scheel & Hausdorf 2012, Nägele & Hausdorf 2015). Jedná se o izolované populace, které ale nelze definovat jako samostatné druhy. Vyskytují se v oblastech, kde čtvrtohorní změny klimatu neměly tak závažný dopad, aby to vedlo k vymírání místních populací. Podobně jako *H. thessalica* (Obr. 2D) má na jihovýchodě Balkánu mnoho starých endemických linií, tak na celém jihu Evropy, především pak Balkáně, existuje spousta endemických druhů a vnitrodruhových linií, protože zde diverzifikace probíhala relativně nerušeně. Tento vzorec jsme popsali u *H. borealis* (Obr. 2B, **Článek 3**) a později jsme jej objevili i v případě rodu *Xerocampylaea*.

Závěr

Disertace obsahuje celkem čtyři publikované články. **Článek 1** je ústředním článkem celé disertační práce a pojednává o revizi bývalého rodu *Monachoides*, nyní *Perforatella*. **Článek 2** je průlomovým článkem, ve kterém dokládáme unikátní postglaciální kolonizaci u druhu *P. incarnata* a dalších druhů suchozemských plžů ze skupiny Helicoidea směrem na jih. **Článek 3** je zaměřen na druh *Helix borealis*, ve kterém objasňujeme vztahy mezi druhy a formami tvořícími středomořský klád rodu *Helix*. **Článek 4**, mimo jiného, dokumentuje fosilní materiál *P. incarnata* a *P. vicina* na území České republiky.

Články uvedené v této práci přinášejí naprosto zásadní změny v pohledu na fylogenetické vztahy v rámci někdejšího rodu *Monachoides* a v pochopení směrů postglaciální kolonizace u suchozemských plžů. Prokázali jsme na vybraných zástupcích skupiny Helicoidea nečekaný směr postglaciální kolonizace ze severně položených refugií směrem na jih, na Balkán. Nalezli jsme glaciální refugia *P. incarnata* v severním Chorvatsku a ve Slovinsku, a ne na Balkáně, který je považován za jedno z hlavních středomořských glaciálních refugií. U druhů *P. incarnata* a *P. vicina* jsme doložili jedny z nejstarších postglaciálních výskytů suchozemských plžů ve střední Evropě. Zatím velmi vzácné je propojení molekulárních dat s výsledky přímého radiokarbonového datování u suchozemských plžů.

Provedené taxonomické změny v někdejším rodě *Monachoides* jsou dalšími z velkých změn systému, které v posledních zhruba deseti letech zasáhly čeled' Hygromiidae. Čeled' Hygromiidae je příkladem toho, kdy taxonomie založená především na anatomii pohlavního systému nebyla schopna popsat skutečné vztahy mezi jednotlivými druhy, které ukázala až studie genetické diverzity. Rod *Monachoides* jsme rozpustili. Tři balkánské druhy jsme přeřadili do rodu *Xerocampylaea* a jeden druh jsme synonymizovali. Genetické analýzy prokázaly úzký vztah mezi existujícími dvěma druhy rodu *Perforatella* a druhy *M. incarnatus*, *M. vicinus* a *M. welebitanus*. V důsledku toho jsou oba rody synonymizovány, přičemž přednost má *Perforatella*. A tak je rod *Monachoides* prázdný – rozpuštěný do jiných dvou rodů.

V **Článku 1** jsme upozornili na druhovou specifitu povrchové mikroskulptury schránky, která je ideálním, ale dosud jen málo využívaným determinačním znakem. Díky specifickým strukturám na povrchu ulit může determinátor rozlišovat ulity u *P. incarnata*, *P. vicina* a *P. welebitana* i pod běžnou binolupou, což je v praxi naprosto zásadní. Zmíněné druhy lze rozlišit i podle odlišného tvaru šípů lasky a většinou i podle vzhledu a tvaru ulity, ale povrchové struktury se zde ukázaly být spolehlivější, jsou uplatnitelné i pokud nejsou k dispozici živí dospělí jedinci, a lze je aplikovat i na fragmenty schránky.

