

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Botanika



Bc. Klára Kabátová

Kritické zhodnocení hybridizace mezi středoevropskými zástupci rodu *Nymphaea* pomocí
cytometrických a morfometrických metod

An assessment of interspecific hybridization between Central-European taxa from the genus
Nymphaea: insights from flow cytometry and multivariate morphometrics

Diplomová práce

Školitel: doc. RNDr. Jan Suda, Ph.D.

Praha, 2012

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 27. 8. 2012



Poděkování

Ráda bych vyjádřila dík lidem, bez nichž by tato práce nemohla vzniknout, tedy především svému školiteli Honzovi, kterému se vnuklo takto zajímavé téma, do kterého mne ochotně zapojil a rozvíjel, podle jeho terminologie, mou afinitu k vodě, ale také k samostatné práci a střízlivému úsudku, ikdyž v tomto ohledu zůstanu zřejmě na vždy školákem.

Speciální dík patří Petru Vítovi, který mne nesčetněkrát doprovázel na toulkách mokřady, řekami, jezery, rybníky a laboratoří. Děkuji mu především za velkou trpělivost a ještě větší ochotu.

Panu doktoru Hříbalovi dlužím poděkování za otevřené dveře jeho zahrady a za to, že se drží.

Abstrakt

Přestože rod *Nymphaea* (leknín) zahrnuje ve střední Evropě pouze dva původní druhy (*N. alba* a alopolyloidní *N. candida*), představuje velkou výzvu moderní taxonomii a biosystematice. Určování těchto druhů je totiž vzhledem k celkové fenotypové podobnosti obtížné, navíc jsou možná hranice druhů stírány i mezidruhovou hybridizací. Situaci ještě dále komplikují nepůvodní kultivary nejružnějšího původu, které zplaňují na přírodních stanovištích (ať už omylem či jsou přímo vysazovány) a interagují zde s původními druhy.

Pro zmapování karyologické a fenotypové variability byla použita průtoková cytometrie a klasická i geometrická morfometrika. Sběry z přírodních lokalit odhalily přítomnost dvou skupin s odlišnými intenzitami fluorescence, odpovídajících *N. alba* a *N. candida*. Navíc byly na několika místech v jižních Čechách nalezeny rostliny s intermediární hodnotou velikosti genomu, která poukazuje na jejich hybridní původ. Morfologicky měly tyto rostliny jak znaky na pomezí morfologie původních druhů, tak vlastní trendy, mezi nimiž byl nejnápadnější abnormální vzrůst.

Překvapivě bylo zjištěno, že naprostou většinu kulturních leknínů lze rozpoznat díky nízkému obsahu DNA, což ještě více potvrdilo taxonomický význam tohoto markeru. Takto cytometricky ověřeni jedinci byli podrobeni mnohorozměrné morfometrické analýze, která ukázala vysokou morfologickou diferenciaci především mezi původními druhy, avšak komplikovanější se zdá odlišení některých kultivarů od druhu *N. alba*.

Podarilo se najít optimální kombinace znaků k druhovému určení, mezi nimiž se významně uplatnil i nově pozorovaný znak, zahnutí prašníků. Jistá diferenciacie byla pozorována i na pylových zrnech, která kromě toho poskytla doklad jen slabě snížené fertility hybridů, zato významně nízkou fertilitu pylu pěstovaných kultivarů. Přesto se zdá, že mezidruhová hybridizace původních druhů nemá téměř dopad na jejich genetickou celistvost, zato nepůvodní odrůdy představují jisté riziko vzhledem ke zjevné kompetiční zdatnosti a častým záměnám s původním druhem.

Klíčová slova: průtoková cytometrie, velikost genomu, hybridizace, morfometrika, *Nymphaea*

Abstract

Although the genus *Nymphaea* (waterlily) includes only two native species (*N. alba* and allopolyploid *N. candida*) in Central Europe, it poses a great challenge to taxonomy and biosystematics. The determination of both species is hampered by their phenotypic similarities, and species boundaries can be further blurred by interspecific hybridization. In addition, ornamental cultivars of different parentage that often escape (either accidentally or intentionally) from cultivation and can cross with the native ones make the situation even more complex.

To get insight into the caryological and phenotypic variability of czech waterlilies, we used DNA flow cytometry and both distance-based and geometric morphometrics. Collections from natural sites showed two different groups of fluorescence intensities, corresponding to *N. alba* and *N. candida*, respectively. In addition, intermediate values of nuclear DNA amount were found in some plants from South Bohemia, indicating their hybrid origin. Morphologically, these plants were partly intermediate between the native species, partly having their separate tendency to oversized growth.

Surprisingly, ornamental cultivars (obtained either from commercial stocks or as escapes from the field) possessed the smallest genome sizes. The amount of nuclear DNA therefore seems to be a promising species-specific marker that enables not only native species but also cultivars to be distinguished. Cytometrically-proven individuals have been subjected to multivariate morphometrics, and high differentiation was discovered especially between native species. More complicated seems the distinction between cultivars and *N. alba*.

The research have finally found species-, hybrid-, and cultivar-specific characters combinations, where the new character, anther curvature, was used. Some differentiation was observed also on pollen grains, which have apart of it documented only slightly decreased fertility in hybrids, but significantly decreased pollen fertility in cultivars. Nevertheless, the natural hybridization seems to have a little effect on genetic integrity of native species, escaped ornamental cultivars likely represent a more serious thread due to their obvious competitive abilities and frequent confusions with the native taxa.

Keywords: flow cytometry, genome size, hybridization, morphometrics, *Nymphaea*

Obsah

Abstrakt	3
Abstract.....	4
1 Úvod	7
2 Charakteristika rodu <i>Nymphaea</i>	10
2.1 Druhové zastoupení v Evropě.....	13
<i>Nymphaea tetragona</i> Georgi – leknín čínský, někdy též l. čtverhranný, l. severský	17
<i>Nymphaea alba</i> L. – leknín bílý.....	18
<i>Nymphaea candida</i> C. PRESL – leknín bělostný	22
2.2 Ohrožení a druhová ochrana.....	28
2.3 Šlechtění leknínů: křížení a umělý výběr	29
2.4 Hybridizace a polyploidie.....	31
3 Materiál a metody	36
3.1 Sběry	36
3.2 Zpracování materiálu	37
3.3 Průtoková cytometrie	38
3.4 Morfometrika.....	40
3.4.1 Geometrická morfometrika.....	41
3.4.2 Klasická morfometrika	46
4 Výsledky	50
4.1 Revize výskytu.....	50
4.2 Průtoková cytometrie	51
4.3 Morfometrika.....	53
4.3.1 Geometrická morfometrika.....	53
4.3.2 Klasická morfometrika	59
4.3.2.4 Shrnutí měřených znaků	66
4.3.2.5 Postupná diskriminace taxonomických skupin	68
Heterozní efekt u hybridů.....	71
4.3.2.6 Dichotomický klíč	74
4.3.2.6.1 Klíč pro nekvetoucí rostliny	74
4.3.2.6.2 Klíč pro kvetoucí rostliny.....	75
4.3.3 Pyl	77
5 Diskuze	79
5.1 Variabilita velikosti genomu a doklady hybridizace.....	79
5.2 Morfologie.....	80

5.2.1	Nekvetoucí rostliny	80
5.2.2	Kvetoucí rostliny	82
5.3	Vlastnosti hybridů	85
5.4	Pylová morfologie a fertilita	87
5.5	Revize výskytu karyologicky ověřených morfotypů.....	88
6	Závěr	88
7	Literatura	90
8	Příloha	94

1 Úvod

Nymphaea L. (leknín) představuje jeden z nejnápadnějších a nejpozoruhodnějších rodů naší květeny. Jeho význam se však projevuje teprve v širším měřítku, jedná se totiž o téměř celosvětově rozšířený taxon s centrem diverzity v tropech, kde se nachází také největší množství rozmanitých morfotypů. Z čeledi leknínovitých (*Nymphaeaceae*) je leknín nejbohatším rodem, zahrnujícím – v závislosti na pojetí – okolo 47 druhů s mnoha poddruhy, varietami a chromozomovými rasami (Gupta 1980, Les et al. 1999, Löhne et al. 2007). Vedle něho se řadí rod *Nuphar* Sm. (stulík), východoasijské rody *Barclaya* Wall. a *Euryale* Salisb., neotropická *Victoria* Lindl. a australská *Ondinea* Hartog. V rodě *Nymphaea* bylo zejména na základě morfologie květů a semen rozlišeno 5 podrodů (Caspary 1865 in Conard 1905), vyznačujících se rovněž geografickými vazbami. Patří sem australský podrod *N.* subg. *Anecphyia* Casp., neotropický noční *N.* subg. *Hydrocallis* (Planch.) Conard, paleotropická noční *N.* subg. *Lotos* DC, pantropická *N.* subg. *Brachyceras* Caspary a severní temperátní *N.* subg. *Nymphaea* (Conard 1905).

Z nedávných molekulárních studií vyplývá, že rod *Nymphaea* je parafyletický, a nově se členění do tří větví. Dvě z nich mají vazby s dalšími rody (Borsch et al. 2007, Löhne et al. 2007). Větev spojující tropické noční podrody *N.* subg. *Hydrocallis* a *Lotos* se jeví jako sesterská k rodům *Victoria* a *Euryale* (také Borsch et al. 2008) a větev *N.* subg. *Anecphyia* a *Brachyceras* tvoří morfologicky i geneticky jednu linii se členy australského endemického rodu *Ondinea*. Samotný temperátní podrod *N.* subg. *Nymphaea* se oddělil jako první, je tedy sesterský ostatním leknínům a jako monofylum obstál, nicméně jeho vnitřní vztahy na druhové úrovni zůstávají komplikované.

Tito reprezentanti primitivních krytosemenných linií, nesoucí bohaté květy se znaky původnosti, byli v posledních desetiletích zejména předmětem širších fylogenetických studií pátrajících po historii vývoje krytosemennosti a dalších vztazích: řád *Nymphaeales* byl dokonce jednou dobu pokládán za bazální součást jednoděložných (Arber 1920), tato domněnka byla ale záhy zamítnuta (Goremykin & Hellwig 2006) a leknínovité rostliny byly jednoznačně umístěny na bázi krytosemenného stromu společně s novokaledonskými *Amborellales*.

Vývoj této skupiny vodních makrofyt, vázaných převážně na hlubší stojaté vody, je však pozoruhodný sám o sobě, neboť je silně ovlivněn charakterem prostředí a řadou mikroevolučních fenoménů. Vodní prostředí zmírňuje klimatické výkyvy a teplotní rozdíly v různých zeměpisných šířkách a vede k vývojovým konvergencím včetně různých zjednodušení tělní stavby (např. sekundární absence vodivých a podpůrných pletiv; Löhne et al. 2007). Jako ostatní vodní rostliny, projevují se i lekníny vysokou fenotypovou plasticitou, která, zvláště u podrodu *Nymphaea* subg. *Nymphaea*, sdílejícího bílé květy a celokrajné listy, velmi znesnadňuje taxonomickou orientaci a stává se, že je mezi sympatrickými druhy pozorováno morfologické kontinuum (např. Ejankowski & Małysz 2011).

Extrémním příkladem fenotypové plasticity je dokonce tvorba suchozemské formy. Některé druhy, ocitnou-li se snížením hladiny na suchu, vytvoří malé krátce řapíkaté listy, přizpůsobené životu na suchu, jak u nás zdokumentovali např. Podubský a Štědranský (1954). Tato forma je schopná vegetovat celé léto bez ponoření (Arber, 1920). U pozemních forem leknínů se projevuje heterofylie (různolistost), tolik typická pro vodní makrofyta (Hříbal, 1985).

Kvůli možné spojitosti fenotypu s úživností prostředí a hydrologickými podmínkami byl diskutován taxonomický význam velikosti rostlinných orgánů (Heslop-Harrison 1955). Bylo totiž sledováno, že většina leknínů narůstá mohutnější v zásaditých eutrofních vodách, ve vodách kyselých oligotrofních jsou menší a při nedostatku dusíku jsou vyloženě zakrslé. Ačkoli množství živin vzrůst ovlivňuje, není jediným určujícím faktorem. Velikost rovněž závisí na druhové příslušnosti a důležité je i stáří rostliny (Muntendam & al. 1996, Volkova & Shipunov 2007).

Voda slouží v případě leknínů jako účinný prostředek šíření diaspor – úlomků oddenku nebo semen. Pro vodní rostliny jsou charakteristické velmi široké areály, často s mezikontinentálními disjunkcemi, za kterými nestojí pouze kontinentální drift, ale jako reálné vysvětlení se jeví i šíření ptactvem na dlouhé vzdálenosti (Les et al. 2003). Vodní ptactvo přenáší semena mezi vodními tělesy

běžně. Výsledné areály druhů jsou až na výjimky rozsáhlé, v rámci kontinentů a jejich vodních sítí spojitě, a často dochází k jejich překryvu. Jeden z nejvýraznějších znaků evoluce rodu *Nymphaea* je slabý vývoj reprodukčně-izolačních mechanismů odpovědný za značný sklon k přírodní i umělé hybridizaci. Proto lze v těchto zónách překryvu nezdědka pozorovat vznik hybridních jedinců, populací i celých hybridogenních taxonů.

Hybridizace je významný mikroevoluční proces, který hraje zásadní roli v evoluci celého rodu. Na jedné straně je prostředkem speciace, vytváří novou variabilitu a má na svědomí široké druhové bohatství. Na straně druhé rozměšňuje genofondy etablovaných druhů a může vést až k jejich zániku. Hybridní jedinci často nejsou plodní kvůli problémům s meiotickým párováním nestejných rodičovských sádek, což může vyřešit jejich celkové znásobení – polyploidizace.

Hybridizace, polyploidizace a chromozomové přestavby jsou u leknínů hojně dokládáné fenomény (Les & Philbrick 1993), schopné způsobit skokovou speciaci a velmi tak urychlit evoluci. Při počítání chromozomů jednotlivých druhů se přišlo na to, že některé z nich, např. *N. alba* se vyskytují hned v několika stupních ploidie a také jako aneuploidi (Gupta 1980, Rieseberg 2001).

Vzhledem ke snadné křížitelnosti je pro zdárnou speciaci a udržení druhové identity důležité působení vnějších izolačních mechanismů. Izolaci druhů napomáhají někdy ekologické faktory prostředí, ale u leknínů bývají rozdíly v ekologii příliš malé. Geografická izolace byla důležitá např. při oddělení evropského druhu *N. alba* L. od severoamerického *N. odorata*. Wiersema (1988) pokládá za významný prvek v genetické izolaci a speciaci různou květní biologii podrodů a koevoluci s odlišnými opylovači, to ale platí spíše pro tropické a subtropické druhy s vyššími četnostmi.

Na charakter genetické variability temperátních leknínů má nepochybně vliv dynamické uplatňování různých reprodukčních způsobů, které dosud nebylo uspokojivě probádáno. Mnoho druhů je schopných samosprašení, u tropických taxonů se vyskytuje i kleistogamie, na druhé straně existují i druhy výhradně cizosprašné. Podle některých názorů, tak jako u dalších vodních rostlin, převládá u leknínů klonalita (Arber 1920, Podubský & Štědroňský 1954, Les & Philbrick 1993). Vegetativní reprodukce nepochybně přinejmenším silně ovlivňuje vývoj skupiny, protože umožňuje udržení neplodných kříženců a netypických cytotypových variant, které by byly jinak odsouzeny k rychlému zániku (Les & Philbrick 1993).

Taxony na území Evropy představují polyploidní komplex blízce příbuzných druhů, které lze morfologicky rozlišit jen obtížně (Volkova et al. 2010). Znaky tohoto komplexu hodnotily Muntendam & al. (1996, Holandsko) a Volkova & Shipunov (2007, evropské Rusko a jižní Sibiř) mnohorozměrnými statistickými metodami. Výsledek první citované studie jednoznačně potvrdil morfologickou diferenciaci mezi druhy, avšak překryv znaků vyžaduje určování podle souboru znaků. Častý je výskyt přechodných typů s nejrůznějšími kombinacemi znaků (Conard 1905, Tomšovic 1988, Nowak et al. 2010) a v odborné literatuře panuje nejednotnost a někdy i protichůdnost znaků uváděných pro rozlišování druhů (viz *tabulku 1*). Také historická určení mohou být z tohoto důvodu mnohdy zpochybnitelná.

V České republice se vyskytují dva druhy leknínů, *Nymphaea alba* L. (leknín bílý) a *N. candida* C. Presl (leknín bělostný), oba jsou řazeny mezi kriticky ohrožené taxony (kategorie C1), zákonem jsou však chráněné pouze jako silně ohrožené. Z ochrannářsko-biosystematického hlediska jsou velmi cenné, neboť lze za několik posledních desetiletí sledovat markantní úbytek nejen samotných populací, ale také jejich přirozených stanovišť. Údaje o jejich současném rozšíření na našem území stále chybí a většina dat týkajících se výskytu jednotlivých druhů je zastaralá, navíc ne zcela spolehlivá co do druhového určení. Proto se předpokládá, že dnešní rozšíření odpovídá publikovaným údajům (např. Slavík 1986) jen vzácně.

Situaci pravděpodobně znepréhledňuje přirozená hybridizace původních druhů, vedoucí k ještě většímu rozměšňování hranic mezi již tak nesnadno rozlišitelnými taxony. Informace o hybridu *N. × borealis* Camus jsou zlomkovité a vycházejí klasicky jen z morfologie. Intermediární morfotypy nebo rostliny s novými znaky pokládáné za hybridy *N. alba* × *N. candida* jsou známy velmi roztroušeně, pomocí moderních biosystematických metod (AFLP – určení variability na úrovni genomu) ale prakticky z celého území překryvu původních druhů. Ověření hybridního původu takových rostlin však dosud proběhlo pouze na několika lokalitách v Německu a Švédsku (Werner & Hellwig 2006). V

České republice byl zaznamenán výskyt pravděpodobně hybridních populací v jižních Čechách, na Jindřichohradecku a Šluknovsku, přesvědčivé doklady probíhajícího přírodního křížení tu však chybí.

Další komplikace přináší nepřeborné množství kultivarů vzniklých umělým křížením. Lekniny díky své zdobnosti představovaly zejména v 19. století oblíbený objekt šlechtitelů, kteří často pracovali s volně rostoucími vytrvalými druhy (*N. alba*, *N. tetragona*, severoamerická *N. odorata* aj.) či jejich varietami (*N. alba* var. *rubra* aj.). Vzhledem k tomu, že dochází ke zplaňování i záměrnému vysazování zimovzdorných hybridogenních kultivarů do volné přírody, nelze vyloučit jejich účast v genovém toku původních taxonů.

Primárním cílem diplomové práce je kritické zhodnocení intenzity a dynamiky mezidruhové hybridizace a případné genové introgrese, jádrem studia daného komplexu druhů je pak otázka jejich morfologické diferenciaci a přehled současného rozšíření původních a nepůvodních taxonů na našem území. Pokládám si konkrétně tyto otázky:

1. Jaká je variabilita ve velikosti genomu u zástupců v naší květeně / ve střední Evropě?
 - Lze velikost genomu použít jako druhově specifický marker?
2. Jaká je morfologická variabilita lekninů na území České republiky?
 - Lze pozorovat morfologickou diferenciaci taxonů, nebo spíše znakové kontinuum?
 - Které znaky jsou vhodné pro určování druhů, hybridů a kultivarů? Platí znaky používané dříve a v jiných geografických oblastech? Nejsou nějaké nové užitečnější?
3. Dochází mezi původními druhy ke spontánní hybridizaci?
 - Je to běžný, nebo spíše výjimečný jev?
 - Nesou hybridy nějaké známky plodnosti?
 - Probíhá zpětná hybridizace nebo introgrese?
4. Jaké je současné rozšíření karyologicky ověřených morfotypů v České republice?

Cílem je formulovat takové závěry, které mohou přispět k účelné ochraně těchto kriticky ohrožených druhů domácí květeny.

Dříve než přistoupím k popisu vlastní studie, připomeňme si podrobněji v několika kapitolách, co je známo o původních i nepůvodních taxonech v širším kontextu. K některým tématům a pracem se vrátím při diskuzi výsledků.

2 Charakteristika rodu *Nymphaea*

Zástupci rodu *Nymphaea*, známí už z jury, se dnes vyskytují v tropických i temperátních oblastech všech kontinentů kromě Antarktidy, Tichomořských ostrovů a Nového Zélandu (Heslop-Harrison 1955). Tyto sladkovodní byliny s vytrvalými oddenky vykazují znaky evoluční původnosti mezi krytosemennými rostlinami a s ostatními příslušníky čeledi *Nymphaeaceae* sdílejí stavbu oddenků, přítomnost astrosklereidů¹ a mléčnic (Moseley 1961, Carpenter 2006), alespoň 4 kališní lístky, spirální uspořádání květních částí, tyčinky s lístkovitými nitkami, synkarpíi, dužnatý plod, početná semena s laminární placentací a přítomnost charakteristických chinolizidinové alkaloidů se vztahem k seskviterpenoidům (např. nymphein). Sekreční trichomy produkují ochranný sliz pokrývající především mladé orgány (Arber 1920). Tato hořká vrstvu slizu chrání ponořené části před herbivory (Hříbal 1985).

Oddenek leknínů je hlíznatý, horizontální plazivý nebo vzpřímený s palisty v místě přisedání řapíků. Hlavní kořen je redukován (Heslop-Harrison 1955; Tomšovic 1988), oddenek je u báze řapíků zakotven v bahně skupinami adventivních kořenů (Hříbal 1985). Oddenek je přizpůsoben k anaerobnímu dýchání. Jeho tloušťka u střeoevropských leknínů je 2–5 cm (*Nymphaea candida*) až 7 cm (*N. alba*), délka 10–200 cm. Barva od načernalé (*N. alba*, *N. pygmaea*) přes bledou (*N. tuberosa*) k bělavé (*N. odorata*). Tzv. bledé typy se vyskytují v tropech a dosahují délky až 5 m. Většina amerických druhů subg. *Nymphaea* má oddenek vzpřímený, v Evropě je tomu spíše naopak (Wiersema 1988).

Z oddenku vyrůstají dlouze řapíkaté listy ve fylotaxii vysokého řádu (13/34 – Conard 1905; 8/21 – Heslop-Harrison 1955). Řapíky a květní stopky jsou pružné, na průřezu okrouhlé, široké 1,5–25 mm, délka odpovídá hloubce a volnému prostoru na hladině: od několika cm po více než 5 m. Systém vzdušných kanálků je hojně vyvinut (Tomšovic 1988).

Listy jsou převážně plovoucí (natantní). Listy vzdušné (emerzní) vznikají při přerůstání hladiny či poklesu vody. Ponořené (submerzní) se na rozdíl od stulíku (*Nuphar*) vyskytují jen jako malé, šípovité, těsně přisedlé na oddenek (Hříbal 1985, Vaněk & Stodola 1987). Čepel listu bývá eliptická, řidčeji okrouhlá. Délka čepele se pohybuje mezi 5–50 cm, u tropických druhů dosahuje až 60 cm. Okraje čepele evropských leknínů jsou obvykle celokrajné, málokdy zvednuté, zřídka zvlňené. Tropické lekníny mají však listy zubaté i silně zvlňené. Zářez (sinus) mezi laloky sahá téměř do středu listu, od místa napojení řapíku pak pokračuje masivní hlavní žebro (tzv. šev listu) až k vrcholu čepele, který bývá mělce vykrojen, zřídka je zaokrouhlený. Listové laloky jsou zakončeny hroty různého tvaru a vnitřní stranou svírají pravý či ostrý úhel, zářez je tak v různé míře překrýván laloky. Mladé listy jsou celkově menší, okrouhlejší, méně se překrývají jejich laloky, úhel zářezu je větší a hroty laloků ostřejší (Hříbal 1985). Hlavní žilky se rozbíhají nejvíce od místa vstupu řapíku a velmi málo (ve srovnání se stulíkem) ze středního žebra (Podubský & Štědranský 1954, Tomšovic 1988). Líc je hladký s tuhým, kožovitým povrchem odolným vlivům deště a vln (Hříbal 1985). Splývavé listy mají ve spodních vrstvách četné vzdušné kanálky, jako i další rostlinné části. Svrchní strana listů má voskovitý povlak nebo nesmáčivé trichomy a obsahuje mnoho průduchů, které zespodu zpravidla chybí (Podubský & Štědranský 1954). Vrch je sytě zelený, spodek matnější a načervenalý. Některé druhy a hybridy mají na obou stranách barevné skvrny. Mladé listy jsou červenofialové, stočené do ruličky (Hříbal 1985).

Oboupohlavné květy plavou na hladině nebo jsou nad ni vynořené. Jejich tvar je miskovitý, šálkovitý, hvězdicovitý či tulipánovitý a s věkem a s hloubkou se může měnit. V plném rozevření se průměr květů udává 2–30 cm (Heslop-Harrison 1955). Voskovitý povrch okvěti odpuzuje vodu a u některých druhů jsou květy charakteristické četnými sklereidy, omezujícími herbivorii (Wiersema 1988).

¹ astrosklereidy – rozvětvený typ idioblastů (buňky odlišující se od ostatních) v mezibuněčných prostorech a pletivech všech orgánů (Tomšovic 1988). Zvláště jsou patrné ve vzdušných kanálkách řapíků a květních stopek

Polospodní semeník je složen z 5–35 (až 47 – Wiersema 1988) plodolistů do kruhu spojených šálkovitým květním lůžkem a tvořících u některých druhů až druhotně synkarpní (Heslop-Harrison 1955), nebo pseudocenokarpní až apokarpní gyneceum (Tomšovic 1988). Ontogenetický vývoj květu je popsán v článku Moseley (1961). Každý plodolist obsahuje větší počet laminálně umístěných, obrácených dvouobalných vajíček (Tomšovic 1988),

Uprostřed blizny se nachází různě velký a tvarovaný výčnělek, který Presl (1823) pokládá za nektárium, běžně se však označuje jako středový nebo bliznový výčnělek (Hříbal 1985). Povrchy blizen vybíhají od tohoto kulovitěho či válcovitěho výrůstku a končí abaxiálně jako zřetelné volné výběžky, zuby (Heslop-Harrison 1955, Tomšovic 1988, Wiersema 1988). Bliznový terč má většinou nálevkovitý tvar a je radiálně rýhovaný, kde počet rýh odpovídá počtu plodolistů (Tomšovic 1988). Ve středu květu vzniká bazének bliznové tekutiny, údajně obsahující surfaktant odpovědný za smývání pylu z těl hmyzu (Wiersema 1988).

Části kalicha, koruny a tyčinky vyrůstají na stěně semeníku ve šroubovici (Tomšovic 1988), nebo je mezi květními obaly a tyčinkami prázdná zóna (subgg. *Lotos* a *Anecphya*; Heslop-Harrison 1955). Kališní lístky (sepaly) jsou nejčastěji 4(3–7), vejčité, na vrcholu zašpičatělé. Zvenčí zelené nebo červenohnědé, zevnitř v barvě petalů (Hříbal 1985, Tomšovic 1988, Wiersema 1988). Korunní plátky (petaly) jsou oble kopinaté až vejčité, zbarvené z obou stran. Směrem ke středu přecházejí v nitky tyčinek nesoucí na vrcholu prašníky. Liší se odstínem, skvrnitostí a lesklostí, středové bývají tmavší a báze tmavší než špice. Počet kališních lístků od 7 (Heslop-Harrison 1955) do 40 (např. Wiersema 1988), u některých kultivarů i přes 100 (Hříbal 1985). Množství květních orgánů, zejména korunních lístků může představovat odpověď na herbivorii brouků, kteří fungují zároveň jako opylovači (Les et al. 1999).

Variabilita barvy koruny má jisté geografické souvislosti. Obecně kvetou evropské druhy leknínů bílé, americké bílé, růžově a žlutě, africké modře, asijské červeně a velké australské a novoguinejské druhy kvetou všemi barvami, převážně však do fialova (Vaněk & Stodola 1987). U nočních květů podrodů *Hydrocallis* a *Lotos* jsou koruny zpravidla bílé (Conard 1905). Výraznou výjimku v bílé, případně růžově kvetoucím podrodu subg. *Nymphaea* představuje americký druh *N. mexicana* s květy žlutými. Přítomnost modré a žluté barvy může být adaptací na opylování blanokřídlými (Hymenoptera) a dvoukřídlými (Diptera), kteří opylovávají podobně barevné květy i u jiných skupin, neboť bylo dokázáno, že stejné třídy opylovačů navštěvují stejné barvy květů (Wiersema 1988).

Tyčinky (různých barev) mají páskovité nitky a prašníky s protáhlými konektivy. Středoevropské lekníny mají prašníky kratší. Hříbal (1985) napočítal 24–139 tyčinek u evropských druhů, obecně se uvádí až 700, od úzkých až po vnější, spíše sterilní tyčinky s petaloidními nitkami (ne u subgg. *Lotos* a *Anecphya*; Heslop-Harrison 1955).

Pyl čeledi *Nymphaeaceae* je převážně popisován jako monokolpátní či monosulkátní. V několika rodech bazálních krytosemenných čeledí včetně *Nymphaeaceae* se nezávisle vyvinul zonasulkátní pyl (Hesse 2005). U samotného rodu *Nymphaea* se jedná o přechod mezi tzv. zonizonasulkátní (prsteneček kolem celého obvodu zrna) a anazonisulkátní (s prstenčitou aperturou blíže distálnímu konci zrna; Walker 1974). Typy pylových zrn leknínů (monokolpátní, megaporátní i trichotomokolpátní) jsou diagnostické pro druhy a ekotypy a zdá se, že mají v rámci rodu evoluční význam. Struktura povrchu pylové exiny je hladká, nebo častěji verrukátní (hrbolkovitá) nebo s různými vzory a modifikacemi výběžků (Tomšovic 1988, Ansari 2005). Na distální straně zrna jsou různě velké neuspořádané výběžky, které se zvětšují s měrem k obvodu, zatímco na proximální straně vykazují různou strukturu, která může odlišovat jednotlivé druhy (Volkova & Shipunov 2007). Muntendam (1996) rozlišuje hrbolky (verukátní struktura) a bakulátní (úzké) a gemátní (kyjovité) výběžky, přičemž všechny tři struktury se často vyskytují na exině evropských druhů společně, liší se ale jejich zastoupením, hustotou a velikostí.

Opylení je převážně entomogamní. Květy jsou homogamní nebo lehce proterogynické a voní jen zpočátku doby kvetení (Heslop-Harrison 1955). Květní stopky, přizpůsobivější než u jiných rodů (Arber 1920), se po odkvětu spirálně stahují pod hladinu, kde dozrává plod – dužnatá tobolka. Počet přehrádek v tobolce odpovídá počtu plodolistů (Hříbal 1985). Odumírající okvěti po sobě zanechávají na plodu příčné jizvy a ten po 6–10 týdnech nepravidelně puká nabobtnáním interlokulárního slizu

kolem semen. Semena se uvolňují a nadnášena vakovitým míškem plavou ve shlucích několik dnů po hladině (Heslop-Harrison 1955), kde se pasivně šíří a dochází i k jejich pozření a disperzi rybami a vodními ptáky. Obal míšku je časem rozrušen a semena klesnou na dno, kde přezimují. Klíčí na jaře v průběhu několika let (Hříbal 1985).

Semena vejčitého nebo vzácněji kulovitého tvaru mají obvykle hnědé nebo olivově zelené osemení s jemně brázděným povrchem, hladké nebo s trichomy či papilami. Malé a přímé embryo je obklopeno hojným perispermem, ale endosperm je vyvinut jen slabě. Semena nesmí vyschnout, ale vydrží zmraznutí. Chlad také urychluje budoucí klíčení, které bývá jinak nepravidelné (Heslop-Harrison 1955).

Rod *Nymphaea* využívá několik způsobů rozmnožování. Významné je rozmnožování vegetativní pomocí výběžků a hlíz (Arber 1920, Podubský & Štědrónský 1954) či, u neotropických druhů, živorodostí, proliferací listové nebo květní tkáně, kde se vytvoří hlíza a nová rostlina, která se později oddělí a může i zakořenit (Wiersema 1988).

Pohlavní rozmnožování je zprostředkováno především entomogamicky a je ponejvíce proterogynické – květy jsou otevřené několik dnů, pyl se uvolní obvykle až druhý den, kdy se teprve květy otevřou plně a vyschne tekutina na blizně. Květy kvetoucí první den se otvírají později, aby opylovači nejprve nasbírali pyl (Wiersema 1988). Časování kvetení může být příčinou přerušení genového toku, extrémem je rozdělení leknínů na denní a noční taxony. Výhradně v noci kvete rod *Victoria* a podrody *Nymphaea* subg. *Hydrocallis* a subg. *Lotos*. Tropické druhy dosáhly vyšší specializace opylovačů i tvorbou různobarevných květů rozličných vůní. Vstup opylovačů na bliznu je regulován výběžky pestíků, které se nad ní po nějaké době stočí a zakryjí ji, čímž snižují pravděpodobnost opylení vlastním pylem (Wiersema 1988).

Nejčastěji mají lekníny velké květy s početnými částmi a jsou opylovány brouky. Temperátní druhy, které se při pohlavním rozmnožování spoléhají zpravidla na cizosprašení a využívají širší škálu opylovačů (Wiersema 1988). U leknínů se vyskytuje xenogamie², geitonogamie³ i čistá autogamie. S výjimkou temperátní *N. alba* byla autogamie doložena výhradně u tropických druhů (Wiersema 1988). Vznik semen samosprašením probíhá jednak homogamií (prašníky puknou brzy první den – subg. *Brachyceras*, *N. alba*), jednak přetrváním receptivity blizen více dnů (*N.* subg. *Hydrocallis*). Byla zaznamenána i občasná kleistogamie⁴, např. u rodů *Euryale* a *Barclaya* a druhů *Nymphaea rudgeana*, *N. amazonum* a *N. stellata* (Heslop-Harrison 1955, Friis et al. 2001). Žádný z druhů není agamospermní.

Druhy tvoří polyploidní série a platí, že morfologicky primitivnější taxony mají více chromozomů, které jsou převážně drobné (0.5–2.0 μm) a obtížně se počítají klasickými metodami (Heslop-Harrison 1955, Gupta 1980). Diao & al. (2006) našli značné rozdíly ve velikosti genomu a v počtech chromozomů mezi různými druhy leknínů a i v rámci druhů a zjistili, že tentýž stupeň ploidie není vždy prezentován stejnou velikostí genomu. Základní chromozomové číslo rodu se uvádí $x = 7$ (Tischler 1950) nebo 8 (Maude 1939, Löve & Löve 1942), ale jelikož v polyploidních sériích bylo nejnižší dosud nalezené chromozomové číslo $2n = 28$ (např. *N. tetragona*, Diao & al. 2006), přiklání se více autorů k základnímu číslu $x = 14$ (Gupta 1978, 1980, Hossain et al. 2007). Berme však v úvahu, že Grant (1981) na základě chromozomových počtů a četnosti polyploidů mezi krytosemennými považoval rostliny s $x \geq 14$ za polyploidy, jedná se tedy patrně o sekundární základní chromozomové číslo. Jelikož není u leknínů známa studie, která by stupně ploidie geneticky doložila, neberme jejich označení zcela závazně.

Vodní rostliny s plovoucími listy jsou v Evropě typickou složkou litorální vegetace stojatých vod. Stanovištní preference temperátních leknínů směřují do hlubších a teplejších stojatých nebo mírně tekoucích vod s bahnitým dnem, osluněných a bez vodních proudů (Hejný 2001). Jak leknín bílý, tak leknín bělostný rostou v mrtvých říčních ramenech, vodních příkopech, rašelinných jezírkách, tůních,

² xenogamie – oplození pylem jiného jedince

³ geitonogamie – oplození pylem z jiného květu téhož jedince

⁴ kleistogamie – oplození vlastním pylem v uzavřených květech

při březích pomalejších vodních toků a v rybnících (Podubský & Štědranský 1954, Tomšovic 1988). Většinu leknínů se daří (podobně jako kaprovitým rybám) v neutrálním až mírně zásaditém pH (6,8–8,5), i jinak se ekologické nároky středoevropských leknínů značně překrývají, takže někdy dochází k sympatrickému výskytu.

Pro nás méně zajímavou, obecně však bedlivě zkoumanou vlastností rodu je obsah bioaktivních sekundárních metabolitů (především alkaloidů). Biochemické studie sledující jejich účinky a možné využití ve farmacii probíhají především v Asii (např. Khan & Sultan 2005, Liu et al. 2007, Rajagopal & Sasikala 2008, Zhao et al. 2009 aj.). Etnologický výzkum dokládá užívání leknínů k dosažení extatických stavů v kulturách starých Májů a Egyptanů (z mnoha např. Emboden 1981). Kromě toho se leknínové oddenky dříve užívaly k vydělávání kůží, jako barvivo i jako potravina (Presl 1823). Přestože jsou u středoevropských druhů známy všemožné léčivé účinky (uvádí např. Presl 1823, Podubský & Štědranský 1954, Hejný 2000), situace, v níž se nyní nacházejí, však praktické aplikace zdaleka neumožňuje.

2.1 Druhové zastoupení v Evropě

Morfologická variabilita rodu ztěžuje taxonomické určení natolik, že s různými přístupy lze v rámci *N.* subg. *Nymphaea* v eurasijském areálu rozlišit 1 (Planchon 1853 in Heslop-Harrison 1955) až 10 (Dippel 1856), ale i 12 (Papchenkov 2003 in Volkova & Shipunov 2007) druhů. V Evropě jsou vedle diskutovaného třetihorního reliktu *N. lotus* L. var. *thermalis* (DC.) Tuzson, omezeného na několik maďarských a rumunských termálních pramenů, běžné tři druhy, tvořící dále lokální variety a poddruhy (Hegi 1965, Vaněk & Stodola 1987, Muntendam et al. 1996). Rozlišovací znaky shrnuje **tabulka 1** a **obrázek 1** znázorňující některé recentně odvozené a v severovýchodní Evropě používané znaky na květech.

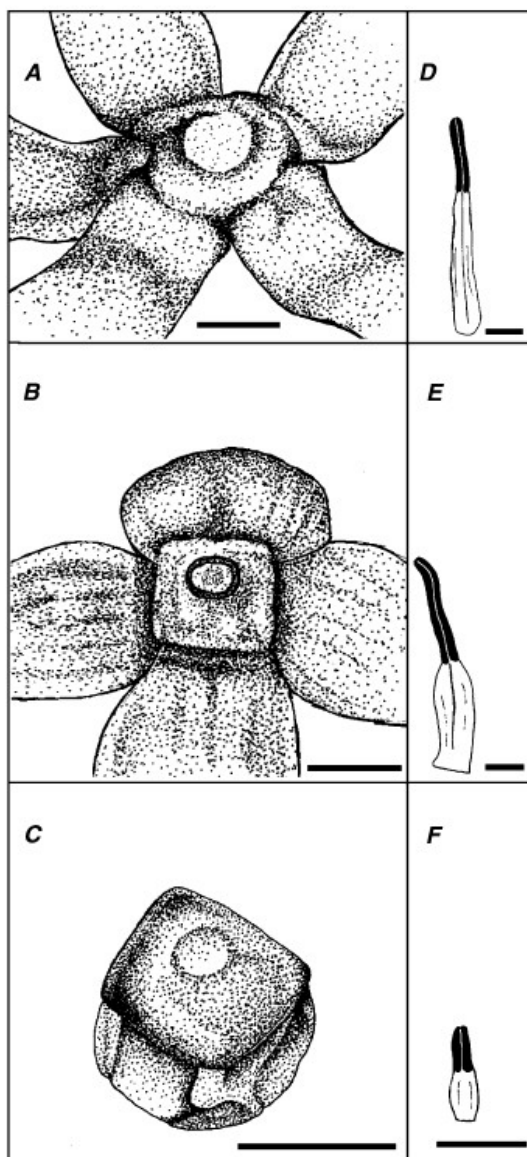
Tabulka 1 – morfologické znaky odlišující evropské taxony.

znak	<i>N. alba</i>	<i>N. candida</i>	<i>N. tetragona</i>	zdroj
květní báze zespodu	kulatá, zaoblená	okrouhle čtverhranná	hranatě čtverhranná	Heslop-Harrison 1955, Dostál 1958, Tomšovic 1988, Muntendam et al. 1996, Hejný 2000, Wayda 2000, Kaplan 2002, Volkova & Shipunov 2007, Nowak & al. 2010, Ejankowski & Małysz 2011
květy	plně otevřené	nikdy plně otevřené	–	Wayda 2000
	96 % hvězdovité, na hladině nebo nad ní	90 % šálkovité, napůl ponořené	–	Muntendam et al. 1996, Nowak & al. 2010
počet korunních plátků	(12–) 19–25 (–44)	15–20	–	Podubský & Štědranský 1954, Heslop-Harrison 1955, Vaněk & Stodola 1987
	20–30	22–26	–	Hříbal 1985
	(17) – 22 – (28)	(19) – 25 – (31)	–	Muntendam et al. 1996
délka korunních plátků [cm]	2,1–8,5	–	–	Heslop-Harrison 1955
	stejně dlouhé jako kališní/delší	stejně dlouhé/kratší než kališní	–	Vaněk & Stodola 1987, Tomšovic 1988, Ejankowski & Małysz 2011
	2,7 – 6,8	4,1 – 5,9	–	Muntendam et al. 1996
šířka korunních plátků [cm]	1,3 – 3,2	2,1 – 2,8	–	Muntendam et al. 1996

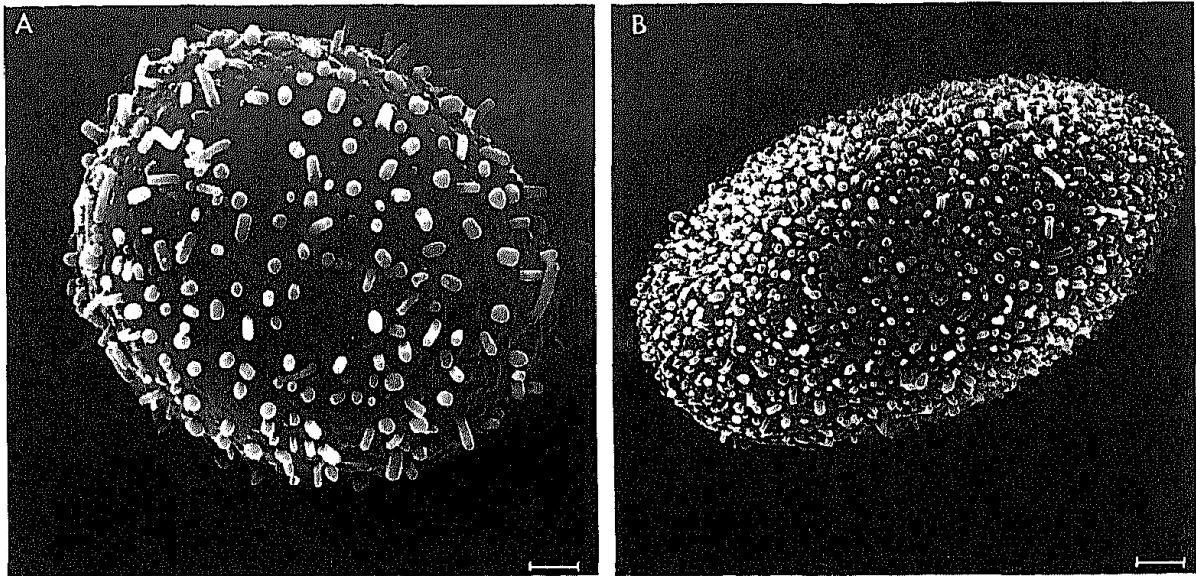
délka kališních lístků [cm]	2,7 – 6,9;	4,2 – 6,5	–	Muntendam et al. 1996
šířka kališních lístků [cm]	(1,1) – 2,3 – (3)	(2,2) – 2,8 – (3,6)	–	Muntendam et al. 1996
kališní lístky	91% vodorovně	90% vzpřímeně	–	Muntendam et al. 1996
počet tyčinek	75 – 131	52 – 85	–	Muntendam et al. 1996
nitky vnitřních tyčinek	lineární, páskovité, čárkovité	kopinaté (vprostřed rozšířené)	oválné	Dostál 1958, Tomšovic 1988, Hejný 2000, Kaplan 2002, Volkova & Shipunov 2007
	šířka nitky / prašníku ≤ 1	šířka nitky / prašníku > 1	–	Ejankowski & Matysz 2011
počet bliznových paprsků a zubů	(7–) 8–20 (–23); bývá > 13	6–14 (20); bývá <13	(4) 5–10 (16)	Volkova & Shipunov 2007
	(9–) 14–20 (–25)	(5–) 8–12 (–16)	–	Podubský & Štědrónský 1954, Heslop-Harrison 1955, Dostál 1958, Tomšovic 1988, Hejný 2000, Kaplan 2002, Nowak & Nowak 2007, Nowak & al. 2010
	14–24	6–14	–	Ejankowski & Matysz 2011
	15–25	9–14	–	Muntendam et al. 1996
	15–21	14–26	–	Hříbal 1985
	> 15, vzácně méně	běžně < 15	–	Wayda 2000
průměr blizny [cm]	(1,1) – 1,7 – (2,2)	(1) – 1,2 – (1,5)	–	Muntendam et al. 1996
	1,3	(0,4) – 0,59 – (1,3)	–	Nowak & al. 2010
tvár blizny	téměř rovná, mírně konkávní	vypouklá, silně konkávní	silně konkávní	Conard 1905, Podubský & Štědrónský 1954, Hříbal 1985, Volkova & Shipunov 2007, Ejankowski & Matysz 2011
	stejně široká /o málo užší než pestík	o ⅓ až ½ užší než pestík	–	Tomšovic 1988
barva blizny	žlutá; lesklé zuby (do oranžova)	žlutá, oranžová, červená, (zelená u mladých květů); matné žluté zuby	žlutá, červená, purpurová	Conard 1905, Podubský & Štědrónský 1954, Heslop-Harrison 1955, Hříbal 1985, Muntendam et al. 1996, Wayda 2000, Volkova & Shipunov 2007, Nowak & al. 2010, Ejankowski & Matysz 2011
	žlutá nebo načervenalá	červená nebo načervenalá	–	Tomšovic 1988
středový bliznový výčnělek	(1,5) – 3,1 – (3,3) mm š., (1,9) – 2,3 – (4,8) mm v.; silný, krátký, kulovitý, nejvyšší 2x vyšší než široký	1 – 2 mm š., (2,5) – 3,4 – (4,5) mm v.; tenký, dlouhý, kuželovitý, nejméně 2x tak vysoký jako široký	dlouhý, kuželovitý	Tomšovic 1988, Muntendam et al. 1996 (měření), Volkova & Shipunov 2007
průměr květu [cm]	15–23	11–20	3–8	Hříbal 1985
	9–12	–	–	Podubský & Štědrónský 1954, Vaněk & Stodola 1987
	(3–) 5–15 (–20)	(3–) 5–11 (–16)	3(a méně) – 6(–10)	Volkova & Shipunov 2007
	11,2	5,95	–	Nowak & al. 2010
	10–20	5–9	–	Ejankowski & Matysz 2011
semeník	pokryt tyčinkami až k vrcholu, nezužuje se k blizně	tyčinky nerostou až nahoru, zužuje se směrem k blizně	zužuje se směrem k blizně, není pokryt tyčinkami až k vrcholu	Conard 1905, Podubský & Štědrónský 1954, Dostál 1958, Volkova & Shipunov 2007