Disertační práce přinesla nové dosud nezodpovězené otázky, jako například: jaké jsou vztahy v rodě *Xerocampylaea*? Jaký je význam tvorby hrbolků na povrchu schránky u druhů *P. incarnata*, *P. vicina* a *P. welebitana*? Je důvodem zadrženi vlhkosti? Co ovlivňuje západní hranici rozšíření druhu *P. incarnata*? Na taxonomické revizi rodu *Xerocampylaea* v současné době pracujeme. Zodpovězení ostatních otázek přinese otázky další, a tak se můžeme posouvat ve výzkumu dále. A o to jde.

Seznam literatury

- Balashov I. A. (2016). *Fauna Ukrainy. Tom 29, Mollyski. Vypusk 5, Stebel'chatoglazye (Stylommatophora)*. Kyiv, Naukova Dumka.
- Balashov I. A. & Gural-Sverlova N. (2012). An annotated checklist of the terrestrial molluscs of Ukraine. *Journal of Conchology*, 41, 91–109.
- Balashov I. A., Son M. O., Coadă V. & Welter-Schultes F. (2013). An updated annotated checklist of the molluscs of the Republic of Moldova. *Folia Malacologica*, 21, 175–181. <https://doi.org/10.12657/folmal.021.021>
- Bamberger S., Duda M., Tribsch A., Haring E., Sattmann H., Macek O., Affenzeller M. & Kruckenhauser L. (2020). Genome-wide nuclear data confirm two species in the Alpine endemic land snail *Noricella oreinos* sl (Gastropoda, Hygromiidae). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 58(4), 982–1004. <https://doi.org/10.1111/jzs.12362>
- Bächle M., Hübner U., Kohal R. J., Han J. S. & Wiedmann-Al-Ahmad M. (2006). Structure and in vitro cytocompatibility of the gastropod shell of *Helix pomatia*. *Tissue and Cell*, 38(5), 337–344. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2006.08.004>
- Bhagwat S. A. & Willis K. J. (2008). Species persistence in northerly glacial refugia of Europe: a matter of chance or biogeographical traits?. *Journal of Biogeography*, 35(3), 464–482. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2007.01861.x>
- Birks H. J. B. & Willis K. J. (2008). Alpines, trees, and refugia in Europe. *Plant Ecology & Diversity*, 1(2), 147–160. <https://doi.org/10.1080/17550870802349146>
- Bouchet P., Rocroi J. P., Hausdorf B., Kaim A., Kano Y., Nützel A., ... & Strong E. E. (2017). Revised classification, nomenclator and typification of gastropod and monoplacophoran families. *Malacologia*, 61(1–2), 1–526. <https://doi.org/10.4002/040.061.0201>
- Britannica.com. Climate of Europe. Online. Dostupné z: <https://www.britannica.com/place/Europe/Climate>. [citováno 2024-02-22].
- Cameron R. A., Pokryszko B. M. & Horsák M. (2010). Land snail faunas in polish forests: Patterns of richness and composition in a post-glacial landscape. *Malacologia*, 53, 77–134. <https://doi.org/10.4002/040.053.0105>
- Cossignani T. & Cossignani V. (1995). *Atlante delle conchiglie terrestri e dulciacquicole italiane*. Ancona. L'Informatore Piceno.
- De Winter A. J. & Maassen W. J. M. (1992). Two new Hygromiidae from Crna Gora and Kosovo (Gastropoda Pulmonata), with a checklist of the hygromiid species described from the Western Balkan. *Basteria*, 56(4/6), 173–192.
- Dépraz A., Cordellier M., Hausser J. & Pfenninger M. (2008). Postglacial recolonization at a snail's pace (*Trochulus villosus*): confronting competing refugia hypotheses using model selection. *Molecular Ecology*, 17(10), 2449–2462. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03760.x>
- Dvořák L. (2005). Gastropods in subterranean shelters of the Czech Republic. *Malacologica Bohemoslovaca*, 4, 10–16. <https://doi.org/10.5817/MaB2005-4-10>
- Falkner G. (1990). Binnenmollusken. In: Fechter R. & Falkner G. (Eds.), *Weichtiere. Europäische Meeres- und Binnenmollusken*. München, Mosaik Verlag, 112–280.