	11 – 23 mm š.; není celý pokryt tyčinkami	13 – 21 mm š.; celý pokryt tyčinkami	–	Muntendam et al. 1996
	kulatý – polokulovitý	vejčité kulovitý	vejčité kulovitý	Hříbal 1985
	nejširší v horní polovině	nejširší v dolní polovině	–	Tomšovic 1988, Podubský & Štědronský 1954
plod	kulovitý, shora stlačený/polokulovitý	kulovitý/vejčité	kulovitý s malou blízou	Conard 1905, Vaněk & Stodola 1987, Tomšovic 1988
poupě	podlouhle vejčité s tupou špičkou	podlouhle vejčité se špičatým koncem	čtyřhranné, pyramidální	Tomšovic 1988, Volkova & Shipunov 2007
hlavní žilky listových laloků	spíše rozbíhavé nebo rovnoběžné	výrazně sbíhavé, nikdy rozbíhavé	–	Heslop-Harrison 1955, Muntendam 1996, Wayda 2000, Nowak & al. 2010
	rovné	ohnuté p celé délce	–	Ejankowski & Matysz 2011
	mírně obloukovité/téměř přímé, v první třetině vždy téměř přímé	obloukovitě prohnuté, především v první třetině	ohnuté podél celé délky	Tomšovic 1988, Hejny 2000, Kaplan 2002, Volkova & Shipunov 2007
délka listové čepele (cm)	(10–) 15–30 (–35)	(6–) 12–26 (–30)	(4–) 5–9 (–20)	Vaněk & Stodola 1987, Volkova & Shipunov 2007
	(16–) 25–31 (–38)	(13–) 20–30 (–33)	4–15	Hříbal 1985, Tomšovic 1988
	19,2 – 36,3	14,5 – 30,4	–	Muntendam et al. 1996
šířka listové čepele (cm)	(8–) 14–27 (–35)	(8–) 12–24 (–30)	(3–) 4–10 (–16)	Volkova & Shipunov 2007
	(15–) 24–27 (–30)	(11–) 17–27 (–29)	3,5–7,5	Tomšovic 1988
	18,1 – 34,3	13 – 27,4	–	Muntendam et al. 1996
listové laloky	rozestálé, tupé až uťaté a na vnitřní straně pravouhle špičaté	sblížené, někdy překrývající se, zašpičatěle elipčité s vnitřními stranami někdy rovnoběžnými	–	Podubský & Štědronský 1954, Dostál 1958
	zaoblené; překrývající se/souběžné/rozestupují se	–	–	Heslop-Harrison 1955
listový zářez	> ½ délky listu	–	–	Heslop-Harrison 1955
	žebro je 1,59 × delší	žebro je 1,41 × delší	–	Hříbal 1985
listy	občas vystupují nad hladinu	nikdy nevystupují nad hladinu	–	Hejny 2000, Volkova & Shipunov 2007
velikost pylového zrna (µm)	10–22,5	–	12,5–16	Ansari 2005
	(24–) 30–32 (–46)	(29–) 34–36 (–49)	–	Tomšovic 1988
	(29) – 34,1 – (42)	(36) – 43,6 – (50)	–	Muntendam et al. 1996, Nowak 2010
povrch exiny pylu	bakulátní	verrukátní (výběžky širší než vyšší)	granulární	Volkova & Shipunov 2007
	(6) – 17 – (38) výběžků /100 µm; bakulátní, verukátní (prům. 6/100 µm), i gemátní	(23) – 48 – (81) výběžků/100 µm; hlavně verukátní (průměrně 25/100 µm)	areolátní	Muntendam 1996, Ansari 2005
	hůlkovité výrůstky	hrbolkovité výrůstky	–	Tomšovic 1988
	tlusté, řídce rozptýlené papily	papily úzké a hustší	–	Heslop-Harrison 1955, Wayda 2000
délka semene (mm)	2–3 (–5)	3–4	2–3	Conard 1905, Heslop-Harrison 1955, Podubský & Štědronský 1954, Hříbal 1985, Tomšovic

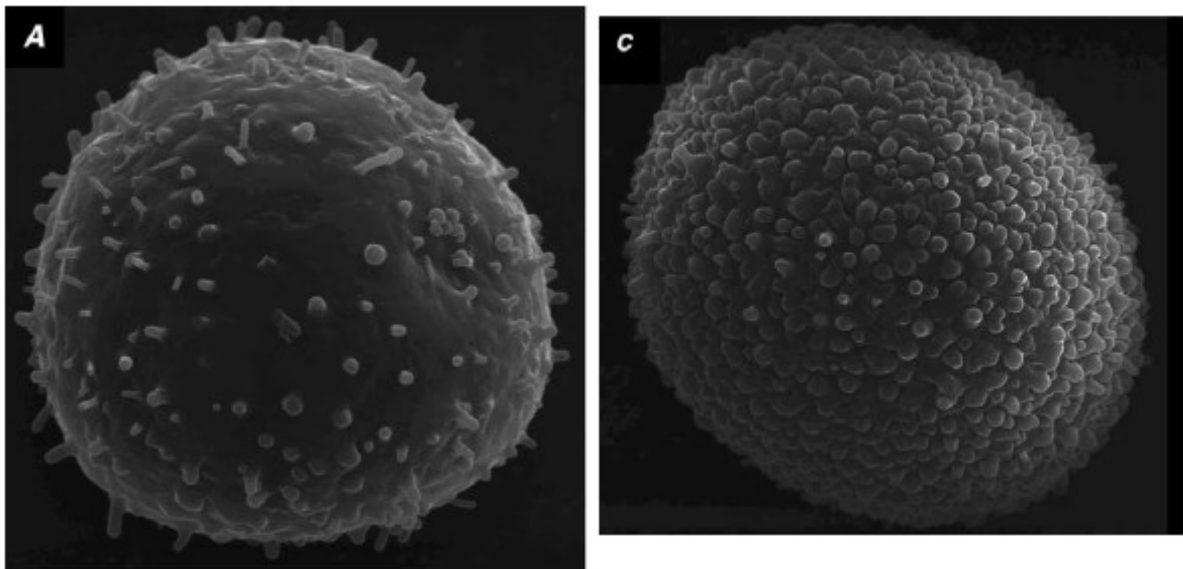
				1988, Hejný 2000, Kaplan 2002
oddenek	horizontální, typ <i>Alba</i>	vertikální, typ <i>Marliac</i>	–	Hříbal 1985



Obr. 1 – Kvalitativní znaky používané pro rozlišení (shora) *N. alba*, *N. canida* a *N. tetragona* v evropském Rusku. A–C: tvar květní báze, D–F: tvar vnitřní tyčinky. Měřítko ukazuje 5 mm (Volkova & Shipunov 2007).



Obr. 2 – Pyl a) *N. alba*, b) *N. candida*; měřítko odpovídá 3,7 μm . (Muntendam 1996)



Obr. 3 – Pyl zobrazený skenovacím elektronovým mikroskopem. a) Povrch pylu *N. alba* a *N. candida* v evropské části Ruska se vzájemně příliš neliší, zatímco c) *N. tetragona* se od dvou předchozích odlišuje dobře. (Volkova & Shipunov 2007)

***Nymphaea tetragona* Georgi – leknín čínský, někdy též l. čtverhranný, l. severský**

Synonymum: *N. pygmaea* Aiton

Conard: kěty 2,5 – 5 cm, listy 2,5 – 12 cm, ostré laloky, otevřený zářez. Oddenek vzpřímený. řapík má jen 2 vzdušné kanálky. Fotografie v Conardovi má však žilky laloků zcela přímé. 8-17 petalů

Prvním ze tří je drobný, velmi odolný boreální taxon pocházející z Asie, odkud se rozšířil do severní Evropy (Finsko, Karelie), Severní Ameriky i Austrálie (Heslop-Harrison 1955) a celkově je nejrozšířenějším taxonem celé čeledi. Běžný je na Sibiři a vyskytuje se i za polárním kruhem

(v evropské části jen na jedné lokalitě; Hultén 1950), ale do střední Evropy nesahá. Jeho genetický vliv lze pozorovat na druhu *N. candida*, proto si uvedeme některé jeho typické znaky.

Leknín trpasličího vzrůstu má vonné hvězdicovité květy (2,5–6 cm v průměru) s ostře hranatou, čtverhrannou bází a ztloustlými tyčinkami (**obr. 1**). Plynulý přechod mezi korunou a tyčinkami zde chybí. Oválně srdčité listy jsou 4–15 cm dlouhé a 3,5–7,5 cm široké. Laloky listů se převážně překrývají a mají ostré hroty. Hlavní žilky listových laloků jsou po celé délce ohnuté (Volkova & Shipunov 2007). Axiální řez semeníkem *N. tetragona* (Hříbal 1985) ukazuje, že celý pestík, i jen samotný semeník, je vyšší než širší, bliznový výčnělek je zapadlý mezi bliznovými paprsky, které se pak ohýbají ven, podobně jako sledujeme u extrémních forem našeho druhu *N. candida*.

Především se od ostatních evropských druhů liší povrchem exiny na proximální straně pylového zrna, který je granulátní s hustými kulovitými výběžky exiny (Ansari et al. 2005, Volkova & Shipunov 2007; viz **obrázek 3**), dále se liší tvarem idioplastů, přítomností pouze dvou vdušných kanálků místo čtyř a krátkým vzpřímeným oddenkem. Může kvést tentýž rok kdy vyklíčil (Heslop-Harrison 1955).

Někdy se ve Finsku od *N. tetragona* rozeznává *N. fennica* Mela, ale rozdíly nejsou dobře stanoveny (Heslop-Harrison 1955).

Leknín čínský je diploid ($2n = 28$) s velikostí genomu $2C = 3.65 \pm 0.17$ pg (Diao & al. 2006). Wood (1959 in Gupta 1980) u tohoto druhu sledovali i aneuploidy.

***Nymphaea alba* L. – leknín bílý**

Synonyma: *Castalia speciosa* SALISB., *C. alba* (L.) WOODVILLE et WOOD, *Nymphaea alba* var. *melocarpa* CASPARY, *N. alba* subsp. *melocarpa* (CASPARY) A. et Gr. (Tomšovic 1988)

Leknín bílý má černý tlustý oddenek (tloušťka 5–7 cm, délka 30–60 cm) převážně horizontálně ponořený v bahně a téměř se nevětvící (Heslop-Harrison 1955). V porovnání se stulíkem (*Nuphar*) je však oddenek poněkud svislejší a okrouhlejší (Podubský & Štědranský 1954). Z něj vyrůstají jednoduché blanité palisty a bílé adventivní kořeny s černou čepičkou. Díky oddenku může rostlina dosáhnout celkové délky až 6 m a odumíráním starších částí a rozrůstáním a větvením oddenku se velikost jedné genety ještě zvyšuje a dostává prstenčitý tvar. Věk pěstovaných rostlin přesahuje i 50 let a mohutnost volně rostoucích jedinců naznačuje stáří ještě mnohem vyšší (Heslop-Harrison 1955).

Válcovitý řapík se 4 vzdušnými kanálky dosahuje podle hloubky vody 50–250 cm a přechází ve vejčité okrouhlou celokrajnou čepel, zesponu červenofialovou nebo bledě zelenou, shora tmavě zelenou (Podubský & Štědranský 1954, Heslop-Harrison 1955, Tomšovic 1988), obvykle dlouhou 15–31 a širokou 14–27 cm (Hříbal 1985, Tomšovic 1988, Volkova & Shipunov 2007). Laloky jsou spíše rozestálé, ale mohou se překrývat. Důležitým znakem je postavení hlavních žilek listových laloků, které je u leknínu bílého přímé (Vaněk & Stodola 1987, Tomšovic 1988, Hejný 2000, Kaplan 2002, Volkova & Shipunov 2007). Druh je znám tím, že jeho listy se často překrývají a někdy vyrůstají nad hladinu (Volkova & Shipunov 2007).

Doba kvetení je u obou našich leknínů od časného června do pozdního srpna (Vaněk & Stodola 1987, Tomšovic 1988) až září (Podubský & Štědranský 1954) a rostlina kvete obvykle od třetího roku. Kulovitý až polokulovitý semeník má na průřezu i ze spodního pohledu kulatě oblou bází a nejširší je ve své horní polovině (Podubský & Štědranský 1954, Hříbal 1985, Tomšovic 1988 aj.).

Kališních lístků je tradičně 4–5, listky koruny jsou dlouhé 2,1–8,5 cm, vyrůstají v počtu (12)19–25(44) (Podubský & Štědranský 1954, Heslop-Harrison 1955, Vaněk & Stodola 1987) a mají čisté bílou barvu, vzácněji jsou do růžova⁵. Tyčinky (v počtu 46–125) mají široké bílé petaloidní nitky, které se směrem ke středu zužují téměř na šířku prašníků a žloutnou (Heslop-Harrison 1955, Volkova & Shipunov 2007).

Květy jsou homogamní nebo lehce proterogynické a voní jemnou, těžko definovatelnou vůní (Hříbal 1985). Povrch blizen zůstává receptivní několik dní, kdy může dojít k cizo- i samosprášení. Na květech tohoto druhu byli pozorováni brouci (*Donacia*, *Plateumaris*, *Cetonia*; Glaphyridae), blanokřídli (*Bombus*, *Apis*) a dvoukřídli (*Notiphila*, *Scatophaga*; Muscidae; Heslop-Harrison 1955).

Plodem je kulovitá přehrádkovaná tobolka velká 3–4 cm, vyplněná dužninou a četnými hnědočervenými lesklými semeny v bělavém obalu (Podubský & Štědranský 1954, Vaněk & Stodola 1987). Průměrný počet semen na plod je 500, uvádí se však až přes 1700; Heslop-Harrison 1955). Semena tohoto druhu mírají délku 2–3 mm, jsou tedy menší než u leknínu bělostného, podobně jako pylová zrna, která u leknínu bílého dosahují většinou jen 30–32 µm (Tomšovic 1988), podle jiných měření dokonce 10–22,5 µm (Ansari 2005, viz *tabulku 1*).

U *N. alba* se údajně vyskytují vedle běžných monokolpátních i obecně velmi vzácná trichotomokolpátní⁶ pylová zrna. Zrna jsou převážně kulovitá, vyskytují se i elipsoidní. Povrch pylu je verukátní (hrbolatý), gemátní i bakulátní. To, který typ výběžků převažuje, se v literatuře liší a pravděpodobně má geografickou strukturu (Ansari et al. 2005, Volkova & Shipunov 2007). Leknín bílý má výběžky mnohem řidší a převažují bakulátní a verukátní, zatímco gemátních je méně (Muntendam 1996). Viz *obrázek 2a*.

Morfologické odchylky leknínu bílého mají status forem, variet i druhů, ale mnohdy jim nelze přisuzovat taxonomickou hodnotu. Několikrát byla popsána terestrická forma (*N. alba – forma terrestris*) jejíž listy mají stočené okraje, květy jsou drobné a výška rostliny nepřesahuje 0,5 m. Tyto rostliny se vrací k typickému morfotypu, pokud se opět ocitnou ve vodě. Pravidelný semiterestrický výskyt byl u druhu zaznamenán např. v Irsku (Heslop-Harrison 1955).

Bylo popsáno mnoho variet a poddruhů *N. alba* (Hegi 1965), z nichž je vhodné zmínit dva. *N. alba var. minor* DC. roste v chladnějších severních oblastech podobně jako *N. candida*. Druhým je drobný *N. alba ssp. occidentalis (Ostenfeld) Moss*, rostoucí izolovaně na západě Irska a Skotska (Heslop-Harrison 1955). Podle jistých názorů se variety liší jen výskytem a jejich malý vzrůst je dán málo úživným prostředím. Obě jsou často zaměňovány s *N. candida*. O podobnosti *N. alba var. minor* a *N. candida* a výskytu variety v Polsku píše např. Nowak & al. (2010), ale domnívají se, že se zde jedná pouze o "vyhladovělý" morfotyp *N. candida*, jelikož drobná varieta leknínu bílého je pravděpodobně, jak píše Muntendam et al. (1996), vázána výhradně na chladnější severské oblasti.

Vysoká vnitrodruhová proměnlivost druhu se projevuje v barvě květních částí a listů, jejich tvaru i velikosti. Nejruznější kombinace těchto znaků, vznikající zřejmě alogamicky, se mohou autogamicky nebo vegetativně lokálně udržovat. V České republice jeví *N. alba* určitou hlubší diferenciaci, kdy se rostliny z termofytika vyznačují nižším počtem bliznových zubů (nejčastěji 10–16), užším bliznovým

⁵ Výjimkou je v chladných švédských vodách divoce rostoucí *N. alba var. rubra* = *var. rosea* s červenými květy (Hříbal 1985).

⁶ Trichotomokolpátní apertura představuje evoluční přechod mezi mono- a trikolpátní formou; je typická pro čeleď *Winteraceae* a *Canellaceae* (Takhtajan 2009).

terčem (v poměru k šířce pestíku) a obecně se více podobají *N. candida*. Typické znaky lze zjistit hlavně u rostlin z mezofytika, u nichž je však často podezření, že byly v minulosti introdukovány. V českém a hlavně panonském termofytiku a na jižním Slovensku se objevují rostliny typu „minoriflora“, považované za subspecii. Vztah k varietám a poddruhům není jasný, s ohledem na blízkou morfologii, ale odlišné ekologicko-cenologické charakteristiky (Tomšovic 1988).

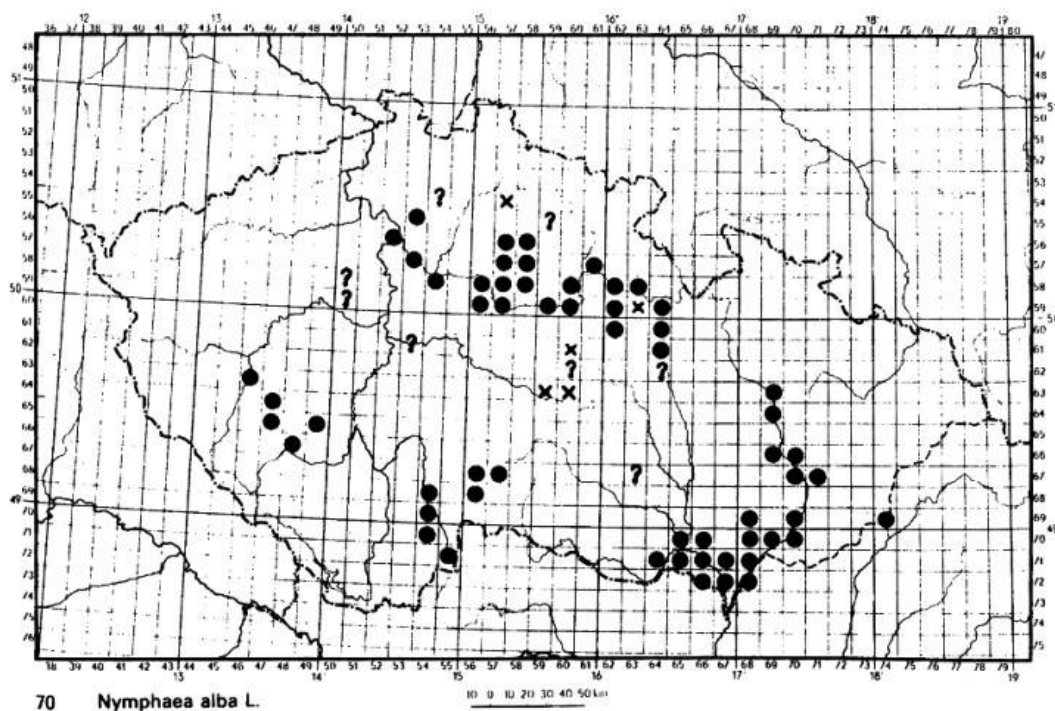
Leknín bílý byl v minulosti běžným druhem sladkých i brakických, různě kyselých i živinami bohatých vod. Může se vyskytovat i ve vodách oligotrofních i dystrofních, často i v horských jezerech, například v Alpách (Vaněk & Stodola 1987). Třetihorní usazeniny ve Švýcarských jezerech a další doklady vypovídají o tom, že druh byl v té době ve střední Evropě široce rozšířený (Hegi 1965).

V planárním stupni roste i na stanovištích mezo- a eutrofních a zpravidla vyžaduje vrstvu humózního bahna. Hloubka vody by se měla pohybovat okolo 70–150 cm, podle Conarda (1905) sice roste až do hloubky 5 m, zřídka však překročí 2,5 m, kde bývá limitní množství světla pro klíčení, dále se šíří jen vegetativními výhonky (Heslop-Harrison 1955). Najdeme ho v místech bez silného vodního proudu, vln a nadměrné turbidity (Tomšovic 1988), upřednostňuje volnou nezastíněnou hladinu, ale stín toleruje a může se udržet i v porostech rákosu, kde je světla až o 50% méně (Heslop-Harrison 1955).

Z hlediska vegetace tvoří leknín bílý charakteristická společenstva s rdesty (*Potamogeton natans*) a stulíky (*Nuphar lutea*; Vaněk & Stodola 1987). Ve společenstvech svazu *Nymphaeion albae* je diagnostickým druhem s optimem ve společenstvu *Nupharo lutei-Nymphaeetum albae*. Přesahuje též do rozvolněných společenstev řádu *Phragmition* (Tomšovic 1988). Leknín bílý má velmi širokou amplitudu vzhledem k alkalitě (Heslop-Harrison 1955: pH 5–8,5; Smits et al. 1988: pH až 8,9; Gąbka et al. 2004: pH 4,8–6). Smits et al. (1988) nenalezli optimum, ale jeho výskyt pozorovali převážně ve vodách zásaditých. Přesto se zdá, že *N. alba* toleruje kyslejší vodu než *Nuphar*, často však rostou společně, a to ve skupinách obvykle vzdálenějších od břehu (Podubský & Štědranský 1954). Stulík preferuje spíše živinami bohatší stanoviště a snáší větší pohyb vody (Heslop-Harrison 1955), proto často lekníny vytlačuje (Hříbal 1985, Hejný 2000).

N. alba má široký latitudinální rozsah, vyskytuje se v celé Evropě kromě nejsevernější (ve Skandinávii pouze na jihu a západě, v severní a střední části bývalého evropského SSSR je vzácný nebo chybí). Zasahuje také do severozápadní Afriky, Sýrie, Palestiny, Zakavkazska, severního Íránu a Kašmíru, až do Himálaje (Conard 1905, Tomšovic 1988). Jižní hranice *N. alba* je v Alžíru, vyskytuje se ještě na mnoha středomořských ostrovech. Severní hranice ve Skandinávii je 61° s. š. (Vaněk & Stodola 1987), včetně *N. alba* ssp. *occidentalis* pak 69°12' (Blytt 1902–6 in Heslop-Harrison 1955). Presl druh uvádí i ze Severní Ameriky v okolí Michiganu (1823). Celkové rozšíření viz na **obrázku 4** na str. 25.

V České republice je výskyt druhu původní v úvalech jižní a střední Moravy a v Polabí, jinde může souviset s dřívějším vysazením. V Čechách je výskyt leknínu bílého řídký, daleko vzácnější než u leknínu bělostného (viz **obrázek 5**). Výškově se soustřeďuje do stupně planárního, méně častý je ve stupni kolinním (max. Jindřichův Hradec – 480 m; Tomšovic 1988). Druh je u nás na ústupu a je, zdá se, vzácnější, než l. bělostný.



Obr. 5 – Mapa rozšíření *N. alba* v České republice (Slavík 1986).

Zaznamenaná chromozomová čísla *N. alba* jsou $2n = 48, 64, 84, 96, 105, 112, 160$ (viz *tabulku* 2). Většina britských rostlin je hexaploidní ($2n = 6x = 84$; Langlet & Söderberg 1927 in Maude 1939, Heslop-Harrison 1955), byl zaznamenán i počet $2n=112$ (Langlet 1936 in Maude 1939). Vyskytují se i údajní tetraploidi ($2n = 48$), oktoploidii ($2n = 112$) a aneuploidi ($2n = 64, 96, 105, 160$; Heslop-Harrison 1955, Löve & Löve 1942, Ehrenberg 1945 in Gupta 1980). V Bangladéši určili Hossain et al. (2007) u leknínu bílého i $2n = 5x = 70$. Podle Tischlera (1927) se v severozápadní Evropě vyskytuje několik chromozomových ras *N. alba*. Ty by ale měly odpovídat také morfologicky diferencovaným jednotkám, jejichž existenci Langlet & Söderberg (1927) vyvrátili.

Ve střední Evropě není však výskyt více chromozomových ras předpokládán. V České republice se uvádí pouze $2n = 84$ (Tomšovic 1988) a ani předběžné cytometrické výsledky zde nepotvrdily žádnou karyologickou diferenciaci. Rovněž nedávná měření touto metodou ve východní Evropě a přilehlém Rusku zaznamenala jasné druhově specifické velikosti genomu, což pro jakoukoliv karyologickou diferenciaci nesvědčí (Volkova & el. 2010). Diferenciace není zcela vyloučena, avšak udávané množství chromozomových čísel může být jen artefaktem, plynoucím jednak z obtížného počítání mnoha drobných chromozomů, zejména u starších údajů, a jednak ze samotné problematiky určení druhu (mohlo se jednat o hybridy či nepůvodní kultivary).

Tabulka 2 – počty chromozomů zaznamenané u *N. alba* a *N. candida*

	ploidie	počet chromozomů	původ	zdroj
<i>N. alba</i>	an.	48	Pol.	Liehr 1916
	4x	56	?	Langlet & Söderberg 1927, Lohammar v Löve 1942
	an.	64	Fr.	Guignard 1897
	5x	70	Bangl.	Hossain et al. 2007
	6x	84	Fr.?, ČR	Lubimenko & Maige 1907, Langlet & Söderberg 1927, Tomšovic 1988
	an.	96	Něm.	Strasburger 1900
	an.	105	Švéd.	Ehrenberg 1945
	8x	112	Švéd.	Langlet 1936
	an.	160	?	Gupta 1980
<i>N. candida</i>	an.	ca. 80	?	Lohammar in Löve 1942
	8x	112	ČR	Tomšovic 1988
	an.	160	?	Lohammar 1942 v Gupta 1980, Tomšovic 1988

***Nymphaea candida* C. PRESL – leknín bělostný**

– Synonyma: *Nymphaea biradiata* SOMMER. – *N. semiaperta* KLINGGR. – *N. kosteletzkyi* PALLIARDI. – *N. alba* var. *oocarpa* CASPARY. – *N. alba* subsp. *candida* (J. PRESL) ČELAK. – *Castalia candida* (J. PRESL) SCHNIZ et THELL. – *Nymphaea radiata* BERCHT. Et OPIZ (Tomšovic 1988).

Leknín bělostný je v mnoha ohledech velmi podobný leknínu bílému, k němuž byl dříve řazen jako poddruh. Jako samostatný druh ho odlišil Karel Bořivoj Presl a popsal jej ve společných publikacích s bratrem Janem Svatoplukem, poprvé v Rostlináři (Presl 1823), jehož první sešit však vyšel již r. 1921, o rok později byl publikován latinský popis (Presl & Presl 1922). V prvním publikaci není uvedena typová lokalita, ani umístění herbářové položky, je zde pouze vyobrazení bez dalších údajů. Conard (1905) píše, že *locus classicus* druhu se nachází nedaleko Nových Hradů v rybníce Vyhlídky, a leptotyp odsud do vídeňského herbáře *Flora exsiccata austro-hungarica* pod číslem 1282 uložil Topitz⁷.

Podle Preslova popisu by se měl leknín bělostný od leknínu bílého lišit především znaky na pestíku. Tvar semeníku je popsán jako vejčité-kuželovitý, nahoře vybihající v bliznu s 8 paprsky, narozdíl od leknínu bílého, kde paprsků bývá údajně 16. V současnosti není možné totožnost leknínu ověřit na typové lokalitě, neboť podle všeho zanikla (nedávné revize A. Vydrové v Novohradském

⁷ Zajímavostí je, že Topitzův německý popis lokality „in stagno Egersee ad padum Sonnberg prope urbam Gratzen“ (Conard 1905) byl roku 1967 přepsán F. Radicsem jako Egersee u Gratzu, což vedlo jistě nejen Durnikina (Durnikin 2003) k představě, že se jedná o lokalitu ve Štýrsku. Odkud však pocházela připojená informace o uložení typové položky v Praze (Durnikin 2003, bez upřesnění herbáře) již není jasné. Z pražských herbářových sbírek Univerzity Karlovy v Praze (PRC) byly podle ústního sdělení (M. Štefánek) položky leknínů zapůjčeny do Ruska, odkud se již nevrátily.

podhůří lekníny na dané lokalitě nepotvrdily; Vydrová & Grulich 2010). Totožnost druhu však přibližuje kresba v příslušném dílu Rostlináře (Presl 1823, viz **obrázek 6**).

Oddenek je uzlovitý či kyjovitý, zvenčí černohnědý, zevnitř bílý, moučnatý a ze stran na něm vyrůstá světle hnědé vlášení. Starší oddenek je šikmo plazivý (navzdory tomuto Preslovu popisu je v Rostlináři vyobrazen horizontálně) a má přes půl metru.

Preslův popis pokračuje následovně: listy dlouhé až 30 cm a 23 cm široké s okrouhlými konci laloků, které jsou celokrajné, zřídka mělce vykrajované nebo zvlněné. Květ má v průměru přibližně 10 cm, korunních lístků je asi 20, tvaru podlouhle kopinatého, ty největší s 9 žilkami. Tyčinek je přibližně 70 a vystupují nad korunní plátky. Nitky jsou kopinaté, dlouze zakončené a vnitřní jsou užší (čárkovitě kopinaté). Semeník je vysoký skoro 3 cm a v nejširším místě 2 cm široký. Zhruba přes třetinu výšky je semeník pokryt okvětim a tyčinkami. Štítovitá blizna je vprostřed mělce prohloubená a odtud vyrůstá medonosný výběžek (Presl 1823).

Mezi typickými znaky leknínu bělostného se často uvádí zesponu načervenalé listy se sbíhavými žilkami laloků (např. Nowak & al. 2010), a kopinaté nitky vnitřních tyčinek (Tomšovic 1988 aj.). Poměr šířky nitky a prašníku nejvnitřnějších tyčinek, který jako určovací znak prosazovali Muntendam & al. (1996; 1,5 ×), je podle jiných (např. Wayda 2000) zavádějící nebo ne vždy zřetelný. Mezi dříve používané znaky patří počet bliznových laloků, který nyní považují za nejlepší determinální znak Nowak & al. (2010). U leknínu bělostného naměřili bliznových zubů (7) – 9,29 – (12), kde nejčastější hodnota je, ve shodě s Preslem (1823), 8. Také podle většiny ostatních autorů je zubů méně než 15, ale např. podle Hříbala až 26 (Hříbal 1985). Vedle počtu plodolistů označili Nowak & al. (2010) za nejlepší znaky pro určování v terénu průměr blizny, který je u *N. candida* jen (4) – 5,87 – (13) mm, a šířku květu: (4) – 5,95 – (8,5) cm. Ovšem nejvýrazněji se podle nich druhy odlišují velikostí pylového zrna.

U leknínu bělostného byl pozorován bakulátní (Ansari 2005), verukátní (Volkova & Shipunov 2007) i gemátní nebo smíšený (Muntendam 1996) povrch pylové exiny a zonisulkátní pylová apertura, v rámci rodu považovaná za nejprimitivnější, s prstencem (zonisulkus) na distální straně zrna, přičemž jeho povrch vypadá na každé straně jinak (Walker 1974).

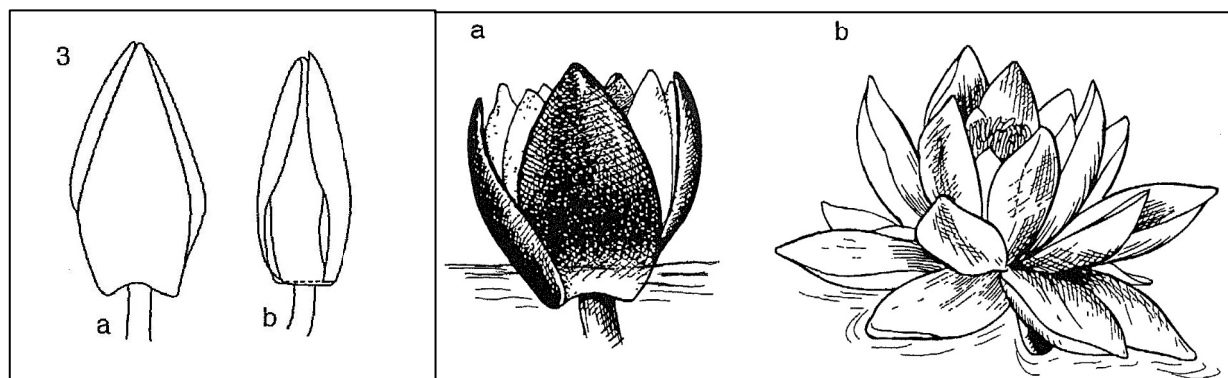
I zde se ale názory různí. Navzdory tvrzení (např. Muntendam & al. 1996, Wayda 2000, Nowak & al. 2010), že lze druh spolehlivě odlišit na základě velikosti, nebo také tvaru a exinové skulptury pylových zrn (**obrázek 2**), Volkova & Shipunov (2007) došli k závěru, že se významně neliší charakteristikami na exině (**obrázek 3**) a rovněž zjistili vysokou vnitropopulační variabilitu a překryv mezi taxony ve velikosti pylu, především současný výskyt malých i velkých pylových zrn u leknínu bělostného. Pylová velikost patrně souvisí s ploidním stupněm, což by vysvětlovalo výskyt celkově větších pylových zrn u *N. candida*, pozorovaný už Conardem (1905).

Muntendam & al. (1996) došli k závěru, že kvůli značnému překryvu hodnot k určení druhu nepostačí jeden znak, je nutné sledovat soubor znaků, a jako nejvhodnější uvádějí šířku kališního lístku, vnitřních tyčinek, blizny, šířku a výšku bliznového výčnělku, velikost pylu, délku jednotlivých typů výběžků exiny a další znaky včetně binárních a poměrových. Kdekoli rostly oba druhy v blízkosti, objevily se intermediární morfotypy, které se často vyznačovaly heterozním efektem, kdy především velikost květů značně převyšovala hodnoty obou druhů. Velikost rostliny závisí na prostředí a věku, podobně počty květních částí pozitivně korelují s celkovou velikostí (Muntendam & al. 1996).



Obr. 6 – Původní zobrazení leknínu bělostného v Rostlináři. 1 – celá rostlina (zmenšená) 2 – list a květ, 3 – tyčinka, 4 – semeník, 5 – zralý plod, 6 – rozříznutý plod, 7 – semeno (skutečná velikost), 8 – semeno (zvětšené), 9 – jádro semene, 10 – rozříznuté semeno, 11 – embryo. (Presl 1823)

Muntendam & al. (1996) pozorovali u 95 % květů *N. candida* z bočního pohledu prohnutou květní bázi, viz **obrázek 7**. Často uváděné neúplné otevření květů může představovat pouze stadium v jejich vývinu (Tomšovic 1988), avšak práce Muntendam & al. (1996) a Nowak et al. (2010) potvrdily, že šálkovitý tvar květu se vztyčenými kališními lístky a jeho lehce ponořená poloha na vodní hladině jsou více než z 90% typické pro *N. candida*.



Obr. 7 – Boční pohled na zavřené a otevřené plovoucí květy a) *N. candida*, b) *N. alba*. (Muntendam & al. 1996)

Mezi méně uváděnými znaky je postavení tyčinek, které pozoroval Van der Velde (1986 ex Muntendam 1996). Nitky *N. alba* jsou ostře ohnuté nad bliznu, zatímco u *N. candida* jsou ohnuté jen slabě. Leknínu bělostnému se někdy přičítá, že jeho semeník není celý pokryt tyčinkami (např. Conard 1905), ale Muntendam & al. (1996) tento znak neuznávají, jelikož se u nizozemských zástupců nevyskytuje, a domnívají se, že mohlo dojít k záměně s *N. alba* subsp. *occidentalis*, která by tento znak měla mít (Heslop-Harrison 1955). Pozoruhodný je pak nález, že květy *N. candida* jsou méně barevné pod UV světlem, což je činí méně přitažlivé pro opylovače, především včely a pestřenky (Giesen & Van der Velde 1983).

Jedná se o allopolyploidní taxon vzniklý hybridizací druhů *N. alba* a *N. tetragona* v severovýchodní Evropě a přilehlé Asii nejspíše v průběhu pleistocenních klimatických výkyvů, které umožnily propojení dříve oddělených habitatů. Ke křížení těchto druhů a následné polyploidizaci došlo alespoň dvakrát, v různých částech překryvu areálů, ale pouze jedna linie se rozšířila opět do severní a střední Evropy, kde se dnes vyskytuje společně s mateřským leknínem bílým, ale její rozšíření končí směrem na jih i na západ dříve.

Na leknínu bělostném můžeme pozorovat přechod znaků mezi rodičovskými taxony (Volkova & Shipunov 2007). Od severského druhu *N. tetragona* má menší vzrůst, kuželovitý tvar semeníku, a především čtyřbokou bázi květu, která je hranatá i z bočního pohledu (**obrázek 7**).

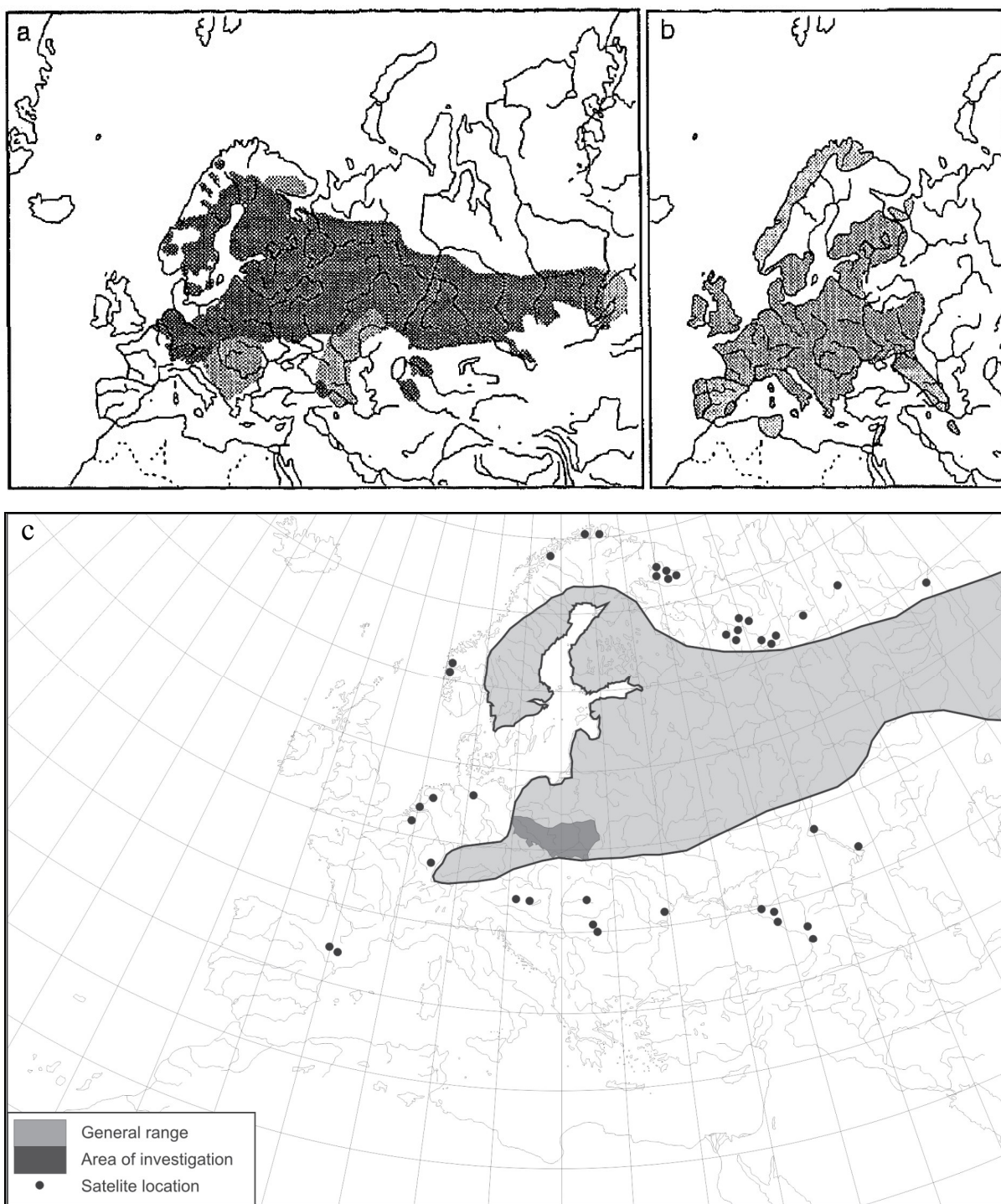
Druh je velmi proměnlivý, především ve tvaru a barvě plodu a v barvě bliznového terče. Vyskytují se různé kombinace těchto znaků, které nemají taxonomickou hodnotu, obdobně jako u *N. alba*. Stále se potvrzuje široká proměnlivost znaků, která měla kdysi za následek množství synonymních označení (např. Conard 1905), a která nás též vede k podezření na probíhající hybridizaci.

Západní hranice druhu sahá do Německa, kde víceméně sleduje tok Rýnu, a v západní části země se vyskytuje pouze v horách (Meusel 1965, Muntendam & al. 1996, Wayda 2000). Pravděpodobně roste i v Holandsku a Belgii. Ve Skandinávii mají *N. alba* a *N. candida* téměř vikariantní rozšíření (Muntendam & al. 1996) a překrývají se jen ve středním Švédsku a v menší míře na západním pobřeží Švédska a Norska. Už Conard (1905) se domníval, že zde existuje jakási klina. *N. candida* obecně zasahuje severněji (68° 75' s. š.), ale izolované lokality *N. alba* se vyskytují ještě dál (69°12' s. š.; **obrázek 4**; Hultén 1950, Muntendam 1996). Za jižní maximum souvislého areálu v Evropě se na jistou dobu považovalo severní Polsko (Wayda 2000), ale následné místní studie ukázaly, že se leknín vyskytuje i na jihu země a v celé polské nížině v podstatě bez přerušení (Nowak & Nowak 2007, Nowak et al. 2010, Ejankowski & Małysz 2011). Vedle toho je druh běžně znám z České republiky, Bavorska, Salcburska, Dolního Rakouska a Karpat, na jihovýchodě pak i ze Zakavkazska. Muntendam & al. (1996) jeho výskyt uvádí dokonce ve východní Francii, Švýcarsku a na Balkáně, ale v jižnějších oblastech bude výskyt pravděpodobně jen ostrůvkovitý (Nowak et al. 2010). Hranice rozšíření na východě se táhne přes Kazachstán a jihozápadní Sibiř až k Himálaji a po Bajkal (Conard 1905, Heslop-Harrison 1955, Tomšovic 1988), druh je uveden i v čínské flóře (Fu & Wiersema 2001). Výškového maxima dosahuje leknín bělostný ve Švýcarsku (1660 m) a v Kašmíru (1500 m; Conard 1905).

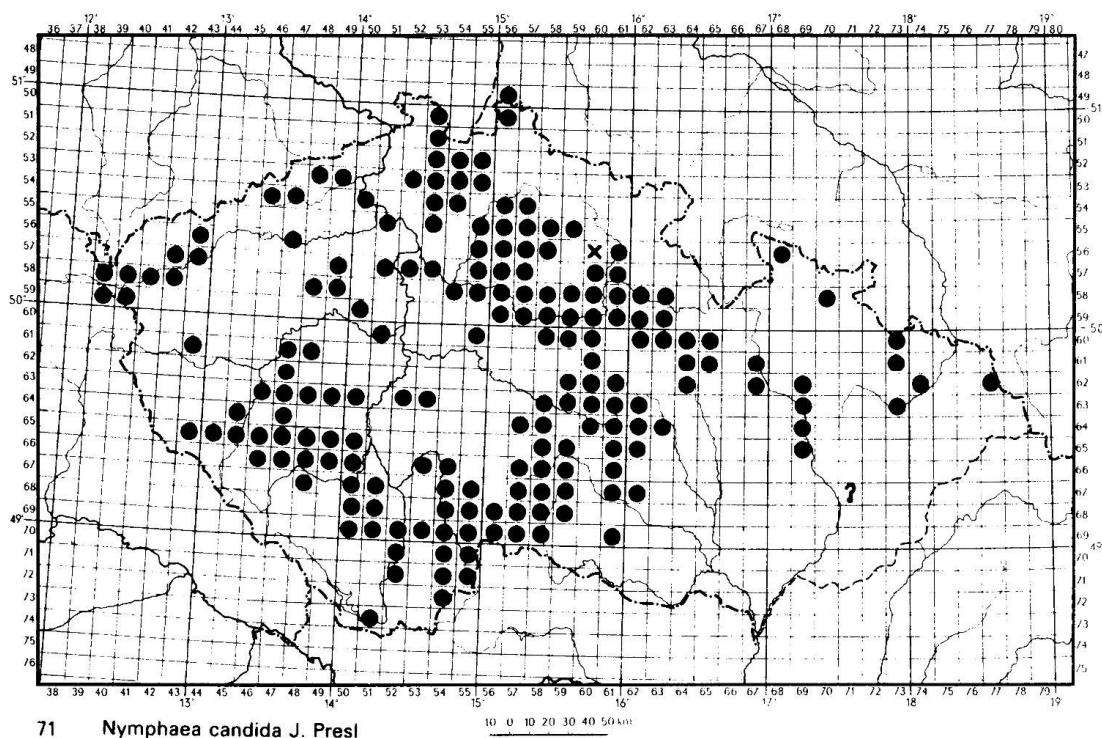
Rozšíření bylo doloženo v celém území České republiky kromě jihovýchodní Moravy (kde má patrně jižní hranice ± spojitého areálu), převážně v mezofytiku, méně v termofytiku a v oreofytiku jen ojediněle a okrajově (maximum v Pláničce u Hořic na Šumavě – 750 m n. m.). Na rozdíl od leknínu bílého má těžiště výskytu v suprakolinním a submontánním stupni (nejhojněji v rybníčních pánvích). V planárním a kolinním stupni se nachází řídkěji, a to hlavně v údolích velkých řek (výškové minimum představují Kly u Mělníka – 159 m; Tomšovic 1988). Přimo z Labe nebo přilehlých jezer byl druh popsán (Presl 1823). Jeho výskyt Presl uvádí na celém českém území. Kromě labského okolí (Obříství, Kly, Brandýs, Poděbrady, Litoměřice, Přelouč, Roudnice) také v pardubických rybnících, na Čáslavsku, u Smiřic, u Bohdanče, u Veltrus, mezi Hrotovem a Citovem, u Vidimi, u Rupova na Plzeňsku, u Vysokého Chlumce, u Višňobrodu, okolo Tučap na Táborsku, u Přehorova, Soběslavi, Veselého a Zlaté Koruny na Budějovicku, u Blatné, u Falkenavy, Ostrovů a Mostova na Loketsku. Mnohé z těchto lokalit se již později v literatuře nevyskytují. Lokality, na kterých byl druh spatřen po roce 1945 jsou shrnuty na **obrázku 8**.