- Fehér Z., Varga A., Deli T. & Domokos T. (2009). Geographic distribution and genital morphology of the genera *Lozekia* Hudec, 1970 and *Kovacsia* Nordsieck, 1993 (Mollusca, Gastropoda, Hygromiidae). *Zoosystematics and Evolution*, 85(1), 151–160. <https://doi.org/10.1002/zoos.200800021>
- Forman S. L., Hockaday W., Liang P. & Ramsey A. (2021). Radiocarbon age offsets, ontogenetic effects, and potential old carbon contributions from soil organic matter for pre-bomb and modern detritivorous gastropods from central Texas, USA. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 583, 110671. <https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2021.110671>
- Frick W. (1965). Der Kalziumstoffwechsel bei *Helix pomatia* unter dem Einfluß wechselnder Kohlensäureatmosphären. *Mitteilungen aus dem Museum für Naturkunde in Berlin. Zoologisches Museum und Institut für Spezielle Zoologie (Berlin)*, 41(1), 95–120. <https://doi.org/10.1002/mmnz.19650410107>
- Gavin D. G., Fitzpatrick M. C., Gugger P. F., Heath K. D., Rodríguez-Sánchez F., Dobrowski S. Z., ... & Williams J. W. (2014). Climate refugia: joint inference from fossil records, species distribution models and phylogeography. *New Phytologist*, 204(1), 37–54. <https://doi.org/10.1111/nph.12929>
- Gärdenfors U. (1987). *Impact of airborne pollution on terrestrial invertebrates, with particular reference to molluscs*. National Swedish Environment Protection Board [Statens naturvårdsverk], Sweden, 115 pp.
- Gheoca V., Benedek A. M. & Cameron R. A. D. (2024). Geographical and environmental patterns of Carpathian land snail faunas in a region of high endemism. *Scientific Reports*, 14, 1392. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-51870-6>
- Gittenberger E., Piel W. H. & Groenenberg D. S. J. (2004). The Pleistocene glaciations and the evolutionary history of the polytypic snail species *Arianta arbustorum* (Gastropoda, Pulmonata, Helicidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 30(1), 64–73. [https://doi.org/10.1016/S1055-7903\(03\)00182-9](https://doi.org/10.1016/S1055-7903(03)00182-9)
- Goodfriend G. A. & Stipp J. J. (1983). Limestone and the problem of radiocarbon dating of land-snail shell carbonate. *Geology*, 11(10), 575–577. [https://doi.org/10.1130/0091-7613\(1983\)11<575:LATPOR>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1130/0091-7613(1983)11<575:LATPOR>2.0.CO;2)
- Grindon A. J. & Davison A. (2013). Irish *Cepaea nemoralis* land snails have a cryptic Franco-Iberian origin that is most easily explained by the movements of Mesolithic humans. *PLoS One*, 8(6), e65792. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065792>
- Grossu A. V. (1979). Eine neue Gastropoden-Art: *Monachoides bacescui* sp. n. (Helicidae, Hygromiinae). *Travaux du Muséum d'Histoire Naturelle 'Grigore Antipa'*, 20, 21–25.
- Grossu, A. V. (1983). *Gastropoda Romaniae 4: Ordo Stylommatophora; Suprafam: Arionacea, Zonitacea, Ariophantacea si Helicacea*. Editura Litera.
- Haase M. & Bisenberger A. (2003). Allozymic differentiation in the land snail *Arianta arbustorum* (Stylommatophora, Helicidae): historical inferences. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 41(3), 175–185. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0469.2003.00208.x>
- Haase M., Esch S. & Misof B. (2013). Local adaptation, refugial isolation and secondary contact of Alpine populations of the land snail *Arianta arbustorum*. *Journal of Molluscan Studies*, 79(3), 241–248. <https://doi.org/10.1093/mollus/eyt017>
- Haase M. & Misof B. (2009). Dynamic gastropods: stable shell polymorphism despite gene flow in the land snail *Arianta arbustorum*. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 47(2), 105–114. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0469.2008.00488.x>
- Harl J., Duda M., Kruckenhauser L., Sattmann H. & Haring E. (2014). In search of glacial refuges of the land snail *Orcula dolium* (Pulmonata, Orculidae)—An integrative approach using DNA sequence and fossil data. *PLoS One*, 9(5), e96012. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096012>

- Häßlein L. (1960). Weichtierfauna der Landschaften an der Pegnitz. Ein Beitrag zur Ökologie und Soziologie niederer Tiere. *Abhandlungen der Naturhistorischen Gesellschaft Nürnberg*, 29, 1–148.