Výškový rozdíl oproti *N. alba* je pravděpodobně ovlivněn nižší snášenlivostí k eutrofizaci a znečištění. Leknín bělostný roste hojně v čistějších stojatých vodách na hranici mezo- a eutrofního stupně, většinou s vrstvou humózního nebo rašelinného bahna, zřídka pak na vyloženě minerálním podkladu (Szańkowski & Kłosowski 1999). Může se vyskytovat dokonce ve vodách oligotrofních, v živinami chudých lesních mokřadech není ničím neobvyklým, a i celkově roste ve vodách nižšího stupně úživnosti než *N. alba* (Tomšovic 1988, Nowak et al. 2010, Ejankowski & Małysz 2011). Roste nejčastěji v hloubce 70 – 170 cm. Odlišný je výskyt v Polabí v mrtvých ramenech převážně eutrofního charakteru a zcela atypický je výskyt přímo ve středním Labi (Tomšovic 1988).

V Polsku byl druh řazen v červeném seznamu mezi zranitelné, neboť herbářové doklady z většiny území patrně nepřečkaly druhou světovou válku a výskyt ve středním a jižním Polsku byl na okamžik znevěrohodněn. Nově se však zjišťilo, že se zde leknín vyskytuje poměrně souvisle, populace jsou stabilní a podle IUCN neodpovídá parametrům zranitelných taxonů (Nowak & Nowak 2007, Nowak et al. 2010). V Německu je řazen mezi ohrožené, a v Bavorsku dokonce mezi kriticky ohrožené taxony (Korneck et al. 1996). Procházka (2001) jej rovněž řadí mezi kriticky ohrožené rostliny české flóry.



Obr. 4 – Rozšíření a) *N. candida*; b) *N. alba* (Muntendam & al. 1996), c) *N. candida* (Nowak & al. 2010).



Obr. 8 – Rozšíření *N. candida* v České republice. (Slavík 1986)

U nás se u leknínu bělostného uvádí chromozomové číslo $2n=112$, to by odpovídalo nejspíše oktoploidní úrovni, jinde také 160 (aneuploid; Gupta 1980, Tomšovic 1988; *tabulka 2*). Mohlo by se ale také jednat o aneuploidní formu hybridu, vzniklého z redukované gamety leknínu bílého ($n=42$) a neredukované gamety l. bělostného ($2n=112$). Aneuploidní formy dokumentoval hlavně Lohammar (1942 in Gupta 1980). Oktoploidní *N. candida* patrně vznikla kombinací hexaploidní *N. alba* a diploidní *N. tetragona* (Diao et al. 2006, Volkova et al. 2010).

2.2 Ohrožení a druhová ochrana

N. alba i *N. candida* jsou zákonem chráněné druhy (§2) řazené do kategorie kriticky ohrožených taxonů (C1; Procházka 2001), které v přírodě rychle mizí následkem ztráty míst vhodných k růstu, jejich znečišťování a vytlačování kompetičně zdatnějším stulíkem žlutým. Přírozená stanoviště leknínů jsou v posledních desetiletích vystavena mnohým negativním vlivům. Přímé ohrožení habitatů spočívá například v narušení vodního režimu a následném vyschnutí lokality, eutrofizaci, úpravách říčních niv, regulaci toků, nevhodném rybničním hospodaření, vyhrnování a používání herbicidů na vodní rostliny. Například činnost husté kapří obsádky je pro rostliny silně omezujícím faktorem (Háková et al. 2003).

N. alba se vyskytuje i v hypertrofních vodách, ale pro druh *N. candida* eutrofizace a následné zarůstání mělkých vodních nádrží představují v posledních desetiletích vážnou hrozbu (Ejankowski & Małysz 2011).

Udávaná rozšíření, které jsou dnes k dispozici, byla zpracovávána často na základě herbářových dokladů, popř. starších terénních výzkumů a na mnohých takových lokalitách se v současnosti lekníny již nevyskytují (Tomšovic 1988, Kabátová 2009).

K ohrožení může vést i jiný faktor. V umělých nádržích (zahradní jezírka, návesní rybníky) se pěstují kromě obou domácích druhů i další bělokvěté a zimovzdorné lekníny. Jedná se převážně o hybridogenní kultivary, většinou neznámého rodičovského původu (Tomšovic 1988). Následně dochází k introdukcím a zplaňování odrůd do dalších umělých i přirozených vodních stanovišť, kde jsou nezřídka omylem považovány za rostliny původní, čemuž odpovídá i věnovaná ochranná péče.

2.3 Šlechtění leknínů: křížení a umělý výběr

Lekníny jsou již staletí obdivovány pro své bohaté různobarevné květy a listy vznešeně splývající na hladině. Tropicke lekníny jsou různorodější, barevně i tvarově výraznější. Mívají větší listy se zvlněnými a zubatými okraji, které mohou být živorodé, kvetou déle a silněji voní, avšak nevydrží zimu v našich zeměpisných délkách. V průběhu 19. a 20. století vzniklo několik stovek nových kultivarů (souhrnně nazývaných *N. hybrida*, Hříbal 1985), a to především mezidruhovým křížením za výrazného přispění zimovzdorných druhů, ale křížení se příliš nedokumentovalo (Conard 1905). Naprostou většinu má na kontě věhlasný francouzský šlechtitel a botanik konce 19. století Latour-Marliac, který se se svými postupy nijak nešířil, spíše je střežil jako výrobní tajemství. Tak jako u všech vodních rostlin, je u leknínů těžké rozpoznat hybridy kvůli vysoké fenotypové plasticitě (Les & Philbrick 1993), a tak pro botaniky zůstávala umělá křížení dlouho hádankou, hodnou prostého estetického obdivu. Pro odhalení rodičovských kombinací by jistě bylo možné použít některé genetické molekulární metody, to by se však jednalo o náplň přinejmenším další diplomové práce. U dalších kultivarů šlo spíše o umělou selekci než přímo o křížení (Conard 1905).

Původní zahradní odrůdy, mnohdy staré přes 100 let, se stále udržují v botanických sbírkách (Průhonice u Prahy; Collection Nationale de *Nymphaea* chez Latour-Marliac ve Francii) i v běžných prodejních sortimentech, kde se v poslední době začínají vedle toho prosazovat moderní americká šlechtění. Semena nejsou mnoha hybridy tvořena pravidelně (botanické druhy je tvoří pravidelněji), k distribuci proto slouží téměř výhradně vegetativní odnože oddenků.

Pěstované lekníny byly zevrubně popsány znalým pěstitelům doktorem Vladimírem Hříbalem (1985 aj.), který vyčerpávajícím způsobem popisuje jejich rozmanitost, nároky, růst i ekologii, včetně vlastních morfologických měření. Většina leknínů které se pěstují v našich zeměpisných šířkách (přes 90%) dokáže přežít mráz díky vytrvalému oddenku. Oddenky jsou různých typů co do tvaru a barvy a zajímavé je, že se u Marliacových hybridů uvádí bledý, vzpřímeně rostoucí typ oddenku, ze kterého vyrůstá několik nahloučených listových růžic, tedy tentýž typ, jaký je znám u *N. candida*, *N. fennica*⁸ a

⁸ Pozn. *Nymphaea fennica* Mela je synonymem *N. tetragona* Georgi (Wiersema 1996).

jí příbuzné *N. 'Pygmaea'*, zatímco *N. alba* má oddenek černý a plazivý, který bývá i 2 m dlouhý (Hříbal 1985, Heslop-Harrison 1955). Příbuznost Marliacových leknínů s leknínem bělostným a čtverhranným je však méně pravděpodobná, neboť na jihu nedosahují takového rozšíření jako, údajně často ke šlechtění využívaná, *N. alba* (více v popisu jednotlivých druhů).

V Hříbalově na první pohled zahrádkářské publikaci (Hříbal 1985) lze najít užitečná vědecká data, která vycházejí z měření přibližně 5000 listů. Na nich měřil zejména délku a šířku čepele, neboť si všiml, že se podle jejich poměru (index D/Š) dá rozlišit většina zimovzdorných leknínů. Dalším znakem rozlišujícím druhy, variety a kultivary je poměr délky listového žebra a zářezu mezi laloky (index Ž/Z) a úhel svíraný laloky. Věnoval pozornost rovněž zakončení laloků a listového vrcholu a všiml si, že vrchol bývá u většiny venkovních leknínů mělce vykrojen, ale eliptické a malé listy mívají vrchol spíše zaokrouhlený.

Z pozorování a měření asi 3000 květů vyplývá, že druhy, variety a kultivary se liší také tvarem blizny, výčnělku, i tvarem a hustotou bliznových paprsků (7–48 je velmi široké rozpětí). Kališní lístky bývají různě intenzivně žilkované a u některých kultivarů mohou být jejich špice háčkovitě zakončené (*N. odorata* 'Sulphurea'). „Venkovní“ lekníny se liší od tropických tím, že mají krátké prašníky. Nejspolehlivější metodou jak rozlišovat tvar květu je podle Hříbala poměr délky a šířky vnějších korunních plátků. Podle tzv. korunního indexu D/Š lze poměrně bezpečně určit tvar květu (šálkovitý, miskovitý, hvězdovitý aj.). Velikost květu u venkovních leknínů dosahuje někdy i přes 30 cm (červený 'Charles de Meurville'), ale závisí na mnoha proměnných včetně hloubky vody.

Pěstované lekníny mohou kvést od dubna do října, případně i listopadu. Obvykle rozkvétají mezi 9. a 11. hodinou a zavírají se mezi 15. a 17. hodinou. Nejdříve (v průběhu roku i dne) rozkvétají kultivary odvozené z *N. odorata*, později *N. alba* a *N. candida* a pak *N. tuberosa* a *N. mexicana* a nakonec Marliacovy hybridy. U kultivarů 'Virginalis', 'Fabiola' a 'Pygmaea Alba' se uvádí mimořádně dlouhá doba kvetení. Kultivar 'René Gerard' kvete ještě v říjnu a někdy až do listopadu kvetou odolné kultivary jako 'Charles de Meurville', i když ne tak sytými barvami. Koncem října až v listopadu obvykle přicházejí první mrazy trvající i přes den a listy začnou s konečnou platností odumírat. Nejodolnější a nejvzrůstnější lekníny jsou mezi růžovými, sem patří i 'Gloire de Temple-sur-Lot' a 'Rose Nymphe', které mohou mít květ světlý až bílý.

Nejvýznamnějším botanickým druhem, který byl použit pro vyšlechtění mnoha velmi odolných kříženců, je severoamerická *N. odorata* Aiton (leknín vonný), která taxonomicky společně s *N. tuberosa*⁹ a žlutě kvetoucí *N. mexicana* (jih USA a Mexiko) představuje bazální větev podrodu *N.* subg. *Nymphaea* (Hellquist & al. 2003). Zajímavé je, že Diao & al. (2006) u leknínu vonného našli tři chromozomové rasy. Dvě jsou údajně tetraploidní ($2n = 56$), jedna z nich má obsah jaderné DNA $2C = 4,59 \pm 0,29$ pg, zatímco druhá pouhých $1,5 \pm 0,11$ pg. Našli rovněž triploidní leknín vonný ($2C = 42$) s velikostí genomu $2C = 4,22 \pm 0,2$ pg. Protože v této studii našli značné rozdíly mezi různými druhy, vyvodili z toho, že stupeň ploidie u rodu *Nymphaea* příliš neodpovídá velikosti genomu, ale tyto výsledky by bylo patrně vhodné podrobit dalším kritickým studiím.

Leknín vonný má 5-15 cm široké květy bílé (variety *alba*, *gigantea*, *minor* a *maxima*) nebo narůžovělé barvy (subg. *odorata*, var. *rosea*, var. *caroliniana*) a je charakteristický silnou vůní. Jedná se o druh, který byl roku 1886 dovezen do Anglie a sloužil Marliacovi při křížení s evropskými

⁹ *N. tuberosa* představuje spíše poddruh *N. odorata*, jak ukázala nedávná geneticko- morfologická studie (Woods et al. 2005).

lekniny, především s l. bílým. Od našich druhů se vedle výrazné vůně liší příčně široce eliptickým až okrouhlým tvarem listu, který je na rubu červený, lehce chlupatý a má špičaté hroty listových laloků. Druh má mnoho variet a kultivarů, od *N. odorata* subsp. *tuberosa* s purpurově pruhovanými řapíky a čistě zelenými ruby listů byly odvozeny např. bělokvěté 'Souvenir de Fridolfig' (nebo 'Fridolfig'), 'Maxima', 'Plena', a veliký 'Pöstlingberg'.

Dalším významným druhem je převážně evropská *N. alba*, ze které byla vyšlechtěna například bílá plnokvětá odrůda 'Gloire du Temple' (1913 Marliac), která je menší a může vytvořit až 100 korunních plátků, zatímco *N. alba* jich má běžně méně než 45 (Vaněk & Stodola 1987). Ojedinělý je žlutý kultivar se skvrnitými listy 'Marliacea Chromatella' (1887 Marliac), který vzešel z křížení *N. alba* a žluté *N. mexicana*. Kromě dalších bělokvětých odvozenin *N. alba* existuje velké množství růžových nebo červených. Jedním z nejstarších známých červených druhů je pak botanický leknín divoce rostoucí v chladných švédských vodách *N. alba* var. *rubra* (syn. var. *rosea*), který rozkvétá růžově a postupně tmavne až do červené, podobně jako *N. odorata* var. *rosea*. Například Marliacovy kultivary 'Laydekeri' vznikly patrně křížením *N. alba* var. *rubra* a *N. tetragona*.

N. tetragona Georgi je botanický druh, který ochotně roste ze semen a tvoří mnoho kultivarů a variet. Pěstuje se například trpasličí kultivar se žlutými květy zvaný 'Helvola', který představuje jedno z prvních šlechtění firmy Marliac (1879). 'Pygmaea' (*N. pygmaea* Aiton) je trpasličí zimovzdorný leknín buďto hybridního původu mezi *N. tetragona* a *N. alba* (nepochází od Marliaca), nebo se jedná jen o varietu *N. tetragona*. *N. pygmaea* jakožto druh je ale synonymem *N. tetragona* (Hříbal 1985).

Seznamy pěstovaných odrůd jsou přehledně shrnuty např. v pracích Hříbal 1985, Vaněk & Stodola 1987 a na webových stránkách věnovaných Marliacově sbírce (<http://www.latour-marliac.com/Collection-Nationale-de-Nymphaea.pdf>)

Pěstované odrůdy jsou zpravidla výrazné, dobře a dlouho kvetoucí. Dobře přečkávají zimu a některé z nich se bez zásahu velmi rychle rozrůstají a jsou schopny během krátké doby přerůst v případě menších vodních nádrží celou jejich plochu. V takových případech není pochyb, že při kontaktu s původním druhem by nepůvodní odrůda dominovala, a po čase ho vytlačila zcela, podobně jako lze pozorovat u stulíku žlutého.

2.4 Hybridizace a polyploidie

Přirozené křížení je v rostlinné říši jedním z nejvýznamnějších evolučních mechanismů. Hybridizací se zvyšuje vnitrodruhová genetická variabilita, která může pozitivním způsobem obohacovat stávající genofond a vést ke vzniku nových ekotypů či taxonů (Anderson & Stebbins 1954, Rieseberg 1997). Hybridogenní druhy vznikají za předpokladu, že jsou hybridní jedinci plodní, jsou v prostředí úspěšná a zároveň by měly být vytvořeny reprodukční bariéry k rodičovským taxonům.

V opačném případě dochází ke **zpětné či introgresivní** (opakované zpětné) hybridizaci, která mívá za následek erozi původního genofondu rodičovského taxonu, a ten se tak může stát ohroženým, neboť zanikají genové kombinace vhodně adaptované v daném prostředí. I samotné stírání mezidruhových rozdílu může vést až k extinkci taxonu. Eroze genofondu je závažným problémem

zejména u druhů vzácných (Rhymer et Simberloff 1996). Z naší květeny uveďme za příklad hybridizaci silně ohrožené třešně křovité (*Prunus fruticosa*) s pěstovanými třešněmi (*P. cerasus*) za vzniku plodných hybridů (Musilová 2010), velmi snadno se kříží také vzácná tučnice česká (*Pinguicula bohemica*) s běžně rostoucí tučnicí obecnou (*P. vulgaris*; Procházka 2001) nebo ohrožený český endemitní rožec *Cerastium alsinifolium* s druhem *Cerastium arvense* (Vít & al. 2009). Přímo u leknínů, a to u *Nymphaea* subg. *Brachyceras*, je znám případ, kdy zavlečený jihoafrický druh způsobil v Thajsku vícesměrnou introgresivní hybridizaci, která ohrožuje jediného thajského ve dne kvetoucího zástupce podrodu (Chomchalow & Chansilpa 2007).

Hybridizace má často za následek **segregační nepravidelnosti v meiozi** (Gupta 1980). Sterilita hybridů je nejčastěji způsobena nepravidelným párováním chromozomů při gametogenezi, kdy se setkávají chromozomové sádky dvou různých druhů, které už mohou být značně odlišné a vznikají, u leknínů často pozorované, neredukované nebo aberantní gamety (Gupta 1980). V případě, že hybridy netvoří potomstvo, mohou se na lokalitě mnoho let udržovat ve sterilním stavu a dokonce se i klonálně šířit (Les & Philbrick 1993).

Problémy s meiotickým párováním nestejných rodičovských sádek hybridy často vyřeší jejich celkovým znásobením – **polyploidizací**, která jim může otevřít nové možnosti (viz např. přehledový článek Otto & Whitton 2000) a dokonce je zvýhodnit před původními taxony. Krytosemenné rostliny podstoupily časné během evoluce dvě celogenomové duplikace, pravděpodobně klíčové pro vznik mnoha důležitých vývojových a regulačních genů a diverzifikaci krytosemenných (Soltis & Soltis 2000, Bodt et al. 2005, Soltis et al. 2008). Rovněž při speciaci leknínů hrála polyploidizace dominantní roli (Gupta 1978), což je patrné ze zastoupení polyploidů vyššího než 85%.

Zástupci představují rozličné euploidní formy od 2x až po 16x, mezi nimiž je nejvyšší frekvence hexaploidů. Vzhledem k polytopickému vzniku jsou některé hexaploidní druhy plodné, zatímco jiné jsou sterilní (Gupta 1980). V polyploidních genomech, nejen u leknínů, často dále dochází k **chromozomovým přestavbám** a vzniku aneuploidů (Gupta 1978, 1980, Hossain et al. 2007), což jsou opět faktory pro saltační (skokovou, náhlou) speciaci (Soltis & Soltis 2000). Polyploidii vyšších řádů se tak běžně vyznačují variabilitou chromozomálních čísel, což je způsobeno převážně průběhem meioze. **Nepravidelnosti v meioze** polyploidů mají jiný charakter než nepravidelnosti u hybridů, protože zahrnují především multivalentní konfigurace a jejich následnou nesynchronní segregaci, způsobující údajný vznik nesymetrických gamet v nezvyklých tetradách či polyádách (Gupta 1978).

Široká distribuce rodu je patrně důsledkem těchto jevů, o nichž je známo, že mohou zvyšovat toleranci a umožňovat taxonům přežít v extrémním klimatu (Gupta 1978, souhrnně Briggs & Walters 2001).

Vegetativní reprodukce, která u leknínů pravděpodobně převládá (Heslop-Harrison 1955), představuje významný evoluční katalyzátor, protože umožňuje udržení netypických cytotypových variant (Les & Philbrick 1993). Klonalita dává navíc šanci somatické polyploidizaci, která má ale menší uplatnění (Gupta 1980).

Les & Philbrick (1993) potvrdili předpoklad, že se lekníny kříží jen v rámci podrodů (v Maďarsku Poczai & al. 2011), ale i to bylo později vyvráceno umělým zkřížením zástupců podrodů *Anecphyta* a *Brachyceras* (Les & al. 2004), což je v souladu s objeveným parafyletismem rodu *Nymphaea* (Borsch & al. 2007). Úspěšně byli zkříženi i zástupci podrodů *Nymphaea* a *Brachyceras* za vzniku prvního modře kvetoucího odolného kultivaru (Songpanich & Hongtrakul 2010).

V podrodě *Nymphaea* subg. *Nymphaea* obecně nejsou příliš vyvinuty vnitřní **izolační mechanismy** a po překlenutí izolace geografické často dochází ke genovému toku napříč taxonomickými jednotkami. Ke spontánnímu křížení mezi druhy dochází v Eurasii i v Severní Americe, kde se bělokvětí zástupci podrodu *Nymphaea* přirozeně vyskytují.

V Severní Americe probíhá spontánní hybridizace prakticky kdekoli, kde se setkávají dva druhy (Hellquist et al. 2003). Eurasijské *N. alba* a *N. candida* mají sesterskou větev, tvořenou třemi trpasličími druhy Severní Ameriky a Asie – *N. tetragona*, *N. pygmaea* a *N. leibergii*¹⁰. Kříženci byli pozorováni na překryvu jihovýchodní části areálu *N. leibegerii* a severozápadní částí amerického areálu *N. tetragona*. Rovněž evolučně bazální druhy temperátní větve *N. mexicana* a *N. odorata* se běžně kříží na jihu Spojených států a v Mexiku, zatímco na severu se *N. odorata* kříží i s *N. tuberosa* za občasného vzniku plodných hybridních populací. *N. leibergii* se dokonce kříží i s *N. odorata*, a *N. tetragona* na jihovýchodním konci svého amerického subareálu s *N. tuberosa*¹¹. Všechny hybridy se zdají být sterilní – netvoří žádná semena, přestože bohatě kvetou. Tři populace hybridů *N. leibergii* × *odorata*, které se našly ve střední Kanadě, mají fertilní pyl, tvoří plody a jejich semena jsou větší než jaká mají ostatní zástupci podrodu (vyjma *N. mexicana*, která sem nezasahuje), mohlo by se jednat o allopolyploidy. Jelikož jsou tyto hybridogenní populace plodné a morfologicky jedinečné, pravděpodobně budou popsány jako samostatný druh (Hellquist 2003).

Dnes se již hybridizace více zkoumá pomocí účinných biosystematických metod, a ne jen pozorováním morfologicky nezařaditelných jedinců a populací (tak byla např. pomocí ITS¹² odhalena hybridizace a introgrese mezi *N. alba* var. *rubra* a *N. rubra* v Indii; Dkhar & al. 2012). Eurasijské lekníny se v době poledové rychle šířily vznikajícími vodními sítěmi z jižní Evropy k severu a tyto migrace vyústily v obnovení či zcela nové vytvoření kontaktů a hybridizace mezi migrujícími liniemi. Lekníny severovýchodní Evropy byly proto zkoumány pomocí AFLP (amplified fragment length polymorphism), ITS, chloroplastových sekvencí a měření obsahu jaderného genomu a výsledky této studie definitivně doložily hybridní a polyploidní (alopolyploidní) původ *N. candida* a dokumentují také směr a počet nezávislých hybridizací, které k němu vedly (Volkova & al. 2010).

Vidíme tedy, že tato skupina bazálních krytosemenných rostlin je velmi vhodná pro sledování celé palety mikroevolučních fenoménů.

***Nymphaea* × *borealis* Camus**

Rostliny, které mají intermediální morfologii mezi typickými *N. candida* a *N. alba*, se obvykle považují za hybridy *N. alba* × *N. candida* = *N. × borealis* Camus (**leknín severní**) (Volkova & Shipunov 2007). Ovšem jak se v praxi ukazuje, výskyt takových jedinců je spíše vzácností, nebo se týká pouze jednotlivých znaků, jako je např. společná přítomnost páskovitých a rozšířených tyčinek

¹⁰ *N. pygmaea* se popisem často neliší od *N. tetragona*, což vede někdy k používání obou názvů jako synonym (Wiersema 1996). V pojetí Hellquista et al. (2003) představuje východoasijská *N. pygmaea* molekulárně bazální druh k ostatním dvěma, ikdyž morfologicky je bližší *N. leibergii*, endemické na severu Severní Ameriky (Borsch et al. 2002).

¹¹ Nověji *N. odorata* subsp. *tuberosa* (Woods et al. 2005).

¹² Internal Transcribed Spacers

v témž květu (Tomšovic 1988). Častěji se najdou jedinci se smíšenými znaky (Ejankowski & Małysz 2011). Pro zajímavost, *Nymphaea candida* se zpětně kříží nejen s mateřským druhem *N. alba*, ale v Rusku i s otcovským druhem *N. tetragona* za vzniku hybridu *N. × sundviki* Hiitonen¹³, který se morfologicky podobá zhruba stejně oběma rodičovským druhům (Volkova & Shipunov 2007).

Podle různých sledování má kříženec *N. alba × candida* výrazně oslabenou produkci semen či obecně nižší plodnost (Conard 1905, Heslop-Harrison 1955). Velikost hybridních semen byla shledána jako značně variabilní a ke klíčení docházelo pouze u semen střední a větší velikosti (Conard 1905). Volkova & Shipunov (2007) zkoumali pylovou fertilitu rostlin s neobvyklými kombinacemi morfologických znaků, a shledali ji téměř vždy značně sníženou.

Vnitrodruhová hybridizace různých v Evropě rozlišených morfotypů *N. alba* nemá za následek snížení fertility pylu a tvorby semen, spíše naopak. Zato křížení *N. alba* a *N. candida* podle Casparyho vede k takovému snížení vždy, a to přetrvává i při křížení zpětném. Umělým i přírodním křížením těchto dvou druhů vznikají semena různé velikosti, přičemž malá semena neklíčí a celkový průměrný počet semen na plod je u hybridů jen 65 oproti normě 580. Na základě těchto svých křížicích pokusů Caspary uznal druhovou samostatnost *N. candida*. Hybridy s *N. alba*, které pozoroval ve Skandinávii, se vedle nižší fertility opět vyznačovaly intermediární morfologií (Caspary 1789 in Heslop-Harrison 1955).

Jako *N. × borealis* byli označeni jedinci se smíšenými znaky *N. alba* a *N. candida*, nalezení v ruském regionu Tver. Měli páskovité nitky, žlutou plochou bliznu a zároveň kuželovitý bliznový výčnělek, a nadto tvořili málo pylu a tento pyl byl téměř sterilní (fertilita z 5%; Volkova & Shipunov 2007). Intermediární rostliny mezi *N. alba* a *N. candida* nalezené v Pomořansku, Braniborsku (Ascherson & Graebner 1898–1899 in Heslop-Harrison 1955) a v někdejším Prusku (Caspary 1789 in Heslop-Harrison 1955) byly vzhledem ke snížené plodnosti rovněž považované za hybridy.

Přestože je většina hybridů temperátních leknínů sterilní, někteří produkují normální pyl a semena (Hellquist et al. 2003). O výskytu leknínu severního je zmínka také v práci Gąbka & al. (2004), zkoumající vegetaci jezer ve Wielkopolske. PH vody se zde pohybuje mezi 4.8–6, což v kontrastu s kyselými jezery v Pomořanském regionu způsobuje dominanci nymhaeidů a kromě *N. × borealis* se zde vyskytuje rovněž *N. alba*. Podobné výsledky přinesla studie ve východním Polsku (Ejankowski & Małysz 2011), kde bylo nalezeno celé kontinuum morfotypů mezi *N. alba* a *N. candida* a hybrid *N. × borealis* je tu údajně početný. Vyskytuje se běžně v celé studované oblasti Západního Polesí, skoro tak často jako *N. candida*, která se však váže na humická jezera, především na východě území. Oproti tomu *N. alba* je zde celkově vzácná, ale vyskytuje se stejně jako *N. × borealis* v širším rozpětí tvrdosti a úživnosti vody (Szańkowski & Kłosowski 1999). Ejankowski a Małysz však připouštějí, že se v případě domnělého hybridu může jednat jen o část široké vnitrodruhové variability leknínu bílého či bělostného. Intermediární jedinci, poukazující na hybridizaci, nalezení v jižním Polsku (Nowak & Nowak 2007, Nowak & al. 2010) budou zřejmě brzy zahrnuti do plánované molekulární studie. Byly na nich měřeny znaky, které podle Nowaka nejlépe odlišují leknín bělostný od leknínu bílého, viz **tabulka 3**:

¹³ Conard (1905) zmiňuje také křížence *N. tetragona × alba = N. pygmea alba* Marl., *N. alba × candida = N. alba candidissima* Hort (velmi robustní bílá volně kvetoucí, avšak sterilní varieta).

Tabulka 3 – Průměrné hodnoty tří znaků, měřené u 56 jedinců *N.candida*, 11 jedinců *N. alba* a 5 domnělých hybridů v polském Opolí (Nowak & Nowak 2007).

	průměr blizny [mm]	počet bliznových zubů	průměr květu [cm]
<i>N. candida</i>	5,95	9,31	5,89
<i>N. alba</i> × <i>candida</i>	7,5	12,6	6,91
<i>N. alba</i>	13,4	16,1	11,2

I v rámci hybridního *N. × borealis* bylo rozlišeno několik variet (Papchenkov 2007 in Ejankowski & Małysz 2011). Typická je *N. × borealis* var. *intermedia* K.Valle, kromě toho se vyskytuje i *N. × borealis* var. *peralba* K.Valle a *N. × borealis* var. *candida* K.Valle, podle toho, zda se blíží více *N. alba* nebo *N. candida*.

Molekulárně byla hybridizace *Nymphaea alba* a *N. candida* prokázána pouze jednou drobnou studií, publikovanou jako abstrakt ze symposia (Werner & Helwig 2006), ve které byla totožnost křížence *N. × borealis* doložena pomocí AFLP v Německu a Švédsku, ale o dalších vlastnostech hybridů, jako je četnost a plodnost, však nevíme nic.

U nás je kříženec hlášen dosti řídko z oblasti výskytu *N. candida*, někdy možná v souvislosti s introdukcí *N. alba*, a to v Třeboňské pánvi, Šluknovské pahorkatině (Tomšovic 1988) a na rybníku Vajgar u Jinřichova Hradce (Podubský & Štědranský 1954). Hybrid původních druhů je sice udáván jako celkově intermediární, při obtížném rozlišování obou rodičovských druhů je však jeho rozpoznání obtížné, a komplikuje tak situaci. Je proto třeba za pomoci moderních biosystematických metod ověřit, zda skutečně dochází ke spontánní hybridizaci, a jak je možné hybridy od původních, již tak vzácných taxonů odlišit.

3 MATERIÁL A METODY

Pro zjištění aktuálního rozšíření byly ověřovány udávané výskyty rostlin z dostupných zdrojů (literární prameny, databáze FLDOK, Národní fytoocenologická databáze, herbářové doklady, údaje floristů). Kvůli nízké úspěšnosti ověřování nálezů z výše uvedených zdrojů byly vytipovány další lokality s předpokládaným přirozeným výskytem *N. alba*, *N. candida* a přechodných typů.

Dobrým východiskem pro metodický koncept diplomové práce byla pilotní studie provedená na několika populacích r. *Nymphaea* v České republice v rámci práce bakalářské (Kabátová 2009). Tato studie potvrdila předpoklad, že jednotlivé taxony jsou snadno odlišitelné na základě velikosti jaderného genomu (obsahu jaderné DNA). Metodou detekce obsahu DNA je průtoková cytometrie, jakožto technika v posledních letech v taxonomii velmi oblíbená zejména pro svoji rychlost, přesnost a nedestruktivnost.

Díky vymezení taxonů na základě velikosti genomu odpadl problém s *a-priori* stanovením operačních jednotek v mnohorozměrných morfometrických analýzách, především diskriminační analýze (Klecka 1980). Mnohorozměrné statistické techniky představují vhodný nástroj pro kritické zhodnocení morfologické variability a výběr druhově specifických charakteristik (eliminují subjektivní pohled taxonomů), poskytují robustní informace o proměnlivosti jedinců či populací a často dovolují odlišení i zdánlivě nediferencovaných typů (Marhold & Suda 2002). Proto byly užity pro zpracování dat jak geometrické, tak i klasické morfometriky.

3.1 SBĚRY

Terénní sběry probíhaly v letech 2009 – 2011, a to od půli května do půli září a největší intenzity dosahovaly v červenci. V případě pozitivního nálezu byly lokality zaměřeny pomocí GPS a proveden odhad početnosti populace.

Celkem byly sebrány vzorky z 572 jedinců (včetně opakovaných sběrů) z 55 víceméně přírodních lokalit (viz **Příloha – Tabulka 4**), každá lokalita byla ve vzorku zastoupena 1–12(–56), většinou však 10 jedinci. Každý jedinec byl standardně prezentován jedním listem a k němu příslušejícím květem. Populační vzorek sestával vždy z rostlin navzájem prostorově co nejvzdálenějších, s cílem zachytit co největší genotypovou variabilitu na lokalitě. Soubor rostlin na lokalitě odpovídá v našem pojetí populaci, proto jsou lokality i populace pod stejným číslováním. Lokality jsou vždy geograficky oddělené. Při sběru byly vybírány plně vyvinuté listy k minimalizaci ontogenetických vlivů na morfologii.

Dále bylo zastoupeno 34 rostlin různých odrůd (zahrnuty v **Tabulce 4 v příloze**) pěstovaných ve sbírce leknínů v experimentální zahradě Chotobuz Botanického ústavu AV ČR, v. v. i, v Průhonících, navazující rovněž na starší výsadby v průhonickém parku. Odrůdy pěstované v průhonické sbírce pocházejí jednak ze sbírek Dr. Hříbala (Lhota u Kamenných Žehrovic; ústní sdělení), převážná část sbírky má původ v zahraničí (Francie, Německo, Švýcarsko, Anglie) a historie některých zdejších linií sahá až do 80. let 19. století.

Odrůdy se zde vyskytují v jednotlivých exemplářích a jejich stav v době měření nebyl příliš morfoogicky reprezentativní (růst v mělké vodě má za následek tvorbu vynořených listů a slabé

kvetení), nicméně pro cytometrická měření byly zcela dostačující, byla na nich tedy zjištěna existující variabilita ve velikosti genomu u zimovzdorných, u nás pěstovaných odrůd. Listy kultivarů byly rovněž skenovány (pouze 1 list na kultivar).

Jako referenční cytotypy byly použity dvě rostliny pěstované v Botanické zahradě Přírodovědecké fakulty UK v Praze, které byly získány ze sbírky v Třeboni (P. Procházková, ústní sdělení) a představují typické zástupce *N. alba* a *N. candida*. Jelikož je zde od každého druhu pouze jedna rostlina, byla dále snaha cytometricky studovat jejich semena (dochází-li zde ke spontánní hybridizaci, nebo k samoopylení), jelikož však měření semen nebylo úspěšné, byly analyzovány rovněž semenáčky experimentálně vypěstované z těchto semen ve skleníku zahrady.

Díky zahraničním terénním výjezdům kolegů se podařilo získat několik vzorků volně rostoucích leknínů ze Švédska a Skotska (vysoce pravděpodobný přirozený výskyt), které byly jednak podrobeny průtokové cytometrii, a rostliny ze Švédska se podařilo i v relativně čerstvém stavu nafotit pro morfometrickou analýzu.

Vzhledem k ochrannému statusu rodu *Nymphaea* v ČR (rostliny C1) a jeho výskytu v chráněných územích různého stupně bylo na MŽP a příslušné správy CHKO požádáno o výjimku ve smyslu zákona 114/1992 Sb. – vstup do chráněných oblastí, sběr a manipulace s kriticky ohroženým taxonem.

Navštívené a neověřené lokality jsou shrnuty v **tabulce 5 v příloze**.

3.2 ZPRACOVÁNÍ MATERIÁLU

Rostlinný materiál bylo třeba pozorovat a fotit čerstvý, protože sušením se lekníny zbavují velkého množství vody, čímž dochází k deformacím, které znemožňují morfologické hodnocení květů i listů. Například změny délky listů vzniklé sušením nekorelují se změnami jejich šířky a tvar listů *N. alba* se po sušení podobá více *N. tetragona* (Volkova 2006, Volkova & Shipunov 2007).

Z čerstvé řapíkové části listů byly odebírány vzorky na cytometrickou analýzu. Čepel byla skenována pro minimalizaci zkreslení způsobeného při klasickém fotografování ze stativu. Pokud velikost listové čepele přesahovala skenovatelnou plochu (A3), byla snímána a dále zpracovávána pouze její reprezentativnější polovina (kompletní, bez kazů a požerek). Z listové čepele byla následně odebrána neporušená, nečistot a řasového povlaku zbavená tkáň cca 4 cm², která byla uložena do silica gelu pro případnou extrakci DNA a následně molekulární analýzy. Usušené a popsané listy (obvykle 1 zástupce na populaci) byly poté uloženy v herbářových sbírkách Univerzity Karlovy v Praze (PRC). Jelikož však dochází u těchto hydrofyt během sušení k podstatným tvarovým změnám (Volkova 2006), herbářové položky neposkytnou příliš dobrou představu o zjevu živých rostlin, slouží spíše jako doklad, případně pro další molekulární analýzy.

Květy byly v čerstvém stavu foceny ze stativu ve standardizovaných polohách s měřítkem. Květy se po utrnutí zavírají a na světle opět otevírají. Fáze otevření nejsou na fotografiích z časových důvodů sjednocené – při větším množství nasbíraného materiálu může dojít k degradaci pletiv ještě před jejich vyfotografováním. Osvědčilo se uložení v chladničce (4 °C), květy jsou však v takovém případě vždy zavřené. Následně hodnocené morfologické charakteristiky jsou zvolené tak, aby byly nezávislé na fázi kvetení, resp. otevření květů. Fáze zralosti květů, odvozená podle zralosti prašníků a

semen, byla nicméně zaznamenávána pro zjištění případné korelace s některými znaky. Některé předchozí studie braly v úvahu velikost a tvar otevřeného květu (např. Volkova & Shipunov 2007), ale jedná se o obtížně měřitelné znaky, které mohou rovněž záviset na počasí a zralosti květu. Hříbal (1985) spojoval tvar květu s tvarem jednotlivých korunních lístků, a poměr jejich délky a šířky (tzv. korunní index) přiřadil ke tvarovým kategoriím květů.

Květy pocházející z prvotních sběrů (rok 2009, populace 1 až 9) byly nejprve uloženy v 70% roztoku etanolu a až posléze byly květní části separovány a foceny. Ethanolem změkklý materiál se ale při focení neosvědčil, navíc může docházet vlivem ethanolu ke změně velikosti, proto byla změněna metodika. Rovněž listy těchto rostlin byly v roce 2009 nejprve herbářovány, což se z důvodů deformací způsobených dehydratací ukázalo jako nevhodné. Aby bylo možné první zaznamenané populace zahrnout do studie, bylo třeba zopakovat sběry a materiál zpracovat novou metodikou. Tři z těchto populací byly cytometricky vyhodnoceny jako kulturní rostliny, znovu navštíveno bylo proto v roce 2011 jen zbývajících šest lokalit. Sběry se bohužel podařilo zopakovat jen na třech z nich, jinde se populace dramaticky zmenšily, v době revize nekvetly, nebo zanikly (obecně se zánik lekninových populací obtížně hodnotí, zejména při zvýšených hladinách vod v souvislosti s povodněmi, ke kterým v posledních letech hojně dochází). V takových případech byly vzorky z roku 2009 zahrnuty pouze do cytometrických analýz.

Kališní a korunní lístky jsou více či méně vyklenuté a před focením je užitečné docílit jejich zploštění. Byly uchyceny průhlednou lepenkou k papíru a po fotografování vysušeny, takže mohou nadále sloužit jako dokladový materiál. Kališní lístky byly fotografovány z vnitřní strany, protože je tak lépe patrná žilnatina i zbarvení. Pouze určité květní části, jako kališní a korunní lístky, tyčinky, výjimečně podélný řez semeníkem, bylo možné herbářovat, ale většinou dochází na semeníku ke značným deformacím.

Z květů byly do papírových sáčků odebírány tyčinky s pylem, a to obvykle po populacích. V případě smíšených populací byl pyl jedinců uložen odděleně.

3.3 PRŮTOKOVÁ CYTOMETRIE

Metodou primárního určení taxonů byla, v dané problematice již uplatněná, průtoková cytometrie (Volkova 2010, Kabátová 2010), umožňující získat v krátkém čase velké množství kvalitních výsledků. Tato cytologická metoda našla široké uplatnění mimo jiné v systematice a ekologii rostlin hlavně díky své rychlosti (možnost změřit desítky jedinců v jednom dni), nedestruktivnosti (stačí malý vzorek listové tkáně), přesnosti, nezávislosti na mitoticky aktivních buňkách a možnosti odhalení směsných vzorků (Doležel & Bartoš 2005).

Jako nejvhodnější pletiva poskytující po izolaci neporušená jádra se ukázaly řapíky listů. Oproti běžně používanému pletivu čepele listů vykazovaly řapíky výrazně kvalitnější výstupy analýz (nižší CV – variační koeficient, nižší výskyt rušivého pozadí v analýze).

Jádra byla izolována dle standardní metodiky používané v cytometrické laboratoři katedry botaniky PřF UK. Cca 1 cm² pletiva řapíku byl rozsekán žiletkou spolu s interním standardem v pufru Otto I (0,1 M monohydrát kyseliny citrónové, 0,5% Tween 20; Otto 1990). Vzorek byl po přefiltrování (přes 42 µm nylonový filtr) inkubován při pokojové teplotě po dobu 5 - 20 minut.

Následně byl přidán 1 ml barvicího roztoku: pufr Otto II (0.4M Na₂HPO₄.12H₂O; Otto 1990) doplněný fluorescenčním barvivem **propidium jodid** (50 µg/µl), RNázou IIA (50 µg/µl) a antioxidantem β-mercaptoethanol (2 µl/ml). Připravený vzorek byl bezprostředně analyzován na průtokovém cytometru Partec CyFlow s laserem 532 nm jako excitačním zdrojem.

Jako interní standard byla použita soja (*Glycine max* 'Polanka', 2C = 2.50 pg; Doležel & al. 1994), vzhledem k blízké velikosti genomu k analyzovaným rostlinám. Ve výjimečných případech překryvu vzorku a standardu (u některých kultivarů) byla jako standard použita sedmikráska (*Bellis perrenis* L., 2C = 3,38 pg; Schönswetter et al. 2007) a výsledky přepočítány v poměru získaném současným měřením obou standardů.

V květnu 2011 jsem přistoupila ke stanovování velikosti genomu pomocí barviva **DAPI** (4',6-diamidino-2-phenylindol) kvůli vyšší rychlosti analýz a přesnější detekci drobných rozdílů (cytometr Partec PA II, rtuťová výbojka jako excitační zdroj). Barvivo DAPI se přednostně váže na oblasti DNA bohaté na AT báze, zatímco PI (propidium jodid) žádné takové preference nemá a na nukleovou kyselinu se váže rovnoměrně. Poměr měřených vzorků ke standardu je jiný kvůli jinému zastoupení AT bází v genomech standardu a vzorku a tím způsobenými – druhově specifickými – rozdíly ve vazbě fluorochromů (Doležel et al. 1992). Z tohoto důvodu bylo třeba zkalibrovat výsledky získávané druhou metodou pomocí referenčních rostlin. Několik rostlin bylo současně měřeno oběma metodami a získané poměry použity na přepočet ostatních měření. Pro srovnání a kalibraci byly analyzovány determinované zástupci obou původních druhů ze sbírky Botanické zahrady PřF UK.

Do následného zpracování dat týkajících se velikosti genomu byly přednostně zahrnuty kvalitní analýzy, tj. analýzy se symetrickými píky, se srovnatelnou výškou vzorku a standardu a hlavně s nízkým CV (variačním koeficientem, max 6,47).

Tento postup byl zvolen pro spolehlivou determinaci rodičovských druhů, jejich primárních hybridů i k téměř stoprocentnímu odlišení nepůvodních kultivarů. Protože jedinci prakticky nejevili variabilitu v obsahu jaderné DNA uvnitř populací, bylo možné analyzovat směsné vzorky více jedinců (2–4).

Vzhledem k různým chromosomovým počtům, uváděným u střeoevropských zástupců rodu *Nymphaea*, by bylo přínosné jednotlivé cytotypy podrobit karyologickým rozborům. Vzhledem k cytometricky jasně odděleným skupinám na jedné straně a ke komplikacím, které se s karyologií leknínů pojí, na straně druhé, nebylo počítání chromozomů provedeno: eurasijské temperátní lekníny mají kolem sta chromozomů (64–160), z nichž významnou část tvoří drobné chromozomy (0.5–2.0 µm), které se obtížně počítají klasickými metodami (Heslop-Harrison 1955, Gupta 1980). Komplikace u této skupiny spočívají také v přístupu ke kořenovým meristémům, které se mohou ukrávat i desítky centimetrů pod úroveň dna a v případě výpěstků ze semen není jistota rodičovského původu.

3.4 MORFOMETRIKA

Počty hodnocených rostlinných částí jsou shrnuty v *tabulce* 6. Nejprve byl hodnocen tvar jednotlivých rostlinných částí pomocí geometrické morfometriky, která upozornila na variabilní místa. Místa nejvíce rozdílná mezi skupinami byla posléze měřena morfometrikou klasickou a statistické rozpětí zaznamenáno pro každou populaci a taxon. Diskriminační analýzou byly nakonec vybrány vhodné určovací znaky a sestaven dichotomický určovací klíč.