- Hedegaard C. (1990). *Shell structures of the recent Archaeogastropoda* (Doctoral dissertation, University of Aarhus).
- Hedegaard C. (1997). Shell structures of the recent Vetigastropoda. *Journal of Molluscan Studies*, 63(3), 369–377. <https://doi.org/10.1093/mollus/63.3.369>
- Hesse P. (1931). Zur Anatomie und Systematik palaearktischer Stylommatophoren. *Zoologica*, 31(81), 1–11.
- Hesse P. (1934). Zur Anatomie und Systematik palearktischer Stylommatophoren. *Zoologica*, 34(85), 1–57.
- Hewitt G. M. (1996). Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society*, 58(3), 247–276. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1996.tb01434.x>
- Hewitt G. M. (1999). Post-glacial re-colonization of European biota. *Biological Journal of the Linnean Society*, 68(1–2), 87–112. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1999.tb01160.x>
- Hewitt G. M. (2000). The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, 405(6789), 907–913. <https://doi.org/10.1038/35016000>
- Hofreiter M. & Stewart J. (2009). Ecological change, range fluctuations and population dynamics during the Pleistocene. *Current Biology*, 19(14), 584–594. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.06.030>
- Horácková J., Ložek V. & Juříčková L. (2015). List of malacologically treated Holocene sites with brief review of palaeomalacological research in the Czech and Slovak Republics. *Quaternary International*, 357, 207–211. <https://doi.org/10.1016/j.quaint.2014.03.007>
- Horsák M., Juříčková L. & Picka, J. (2013). *Měkkýši České a Slovenské republiky*. Nakladatelství Kabourek. Zlín, 264 pp.
- Horsák M., Juříčková L., Škodová J. & Ložek V. (2016). *Pupilla alluvionica* Meng & Hoffmann, 2008: a land snail extant in the Altai refugium recognised for the first time in Central European Early-Middle Pleistocene glacials. *Malacologia*, 59(2), 223–230. <https://doi.org/10.4002/040.059.0203>
- Horsák M., Limondin-Lozouet N., Juříčková L., Granai S., Horácková J., Legentil C. & Ložek V. (2019). Holocene succession patterns of land snails across temperate Europe: East to west variation related to glacial refugia, climate and human impact. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 524, 13–24. <https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2019.03.028>
- Horsáková V., Divíšek J., Líznarová E., Kubíková K., Juříčková L. & Horsák M. (2024). Alpine travellers in the Carpathians: The story of two rock-dwelling snails told by genes and fossils. *Journal of Biogeography*, 00, 1–16. <https://doi.org/10.1111/jbi.14793>
- Chaki K. K., Misra K. K. & Sur R. K. (1992). The surface morphology of the shell in active and in aestivating *Achatina fulica* (Bowdich) and *Pila globosa* (Swainson). *Proceedings of the 9th International Malacological Congress*, 97–102.