Podstatné znaky listů se týkají celkového obrysu čepele a žilnatiny, proto byla skenována spodní strana čepele, kde je žilnatina zřetelnější. Listy jsou téměř symetrické podle hlavního žebra, a tak byla kvůli přílišným rozměrům některých listů hodnocena vždy jen jedna (zachovalejší, bez defektů) polovina listu. Neméně významný je také fakt, že se laloky u některých listů vzájemně překrývají, což komplikuje analýzu listového tvaru jako celku. Graficky byly vybrané poloviny sjednoceny jako pravá strana (levé poloviny byly zrcadlově převráceny).

Na květech je možno nalézt mnoho znaků s potenciálním diskriminačním významem. Pro geometricko-morfometrické hodnocení je ideální podélný (axiální) řez středem semeníku, díle byly hodnoceny báze květu, tyčinky, kališní lístky a koruní plátky. Navíc byl u květů zaznamenáván počet bliznových laloků, odpovídající počtu plodolistů v gyneceu. Pyl byl focen pod optickým mikroskopem, který sice neposkytuje tak kvalitní zobrazení jako skenovací elektronový mikroskop (SEM) použitý v pracích Muntendam et al. (1996) a Volkova & Shipunov (2007), ale rozdíly jsou přesto patrné. Pyl každé populace byl focen vícekrát, protože i vnitropopulační palinomorfologická variabilita může být vysoká (Volkova 2006).

Řez semeníkem zahrnuje hned několik znaků zmiňovaných v taxonomické literatuře. Hranatost květní báze se obvykle hodnotí pohledem zespodu, avšak koresponduje také s ostřejším úhlem nasazení kališních lístků z pohledu bočního. Celkový tvar semeníku (později plodu) by se v závislosti na taxonu měl měnit především v poměru výška/šířka a ve výšce nejširšího místa. Zajímavým znakem je mezera mezi vnitřními tyčinkami a místem, kde pestík vybíhá nahoru k bliznovým zubům. Důležitý je také tvar blizny, který se u našich leknínů proměňuje od úzké nálevky až po takřka talířovitě otevřenou plochu, a z jejího středu vybíhá útvar, někdy tence špičatý a sotva patrný, někdy široký až kulovitý.

Tab. 6 – Tabulka počtu jednotlivých rostlinných částí, podrobených různým metodám.

	ordinační a shlukovací analýzy				celkem
	kultivary	<i>N. alba</i>	hybridy	<i>N. candida</i>	
listy	94	152	10	189	445
pestík	48	141	4	176	369
báze	50	139	4	172	365
kališní l.	45	104	4	148	301
korunní l	50	116	4	151	321
tyčinky	51	130	4	174	359

	diskriminační analýzy				
	kultivary	<i>N. alba</i>	hybridy	<i>N. candida</i>	celkem
listy	94	152	0	189	435
pestík	48	141	0	176	365
báze	50	139	0	172	361
kališní l.	45	104	0	148	297
korunní l	50	114	0	151	315
tyčinky	51	130	0	174	355

3.4.1 GEOMETRICKÁ MORFOMETRIKA

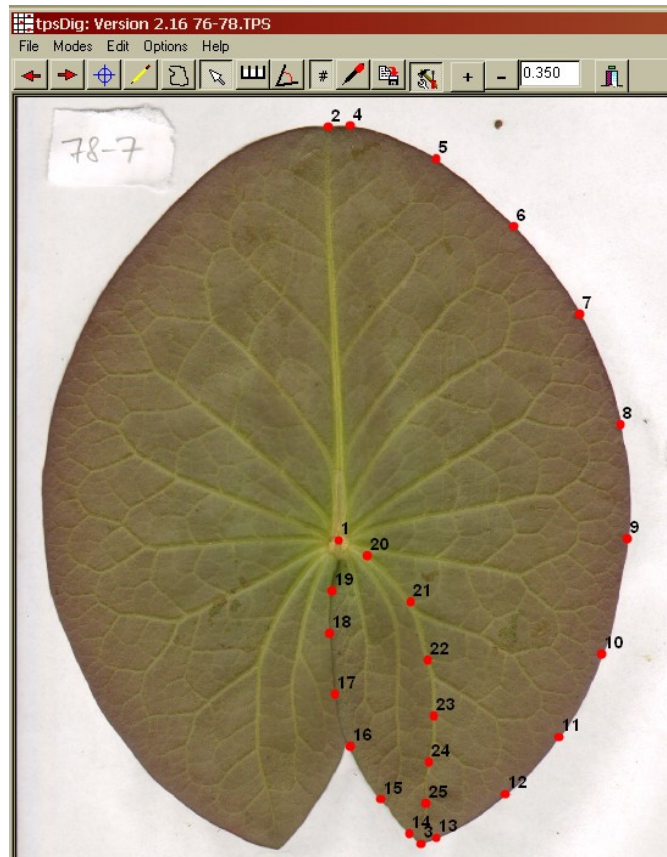
Abych se vyhnula subjektivnímu hodnocení a kategorizaci tak, jak se často dělalo z nedostatku jiných možností, podrobila jsem nejprve znaky, které to dovolily, analýze tvaru. Digitální data byla zpracována nástroji pro geometricko-morfometrickou analýzu, která zpracovává údaje efektivněji (obsáhne nesrovnatelně více informací o tvaru) než morfometrika klasická, a zvláště pro některé znaky, jako je popis obrysu nebo charakter hlavních žilek listových laloků, je takřka nepostradatelná.

Geometrická morfometrika je poměrně mladá metoda počítačového hodnocení tvaru, která ve výsledku nepracuje s absolutními rozměry, což není na škodu, pokud bereme v úvahu, že velikost rostlinných orgánů leknínů je fenotypově značně plastická a závisí především na prostředí (živiny, hloubka vody aj.) a její taxonomická hodnota je téměř zanedbatelná (Volkova & Shipunov 2007). Mnoho studií uvádí naměřená velikostní rozpětí u jednotlivých orgánů a u semen, hodnoty se ale značně překrývají a nelze podle nich druhy příliš přesvědčivě kategorizovat (viz *tabulku 1*).

Postup společný pro snímky listových listových čepelí, semeníků, květních bazí, tyčinek, kališních a korunních lístků:

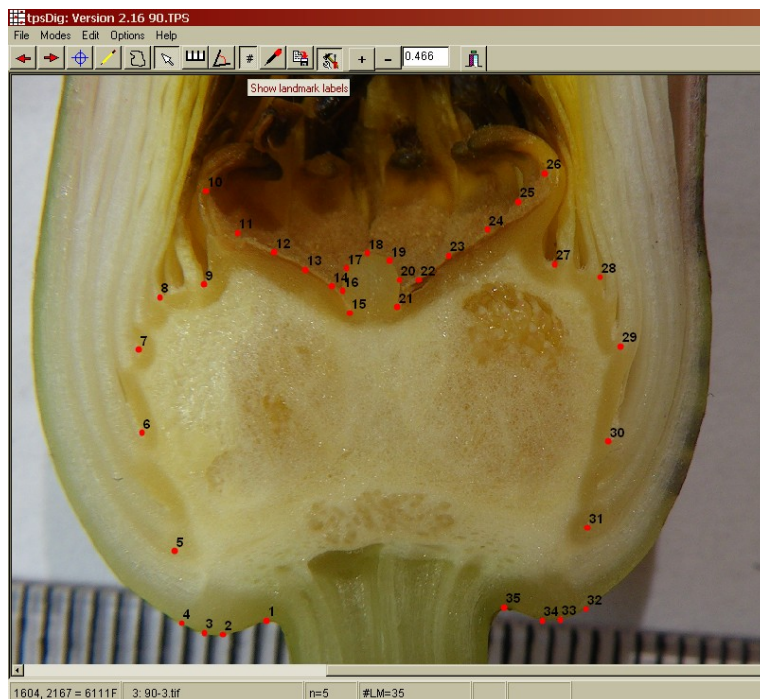
Na částech rostlin byl stanoven přiměřený počet význačných bodů, z nichž některé nesou charakter pevných význačných bodů (*landmarky*), ostatní jsou význačné body pohyblivé (*semilandmarky*). Landmarky představují typicky body na koncích struktur nebo pletiv, které jsou mezi hodnocenými individui homologní. Semilandmarky pak představují body na křivkách propojujících landmarky a jejich pozice není vázána na konkrétní místo ve struktuře orgánu.

Na listech bylo stanoveno 25 význačných bodů (*obrázek 9*), z čehož 3 jsou landmarky: místo, odkud vychází (°1) řapík a vrchol listu (°2) ohraničují hlavní žebro a tvoří osu symetrie listu, bod °3 je konec listového laloku. Jedenáct semilandmarků (2–13) kopíruje obrys čepele. Krajní semilandmarky jsou umístěny blízko koncovým landmarkům, protože v těchto místech jsou listy velmi variabilní – vrchol listu může být zaokrouhlený, uťatý až mělce vykrojený, konec listového laloku bývá oblý, nebo v různé míře špičatý. Další šest semilandmarků (14–19) ohraničuje listový lalok a posledních šest (20–25) popisuje průběh hlavní žilky listového laloku, která vychází z bodu °1 a směřuje k bodu °3.



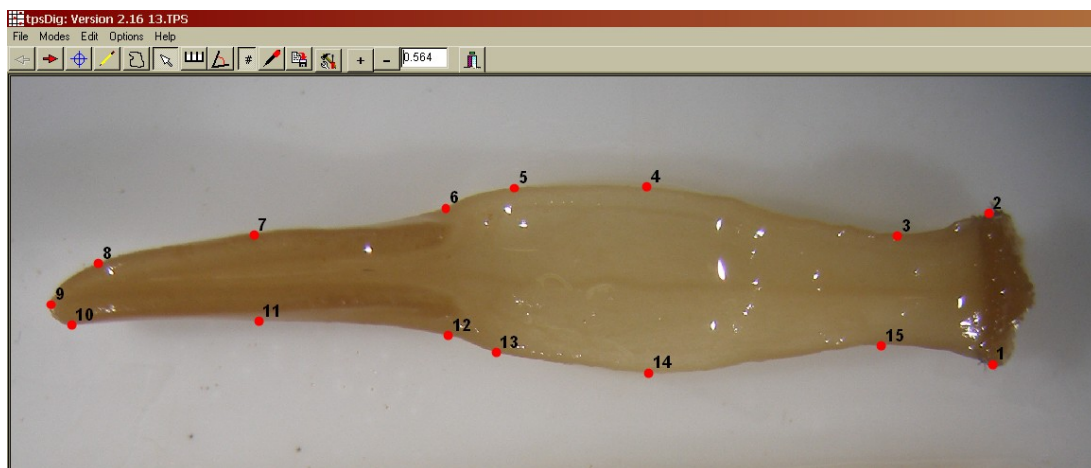
Obrázek 9 – rozložení 25 význačných bodů po obvodu pravé poloviny listové čepele a podél hlavní žilky pravého listového laloku. Body 1, 2 a 3 jsou pevné, neboť představují konce struktur, zatímco ostatní body na liniích jsou pohyblivé.

Na květních průřezech bylo stanoveno 35 význačných bodů (*obr. 10*), z nichž 12 jsou landmarky: 1 a 35 symetricky ohraničují bázi květu, kde se rozšiřuje květní stopka. Landmarky 4 a 32 ukončují linii květní báze v místě, kde se otevírají kališní lístky a není tedy možné vést tuto linii dál po obvodu květu kvůli různým fázím otevření. Landmarky 5 až 9 a symetricky 31 až 27 ohraničují strany semeníku po linii, kde vyrůstají korunní plátky a tyčinky. Landmarky 10 a 26 ohraničují zvenčí bliznu, bliznové zuby se nehodnotí, neboť v průběhu kvetení mění svoji pozici. Směrem do středu pokračují semilandmarky popisující tvar papilnaté blizny k landmarkům 15 a 21, které značí okraje bliznového výčnělku, ten je pak popsán pěti semilandmarky.



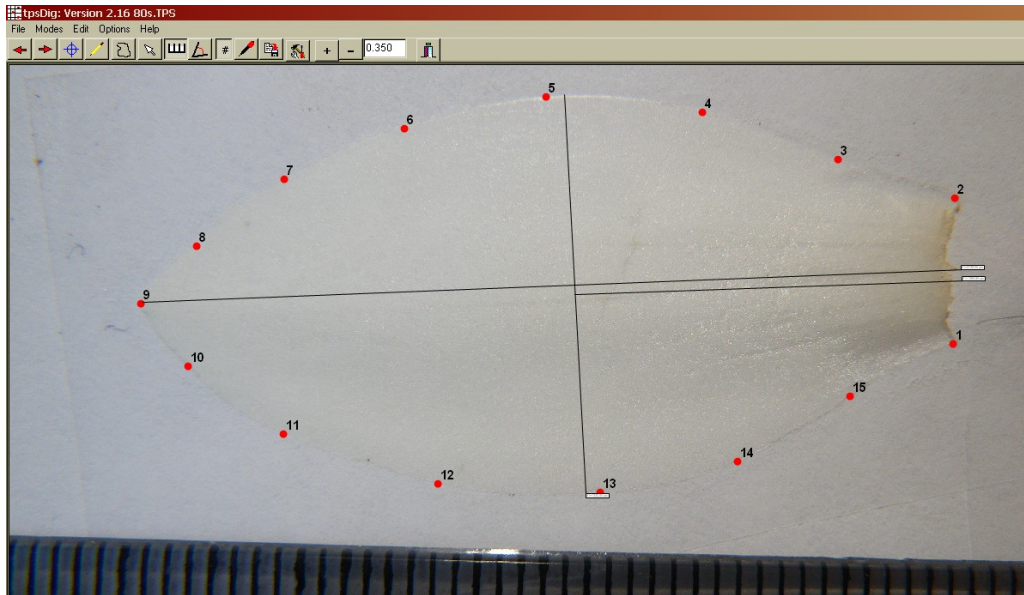
Obrázek 10 – rozložení 35 význačných bodů na průřezu květem

Na tyčinkách bylo stanoveno 15 význačných bodů (*obr. 11*). 5 z nich označuje symetricky bázi tyčinky (1 a 2), předěl nitky a prašníku (6 a 12) a nesymetrický bod 9 označuje vrchol prašníku. Ostatních 10 bodů popisuje obrys tyčinky.



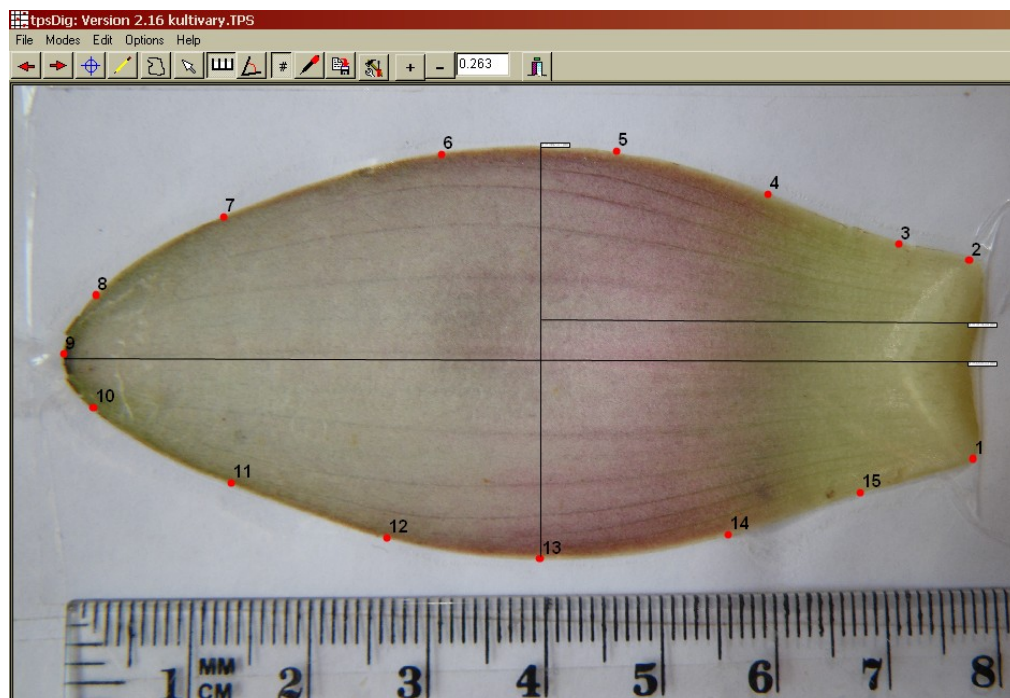
Obrázek 11 – význačné body popisující tvar vnitřní tyčinky.

Obrys kališních a korunních lístků popisuje 15 bodů podobně jako na tyčinkách. 1 a 2 jsou pevné landmarky na bázi, kde lístek vyrůstá ze semeníku a bod 9 se nachází na jeho vrcholu. Viz *obr. 12, 13* - na fotografiích jsou znázorněné i měřené délky, k nim se dostaneme později.



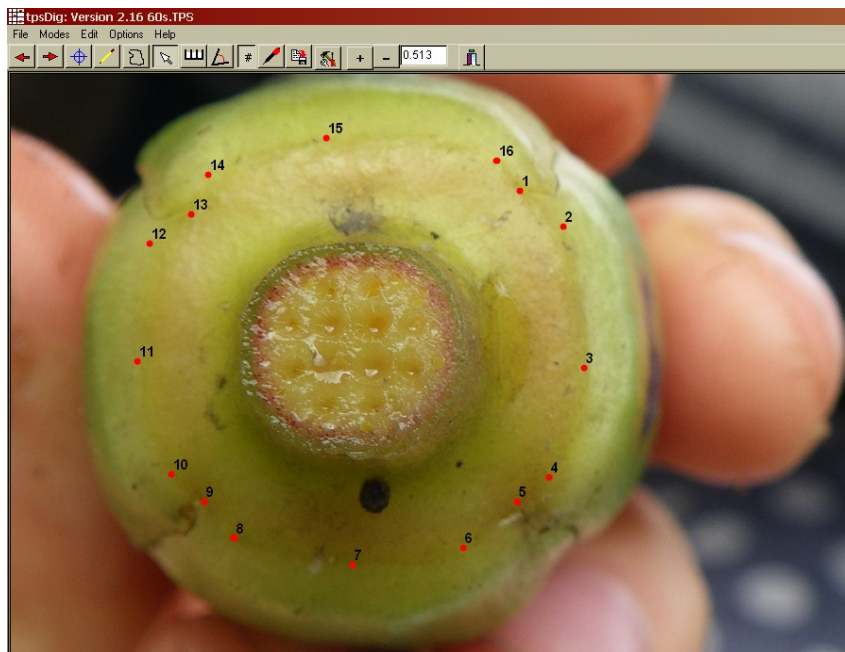
Obrázek 12 – umístění 15 bodů popisujících tvar korunního lístku.

Kališní lístky byly odříznuty z báze květu s upřednostněním krycího lístku (nejvíce vně), který je nejvíce symetrický a nejméně se podobá lístkům korunním, zatímco ostatní kališní lístky mohou mít částečně petaloidní charakter (světlejší okraj nebo okraje) nebo asymetrický tvar, pokud jsou např. z jedné strany překryty. Na kališních lístcích byly rozmístěny význačné body stejně jako na lístcích korunních (*obr. 13*).



Obrázek 13 – umístění 15 bodů po obvodu vnějšího kališního lístku.

Na květní bázi ze spodního pohledu bylo rozmístěno 16 bodů. Vzhledem k různému utváření báze a k různému počtu kališních lístků v květech nejsou body vždy homologické a nemohou proto mít charakter pevných landmarků. Při analýze může pak dojít k posunu všech bodů. Platí však, že se čísluje od pravého okraje nejsvrchnějšího kališního lístku směrem doprava (*obr. 14*).



Obrázek 14 – Na květech bývá ze spodního pohledu patrná hrana nebo linie přechodu květního lůžka a kališních lístků. Tu sleduje 16 význačných bodů, které popisují tvar květní báze. Číslování začíná vždy na pravé straně krycího kališního lístku.

STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ DAT

V programu tpsDig2 (Rohlf 2006) byly na pořízených fotografiích označeny příslušné význačné body, jejichž souřadnice byly uloženy. V programu tpsUtil byl vytvořen soubor (tzv. *sliders*), určující, které z těchto bodů mají charakter pevných, a které pohyblivých bodů. V následující transformaci v programu tpsRelw (Rohlf 2007) došlo ke sjednocení souřadnic všech objektů metodou prokrustovské *super(im)pozice* a současně k optimalizaci (posunu) polohy semilandmarků na spojnicích landmarků pomocí *sliders*. Takto srovnané objekty byly barevně rozděleny do skupin podle cytometricky zjištěné taxonomické příslušnosti a zobrazeny v překryvu v programu PAST (Hammer 2010).

Jedinci jsou graficky překryti podle těžiště (centroidu) význačných bodů. Tato tzv. Prokrustovská transformace zahrnuje posun, otočení a přeškálování (změnu velikosti) objektů tak, aby bylo možné pozorovat rozdíly na úrovni jednotlivých bodů. Tzv. *analýza relativních warpů* (RWA) počítá odchylky každého objektu oproti průměrnému objektu (*konsenzuální konfiguraci*).

Získané hodnoty byly statisticky zpracovány v programu PAST. Nejprve byla provedena *analýza hlavních komponent* (PCA), jakožto jednoduchá metoda zobrazení struktury ve vícerozměrných datech. Hodnoty RW jsou ve stejných jednotkách a není třeba je přeškálovávat, proto byly všechna

geometrická data zobrazována centrovanou PCA, vycházející z kovariační matice znaků (Marhold & Suda 2002).

Jelikož byly zkoumány jedinci již cytometricky rozřazení do skupin podle taxonomické příslušnosti, bylo možné je podrobit i *kanonické diskriminační analýze* (CDA, CVA), která se zaměřuje na rozdíly mezi skupinami. K výslednému diagramu byla přiřazena grafická znázornění změny tvaru na prostorových mřížkách pomocí programu tpsRegr (Rohlf 2005), čímž se vyjádřila závislost tvaru jednotlivých orgánů na taxonomické příslušnosti.

V programu PAST byla též pro každý sledovaný orgán *klasifikační analýzou* vypočtena matice záměn, vyjadřující podíl správně zařazených jedinců na základě geometrie daného orgánu. Následným porovnáním těchto klasifikačních tabulek jednotlivých rostlinných částí zjistíme, které jsou mezi skupinami nejvariabilnější, a tudíž nejvhodnější pro jejich rozpoznávání.

Pro každou populaci byl v programu tpsRelw vytvořen průměrný jedinec – konsenzuální soubor souřadnic, a mohlo se dále pracovat pouze s průměry populací. Z populačních průměrů byla opět provedena *analýza relativních warpů* (není vhodné statisticky zpracovávat samotné souřadnice, neboť každý znak (bod) je rozložen na hodnoty x a y. Ze získaných hodnot RW byla v programu PAST provedena *shluková analýza*, a to středospojnou metodou (UPGMA) s Euklidovskými vzdálenostmi.

Datové soubory byly upravovány a převáděny pomocí základního softvéru tpsUtil (Rohlf 2000).