- Chateigner D., Hedegaard C. & Wenk H. R. (2000). Mollusc shell microstructures and crystallographic textures. *Journal of Structural Geology*, 22(11–12), 1723–1735. [https://doi.org/10.1016/S0191-8141\(00\)00088-2](https://doi.org/10.1016/S0191-8141(00)00088-2)
- Juříčková L., Horácková J. & Ložek V. (2014a). Direct evidence of central European forest refugia during the last glacial period based on mollusc fossils. *Quaternary Research*, 82(1), 222–228. <https://doi.org/10.1016/j.yqres.2014.01.015>

- Juříčková L., Horsák M., Horáčková J., Abraham V. & Ložek V. (2014b). Patterns of land-snail succession in Central Europe over the last 15,000 years: main changes along environmental, spatial and temporal gradients. *Quaternary Science Reviews*, 93, 155–166. <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2014.03.019>
- Kerney M. P., Cameron R. A. D & Jungbluth J. H. (1983). *Die Landschnecken Nord-und Mitteleuropas: Ein Bestimmungsbuch für Biologen und Naturfreunde*. Verlag Paul Parey. Hamburg und Berlin (Germany), 384 pp.
- Koene J. M. & Schulenburg H. (2005). Shooting darts: co-evolution and counter-adaptation in hermaphroditic snails. *BMC Evolutionary Biology*, 5(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-5-25>
- Korábek O., Juříčková L. & Petrusek A. (2016). Splitting the Roman snail *Helix pomatia* Linnaeus, 1758 (Stylommatophora: Helicidae) into two: redescription of the forgotten *Helix thessalica* Boettger, 1886. *Journal of Molluscan Studies*, 82(1), 11–22. <https://doi.org/10.1093/mollus/eyv048>
- Korábek O., Petrusek A. & Juříčková L. (2018). Glacial refugia and postglacial spread of an iconic large European land snail, *Helix pomatia* (Pulmonata: Helicidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 123(1), 218–234. <https://doi.org/10.1093/biolinnean/blx135>
- Korábek O., Petrusek A. & Rovatsos M. (2019). The complete mitogenome of *Helix pomatia* and the basal phylogeny of Helicinae (Gastropoda, Stylommatophora, Helicidae). *ZooKeys*, 827, 19. <https://doi.org/10.3897/zookeys.827.33057>
- Kotlík P., Deffontaine V., Mascheretti S., Zima J., Michaux J. R. & Searle J. B. (2006). A northern glacial refugium for bank voles (*Clethrionomys glareolus*). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(40), 14860–14864. <https://doi.org/10.1073/pnas.0603237103>
- Kruckenhauser L., Duda M., Bartel D., Sattmann H., Harl J., Kirchner S. & Haring E. (2014). Paraphyly and budding speciation in the hairy snail (Pulmonata, Hygromiidae). *Zoologica Scripta*, 43(3), 273–288. <https://doi.org/10.1111/zsc.12046>
- Ligaszewski M., Surówka K. & Stekla J. (2009). The shell features of *Cornu aspersum* (synonym *Helix aspersa*) and *Helix pomatia*: Characteristics and comparison. *American Malacological Bulletin*, 27(1/2), 173–181. <https://doi.org/10.4003/006.027.0215>
- Ložek V. (1964). Quartärmollusken der Tschechoslowakei. *Rozpravy Ústředního ústavu geologického*, 31, 1–374, pl. 1–32.
- Man N. S., Siriboon T., Lin A., Sutharit C. & Panha S. (2022). Revision of the carnivorous land snail family Streptaxidae (Stylommatophora, Achatinina) in Myanmar, with description of four new species. *ZooKeys*, 1110, 39. <https://doi.org/10.3897/zookeys.1110.85399>
- Mix A. C., Bard E. & Schneider R. (2001). Environmental processes of the ice age: land, oceans, glaciers (EPILOG). *Quaternary Science Reviews*, 20(4), 627–657. [https://doi.org/10.1016/S0277-3791\(00\)00145-1](https://doi.org/10.1016/S0277-3791(00)00145-1)
- Moquin-Tandon A. (1855). *Histoire naturelle des mollusques terrestres et fluviatiles de France*. In: Baillière, J.B. (Ed.), vol. I, Paris.
- Nägele K. L. & Hausdorf B. (2015). Comparative phylogeography of land snail species in mountain refugia in the European Southern Alps. *Journal of Biogeography*, 42(5), 821–832. <https://doi.org/10.1111/jbi.12477>
- Neiber M. T. (2019). On the phylogenetic relationships of *Elbasania* Schileyko et Fehér, 2017 (Pulmonata, Helicoidea, Hygromiidae). *Ruthenica, Russian Malacological Journal*, 29(2).
- Neiber M. T. & Hausdorf B. (2017a). Molecular phylogeny and biogeography of the land snail genus *Monacha* (Gastropoda, Hygromiidae). *Zoologica Scripta*, 46(3), 308–321. <https://doi.org/10.1111/zsc.12218>

- Neiber M. T., Razkin O. & Hausdorf B. (2017b). Molecular phylogeny and biogeography of the land snail family Hygromiidae (Gastropoda: Helicoidea). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 111, 169–184. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2017.04.002>
- Neiber M. T., Walther F. & Hausdorf B. (2018). Phylogeny and reclassification of the Caucasicenini radiation from the Caucasus region (Gastropoda, Hygromiidae). *Zoologica Scripta*, 47(1), 54–62. <https://doi.org/10.1111/zsc.12259>
- Nordsieck H. (1987). Revision des Systems der Helicoidea (Gastropoda: Stylommatophora). *Archiv für Molluskenkunde der Senckenbergischen Naturforschenden Gesellschaft*, 1178(1–3), 9–50.
- Nordsieck H. (1993). Das System der paläarktischen Hygromiidae (Gastropoda: Stylommatophora: Helicoidea). *Archiv für Molluskenkunde*, 122, 1–23. <https://doi.org/10.1127/arch.moll/122/1993/1>
- Pfenninger M. & Posada D. (2002). Phylogeographic history of the land snail *Candidula unifasciata* (Helicellinae, Stylommatophora): fragmentation, corridor migration, and secondary contact. *Evolution*, 56(9), 1776–1788. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2002.tb00191.x>
- Pfenninger M., Posada D. & Magnin F. (2003). Evidence for survival of Pleistocene climatic changes in Northern refugia by the land snail *Trochoidea geyeri* (Soós 1926) (Helicellinae, Stylommatophora). *BMC evolutionary biology*, 3(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-3-8>
- Pieńkowska J. R., Manganelli G., Proćków M., Gürelli G., Kosicka E., Giusti F. & Lesicki A. (2022). *Monacha samsunensis* (Pfeiffer, 1868): another Anatolian species introduced to Western Europe, where it is known as *Monacha atacis* Gittenberger & de Winter, 1985 (Gastropoda: Eupulmonata: Hygromiidae). *The European Zoological Journal*, 89(1), 966–990. <https://doi.org/10.1080/24750263.2022.2100932>
- Pilsbry H. A. (1893-1895). *Manual of conchology, structural and systematic, with illustrations of the species*, 9(2). Helicidae, vol. VII. In: Guide to the study of Helices. Academy of Natural Sciences, Conchological Section, Philadelphia, 1–225.
- Pinceel J. A. N., Jordaens K., Pfenninger M. & Backeljau T. (2005). Rangewide phylogeography of a terrestrial slug in Europe: evidence for Alpine refugia and rapid colonization after the Pleistocene glaciations. *Molecular Ecology*, 14(4), 1133–1150. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02479.x>
- Pintér L. & Suara R. (2004). *Magyarországi puhatestűek katalógusa: hazai malakológusok gyűjtései alapján*. Magyar Természettudományi Múzeum, 547 pp.
- Poliński W. (1924). Anatomisch-systematische und zoogeographische Studien über die Heliciden Polens. *Bulletin International de l'Académie Polonaise des Sciences et des Lettres, Classe des Sciences Mathématiques et Naturelles, Série B: Sciences Naturelles*, 2, 131–279.
- Proćków M., Duda M., Kruckenhauser L., Maassen W. J., de Winter A. J. & Mackiewicz P. (2019). Redescription of the western Balkan species *Xerocampylaea waldemari* and its phylogenetic relationships to other Urticicolini (Gastropoda: Hygromiidae). *Systematics and Biodiversity*, 17(4), 367–384. <https://doi.org/10.1080/14772000.2019.1617365>
- Proćków M., Mackiewicz P. & Pieńkowska J. R. (2013). Genetic and morphological studies of species status for poorly known endemic *Trochulus phorochaetius* (Bourguignat, 1864) (Gastropoda: Pulmonata: Hygromiidae), and its comparison with closely related taxa. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 169(1), 124–143. <https://doi.org/10.1111/zoj.12048>
- Provan J. & Bennett K. D. (2008). Phylogeographic insights into cryptic glacial refugia. *Trends in ecology & evolution*, 23(10), 564–571. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2008.06.010>
- Puente A. I. (1994). *Estudio taxonómico y biogeográfico de la superfamilia Helicoidea Rafinesque, 1815 (Gastropoda: Pulmonata: Stylommatophora) de la Península Ibérica e Islas Baleares*. Thesis Dissertation. University of the Basque Country, Spain.

- Quarta G., Romaniello L., D'Elia M., Mastronuzzi G. & Calcagnile L. (2007). Radiocarbon age anomalies in pre-and post-bomb land snails from the coastal Mediterranean basin. *Radiocarbon*, 49(2), 817–826. <https://doi.org/10.1017/S0033822200042697>
- Razkin O., Gómez-Moliner B. J., Prieto C. E., Martínez-Ortí A., Arrébola J. R., Muñoz, B., Chueca L. J. & Madeira M. J. (2015). Molecular phylogeny of the western Palearctic Helicoidea (Gastropoda, Stylommatophora). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 83, 99–117. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2014.11.014>
- Riedel A. (1988). *Ślimaki lądowe (Gastropoda terrestria). Katalog Fauny Polski Cz. (XXXVI, t. 1)*. Warszawa, Państwowe wydawnictwo naukowe.
- Rubin M., Likins R. C. & Berry E. G. (1963). On the validity of radiocarbon dates from snail shells. *The Journal of Geology*, 71(1), 84–89. <https://doi.org/10.1086/626878>
- Taberlet P., Fumagalli L., Wust-Saucy A. G. & Cosson J. F. (1998). Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe. *Molecular ecology*, 7(4), 453–464. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.1998.00289.x>
- Taylor J. D. & Reid D. G. (1990). Shell microstructure and mineralogy of the Littorinidae: ecological and evolutionary significance. In *Progress in Littorinid and Muricid Biology: Proceedings of the Second European Meeting on Littorinid Biology, Tjärnö Marine Biological Laboratory, Sweden, July 4–8, 1988*. Springer Netherlands, 199–215. https://doi.org/10.1007/978-94-009-0563-4_16
- Scheel B. M. & Hausdorf B. (2012). Survival and differentiation of subspecies of the land snail *Charpentieria itala* in mountain refuges in the Southern Alps. *Molecular Ecology*, 21(15), 3794–3808. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05649.x>
- Schileyko A. A. (1970). Ob'em, sistema i filogeniya gruppy *Perforatella–Zenobiella–Chilanodon* [Scope, system and phylogeny of *Perforatella–Zenobiella–Chilanodon* group (Pulmonata, Helicidae)]. *Zoologicheskii Zhurnal*, 49, 1306–1321. [Original: Шилейко А. А. (1970). Объем, система и филогения группы *Perforatella–Zenobiella–Chilanodon* (Pulmonata, Helicidae). Зоологический журнал, 49, 1306–1321]
- Schileyko A. A. (1972a). Taksonomicheskaya i geograficheskaya struktura triby Hygromiini Schileyko (Pulmonata, Helicidae) [Taxonomic and geographical structure of the tribe Hygromiini Schileyko (Pulmonata, Helicidae)]. *Zoologicheskii Zhurnal*, 51, 1129–1141. [Original: Шилейко А. А. (1972a). Таксономическая и географическая структура трибы Hygromiini. Schileyko (Pulmonata, Helicidae). *Zoologicheskii Zhurnal*, 51, 1129–1141.]
- Schileyko A. A. (1972b). Nekotorye aspekty izucheniya sovremennykh kontinental'nykh bryukhonogikh molluyuskov. [Some aspects of the study of recent continental gastropod molluscs]. In: Poznanin L. P. (Ed.). *Itogi nauki i tekhniki. Zoologiya bespozvonochnykh. Vol. 1, Nazemnye i presnovodnye mollyuski*. Moskva: Akademiya Nauk SSSR, 1, 7–188.
- Schileyko A. A. (1978). Nazemnye mollyuski hadsemeyctva Helicoidea [Terrestrial molluscs of the superfamily Helicoidea]. In: Skarlato, O. A. (Ed.). *Fauna SSSR, Mollyuski*, Tom III, vyp. 6, 384 pp.
- Schileyko A. A. (1991). Taxonomic status, phylogenetic relations and system of the Helicoidea sensu lato (Pulmonata). *Archiv für Molluskenkunde*, 120, 187–236. <https://doi.org/10.1127/arch.moll/120/1991/187>
- Schileyko A. A. (2006). Treatise on recent terrestrial pulmonate molluscs. Part 14. Helicodontidae, Ciliellidae, Hygromiidae. *Ruthenica, Russian Malacological Journal*. Supplement, 2, 1907–2047.
- Schmitt T. (2007). Molecular biogeography of Europe: Pleistocene cycles and postglacial trends. *Frontiers in zoology*, 4, 1–13. <https://doi.org/10.1186/1742-9994-4-11>
- Schmitt T. & Varga Z. (2012). Extra-Mediterranean refugia: the rule and not the exception?. *Frontiers in zoology*, 9, 1–12. <https://doi.org/10.1186/1742-9994-9-22>

- Sommer R. S. & Nadachowski A. (2006). Glacial refugia of mammals in Europe: evidence from fossil records. *Mammal Review*, 36(4), 251–265. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2907.2006.00093.x>
- Sommer R. S. & Benecke N. (2005). The recolonization of Europe by brown bears *Ursus arctos* Linnaeus, 1758 after the Last Glacial Maximum. *Mammal Review*, 35(2), 156–164. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2907.2005.00063.x>
- Soós L. (1943). A Kárpát-medence Mollusca-faunája. In *Magyarország természetrajza, I. Állattani rész.* Budapest, Magyar Tudományos Akadémia.
- Stewart J. R. & Lister A. M. (2001). Cryptic northern refugia and the origins of the modern biota. *Trends in Ecology & Evolution*, 16(11), 608–613. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(01\)02338-2](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(01)02338-2)
- Stewart J. R., Lister A. M., Barnes I. & Dalén L. (2010). Refugia revisited: individualistic responses of species in space and time. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 277(1682), 661–671. <https://doi.org/10.1098/rspb.2009.1272>
- Svenning J. C., Normand S. & Kageyama M. (2008). Glacial refugia of temperate trees in Europe: insights from species distribution modelling. *Journal of Ecology*, 96(6), 1117–1127. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2008.01422.x>
- Varga Z. (2009). Extra-Mediterranean refugia, post-glacial vegetation history and area dynamics in Eastern Central Europe. In *Relict species: phylogeography and conservation biology.* Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 57–87. https://doi.org/10.1007/978-3-540-92160-8_3
- Weigand A. M., Pfenninger M., Jochum A. & Klussmann-Kolb A. (2012). Alpine crossroads or origin of genetic diversity? Comparative phylogeography of two sympatric microgastropod species. *PLoS One*, 7(5), e37089. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037089>
- Welter-Schultes F. W. (2012). *European non-marine molluscs, a guide for species identification: Bestimmungsbuch für europäische Land-und Süßwassermollusken.* Planet Poster Editions, 679 pp.
- Wiktor A. (2004). *Ślimaki lądowe Polski.* Olsztyn, Mantis, 302 pp.
- Xu B., Han J., Hao Q., Lu Y., Wang L., Wu N. & Peng Y. (2011). Radiocarbon age anomalies of land snail shells in the Chinese Loess Plateau. *Quaternary Geochronology*, 6(3–4), 383–389. <https://doi.org/10.1016/j.quageo.2011.03.009>
- Zilch A. (1960). Gastropoda Teil 2. Euthyneura. *Handbuch der Paläozoologie*, 6, 520–543.
- Zilch A. (1967). Geschichte der malakologischen Sektion. *Archiv für Molluskenkunde*, 97, 7–43.