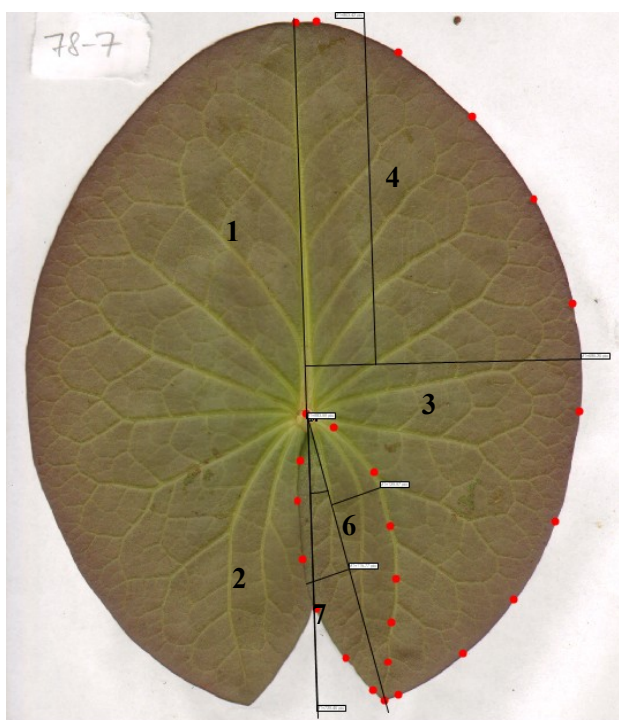
3.4.2 KLASICKÁ MORFOMETRIKA

Jelikož je variabilita popsána geometricky sice téměř vyčerpávající, zato obtížněji charakterizovatelná než výsledky klasických morfometrických postupů, zaměřila jsem se dále na dílčí vlastnosti, především velikostní a poměrové, které bylo možno naměřit na digitálních fotografiích či vypočíst ze souřadnic dříve stanovených význačných bodů. Podle sledované variability tvaru byly vytipovány znaky klasické morfometrie, které by mohly odlišovat skupiny.

Na listech byly měřeny následující veličiny (*obr. 15*)

- 1 délka žebra
- 2 délka zářezu
- 3 šířka poloviny listu
vzdálenost nejširšího místa od
- 4 špičky
- 5 poloviční úhel laloků
max. vzdálenost hlavní žilky
- 6 listového laloku od osy laloku
max. vzdálenost okraje laloku od
- 7 osy laloku

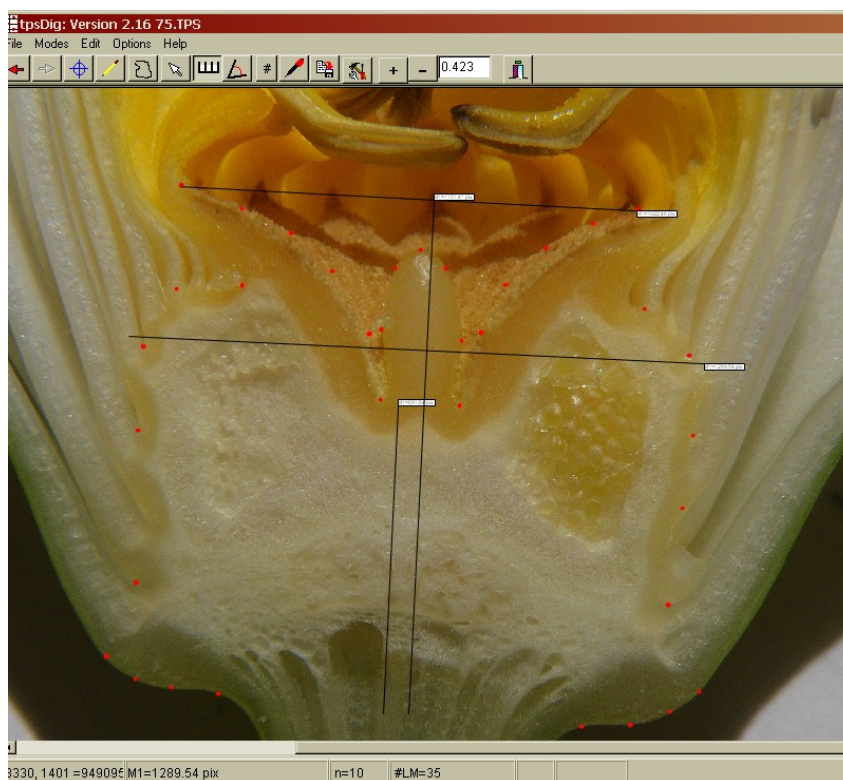
Obrázek 15 – délky a úhel měřené na čepeli.



Délka listu je součet délek 1 a 2, šířka je dvojnásobek délky 3, úhel svíraný špičkami laloků je dvojnásobek míry 5 a šířka laloku je součtem délek 7 a 8. Obloukovitě zahnutá hlavní žilka laloku je běžně udávaný znak typický pro leknín bělostný, oblast vnitřní strany listového laloku je však neméně důležitá.

Mezi znaky kvalitativní, kódované kvantitativně, patří špičatost zakončení listových laloků, hodnocená na škále 1–5, oblast vrcholu čepele na škále 1–6, kde 1 je vrchol velmi vykousnutý, 4 rovný a 6 okrouhlý. Byla hodnocena i barva spodní části čepelí tak, že hodnota 0,5 znamená čistě zelenou, 1 načervenalou a 1,5 červenou barvu listu. Všech 22 měřených kvantitativních, poměrových a kvalitativních znaků převedených na znaky kvantitativní, je uvedených v *tabulce 7 v příloze*.

Ze semeníkových landmarků byl pro každého jedince vypočten poměr šířky středového výčnělku a šířky celé blizny. Pozorování ukázalo, že středový výběžek je u některých taxonů nejširší na bázi (body 15 a 21 na *obr. 10*) a dále se zužuje, jindy se nad bází rozšiřuje (body 16 a 20) a může být kulovitý, někdy i širší než vyšší. Šířka výčnělku v poměru k celé blizně by měl být znak snadno hodnotitelný pohledem shora do květu bez potřeby další destruktivní manipulace, a mohl by tak být vhodný pro determinaci v terénu. Dále byl dopočítán poměr výšky a šířky bliznového výběžku a poměry mezi měřenými veličinami, které by mohly být cennější, vzhledem k nejasné souvislosti absolutní velikosti měřených částí s taxonomickou příslušností. Měřené vzdálenosti jsou znázorněny na *obr. 16*.



Obrázek 16 – Klasickou morfometrikou byla na květních řezech měřena šířka a výška semeníku, výška celého pestíku (gynecea) s centrálním výčnělkem až k bázi bliznových zubů a šířka blizny.

Tentýž soubor fotografií řezu květem poskytl i informaci o znaku, jehož použití je sporné a zapadlo, totiž přítomnost mezery mezi tyčinkami a místem, kde se pestík zvedá v bliznové zuby. Již K. Presl si údajně všiml absence tyčinek v těchto místech u leknínu bělostného, a je dokonce zmiňováno, že na základě tohoto znaku druh odlišoval od l. bílého (Conard 1905), není proto bez zajímavosti podrobit ho kritickému zhodnocení, avšak v původní literatuře (Presl 1823) mu není přikládán přílišný význam. Přítomnost a rozsah mezery byl na květním průřezu kvantifikován jako počet tyčinek, které by se vešly do daného prostoru a nabývá hodnot (0–5).

Byla zaznamenávána rovněž fáze kvetení (podobně jako ve Volkova 2002) pro zjištění korelace s dalšími veličinami a barva blizny a bliznových zubů (způsob hodnocení těchto znaků je v **tabulce 8 v příloze**). Na kališních a korunních lístcích a na tyčinkách byla měřena celková délka, šířka a vzdálenost nejširšího místa od báze (viz výše **obr. 12 a 13**) a na tyčinkách také délka nitky a poloha místa, kde je tyčinka nejširší. Byla dopočítána šířka báze kališního lístku. Byly počítány žilky na vnitřní straně kališních lístků. Tento znak je však nesnadno hodnotitelný a bylo třeba stanovit, které žilky se zahrnou. Zaznamenávána byla též barva vnitřní strany kališních lístků a hodnocena na škále od bílé po růžovou (0–3), stejně jako barva korunních plátků. Ze spodního pohledu byl zaznamenáván počet kališních lístků a vzdušných kanálků v řapíku. Všechny znaky hodnocené na květech jsou shrnuty v **tabulce 9** v příloze.

Jako velmi sporná se zdála v literatuře otázka diferenciací povrchu pylových zrn. Navzdory tvrzení (např. Muntendam et al. 1996, Wayda 2000), že lze druhy odlišit na základě velikosti, tvaru a exinové skulptury pylových zrn, Volkova & Shipunov (2007) došli k závěru, že se pylovými charakteristikami významně neliší. Proto byly pořízeny fotografie pylu pomocí mikroskopu Olympus BX-61 se 20x, 40x a 100x zvětšením a pozorován především povrch pylových zrn.

Pyl hybridních populací, kultivarů a několika populací domácích taxonů byl barven zjednodušenou a ve srovnání s Alexandrovým barvivem méně toxickou metodou dle Petersona & al. (2010), kdy se pyl nebo lépe celé prašníky nejprve alespoň 2 hodiny fixují v Carnoyově fixáži, než se rozetřou na podložní sklíčko, kde se nabarví směsí 95% alkoholu, malachitové zeleně, destilované vody, glycerolu, kyselého fuchsinu, oranže G a ledové kyseliny octové a směs na sklíčku se na závěr krátce přezehne nad plamenem. Na mikrofotografiích pylu byl posléze počítán podíl obarvených pylových zrn.

STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ DAT

Morfologická diferenciací skupin byla finálně stanovena pomocí mnohorozměrných statistických metod. Data byla vyhodnocena pomocí programů PAST 2.16 a SAS 9.1 (SAS INC. 2002) s využitím postupů korelační analýzy, shlukovací analýzy, kanonické a klasifikační diskriminační analýzy a procedur určujících základní statistické charakteristiky. Podobně jako v geometricko-morfometrické části, byli jedinci podrobeni ordinační analýze PCA, tentokrát však byly znaky standardizovány směrodatnou odchylkou, jelikož byly měřeny v různých jednotkách a rozpětích. Rovněž byla provedena shluková analýza na populačních průměrech, a to jednospojnou a Wardovou metodou.

K nalezení znaků s nejlepšími kanonickými korelačními koeficienty, a tudíž s nejvyšším vlivem na rozdělení skupin, byla provedena kanonická diskriminační analýza na všech jedincích dohromady a zvláště na dvojicích skupin. Zvláště byly rovněž hledány znaky na vegetativních a generativních orgánech. Vybrané znaky byly testovány klasifikační diskriminační analýzou postupem resubstituce,

jejímž výstupem byly klasifikační tabulky s uvedením procentuálního a absolutního množství správně zařazených jedinců.

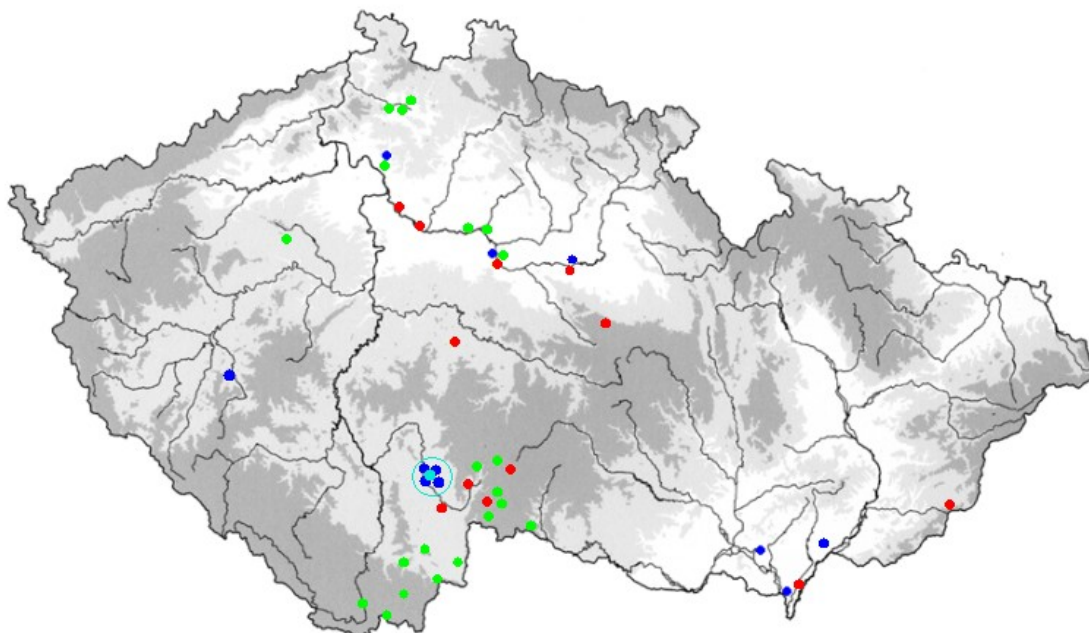
Jelikož bylo u měřených znaků ověřeno normální rozdělení, jejich korelace byla testována za použití Pearsonova lineárního koeficientu a silně korelující znaky ($>0,95$) nebyly zahrnuty do diskriminačních analýz. Z dvouskupinových diskriminačních analýz byly v programu SAS vytvořeny histogramy překryvu, jelikož lépe zobrazují jednorozměrnou strukturu mezi skupinami než je tomu v programu PAST, používaném při většině statistických analýz v předkládané práci.

4 VÝSLEDKY

4.1 REVIZE VÝSKYTU

V letech 2009 – 2012 bylo navštíveno přes 150 převážně přírodních lokalit, lekníny byly nalezeny celkem na 55 z nich. Komentovaný popis ověřených lokalit tvoří první část **přílohy**. Tabulky ověřených (**tab. 4**) a neověřených (**tab. 5**) lokalit jsou rovněž v příloze. Vedle potvrzených výskytů obsahuje tabulka 4 údaje o vzorcích kultivarů ze sbírek Botanického ústavu AV ČR.

Lekníny byly dokumentovány na 55 lokalitách na území České republiky, se zaměřením na oblasti pravděpodobného původního výskytu, jako je Polabí, jihomoravské úvaly a jižní Čechy. V posledně zmíněné oblasti velmi pomohl nezávislý výzkum Aleny Vydrové a Víta Grulichy, kteří zde dokumentovali výskyt leknínů v posledních letech. Ověřené lokality viz na **obr. 17**.



Obr. 17 – Souhrnné znázornění oblastí, v nichž byl ověřen výskyt leknínů v letech 2009 – 2011. Červená – nepůvodní kultivary, zelená – *N. candida*, modrá – *N. alba*, tyrkysová – hybridy.

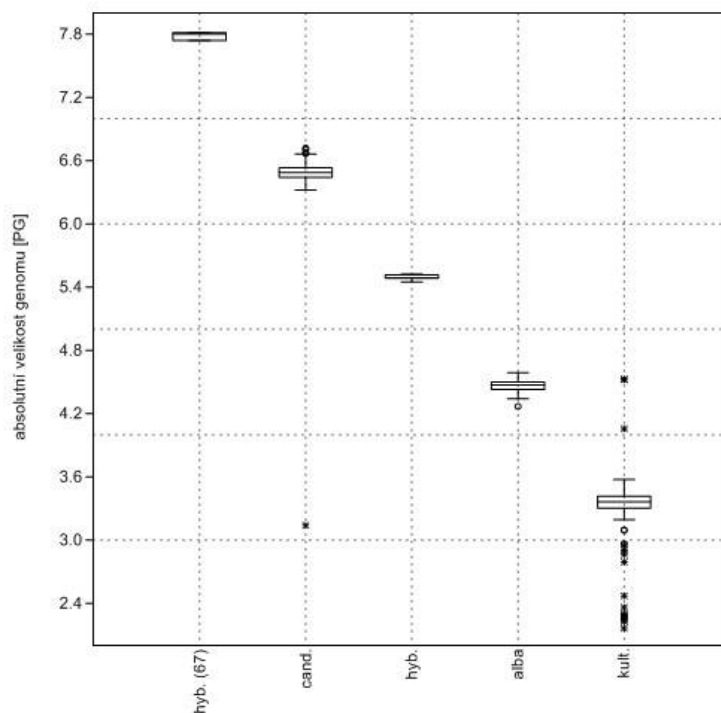
Celkově nebylo mnoho lokalit ověřeno vůbec (viz **tabulku 5 v příloze**) a nových lokalit bylo popsáno pomálu. Na mnoha lokalitách byly překvapivě nalezeny nepůvodní kultivary a několikrát bylo zjištěno nesprávné dřívější určení rostlin, ať už se jednalo o záměny dvou původních druhů, nebo záměny se zplanělými odrůdami.

4.2 PRŮTOKOVÁ CYTOMETRIE

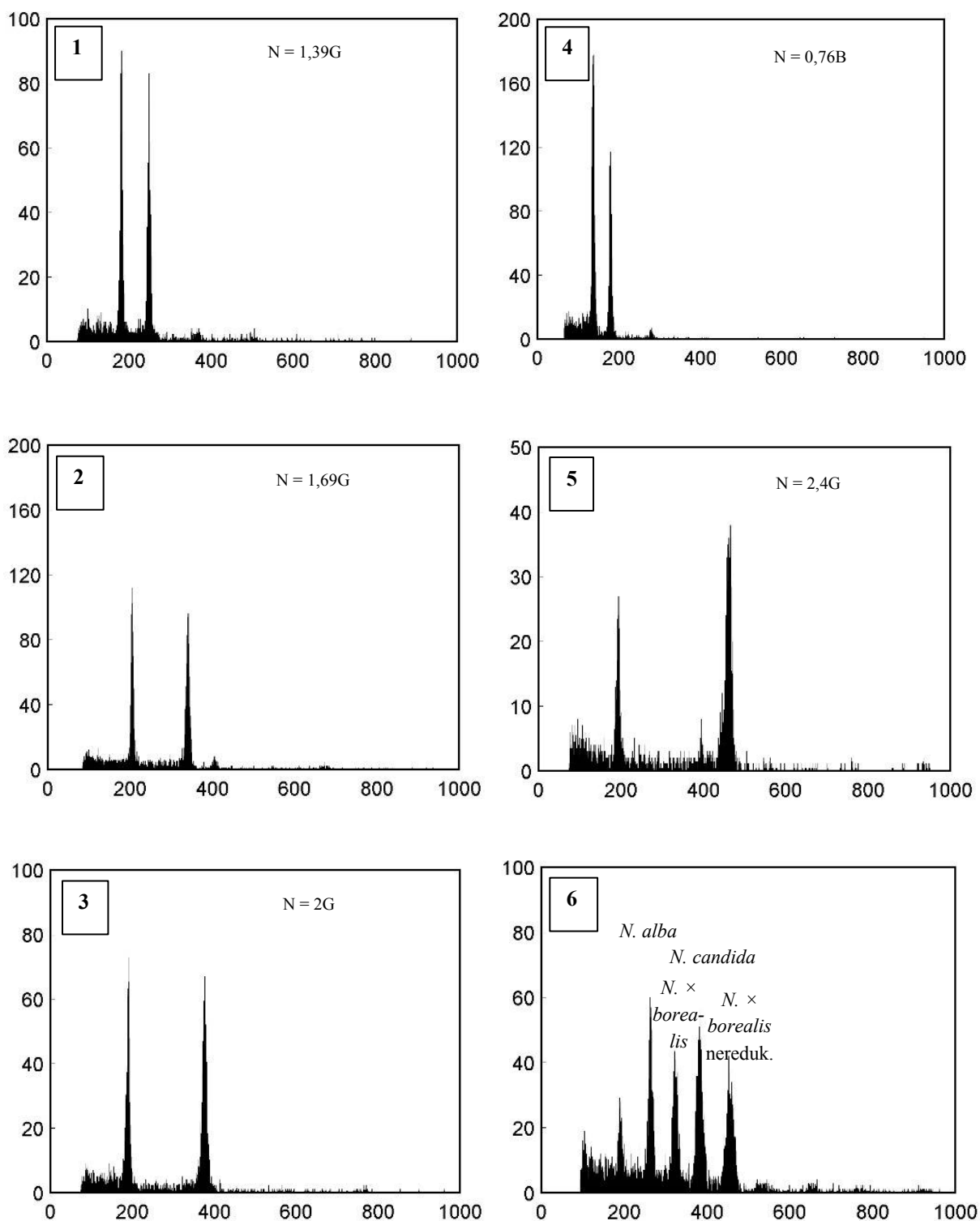
Výstupem z cytometrických analýz byly histogramy (**obrázek 18** na straně 51), zachycující na ose x fluorescenci jader a na ose y jejich počet. Na základě měření jaderné DNA vzniklo 5 jasných (až na výjimky nepřekrývajících se) skupin (**tab. 10**). Největší genom byl naměřen u hybridních jedinců z populace č. 67 (**tab. 11 v příloze, obr. 19**), kteří pravděpodobně vznikli splynutím neredukované gamety *N. alba* (4,5 pg) a redukované gamety *N. candida* (3,3 pg). Menší genom byl naměřen postupně u *N. candida*, hybridů vzniklých z normálních redukovaných gamet (2,2 + 3,3 pg), u *N. alba* a nejmenší genomy byly zaznamenány u většiny kultivarů. Výsledkem měření velikosti genomu 6 semenáčků v Botanické zahradě Univerzity Karlovy byly vždy čisté původní druhy.

Tabulka 10 – Průměrné velikosti genomu u cytometricky odlišených skupin.

	průměr	± SD	rozptyl	min	max	počet měřených jedinců
kultivary	3,32	0,09	0,25	2,79	4,53	112
<i>N. alba</i>	4,46	0,06	0,00	4,27	4,59	269
<i>N. × borelis</i>	5,50	0,02	0,00	5,45	5,52	8
<i>N. candida</i>	6,47	0,31	0,10	3,14	6,72	220
<i>N. × borelis nered.</i>	7,79	0,04	0,00	7,74	7,82	3



Obrázek 19 – Velikosti genomu (2C-hodnota) 572 měřených rostlin ukazují poměrně jasnou diferenciaci skupin. Pouze dva kultivary odpovídají obsahem jaderné DNA *N. alba*. Jedná se o kultivary 'Firecrest' (č. 26) a 'Virginalis' (č. 40) z průhonické sbírky, stejně jako kultivar s $2C=4$ pg – 'Pery's super red' (č. 53). U jedné rostliny *N. candida* z Dokeska (č. 57) byla naměřena hodnota $2n = 3,14$ pg, při opakovaném sběru však již nebyla potvrzena.



Obrázek 18 – výstupy z průtokového cytometru znázorňující intenzitu fluorescence studovaných vzorků a interního standardu lokalizovaného zhruba na kanále 200. Uvedeny jsou i poměry pík (N/G, N/B). 1 – *N. alba*, 2 – hybrid *N. × borealis*, 3 – *N. candida*, 4 – neurčený kultivar, 5 – hybrid *N. × borealis* z neredukované mateřské gamety *N. alba*, 6 – směsná analýza původních druhů a hybridů. Měřeno s barvivem DAPI, se standardem *Glycine max* 'Polanka', $2C = 2,5$ pg. * Vzorek 4 kvůli překryvu se sojou měřen se standardem *Bellis perennis* L. ($2C = 3,38$ pg). Svislá osa – počet jader, vodorovná osa – relativní fluorescence (velikost genomu).

4.3 MORFOMETRIKA

4.3.1 GEOMETRICKÁ MORFOMETRIKA

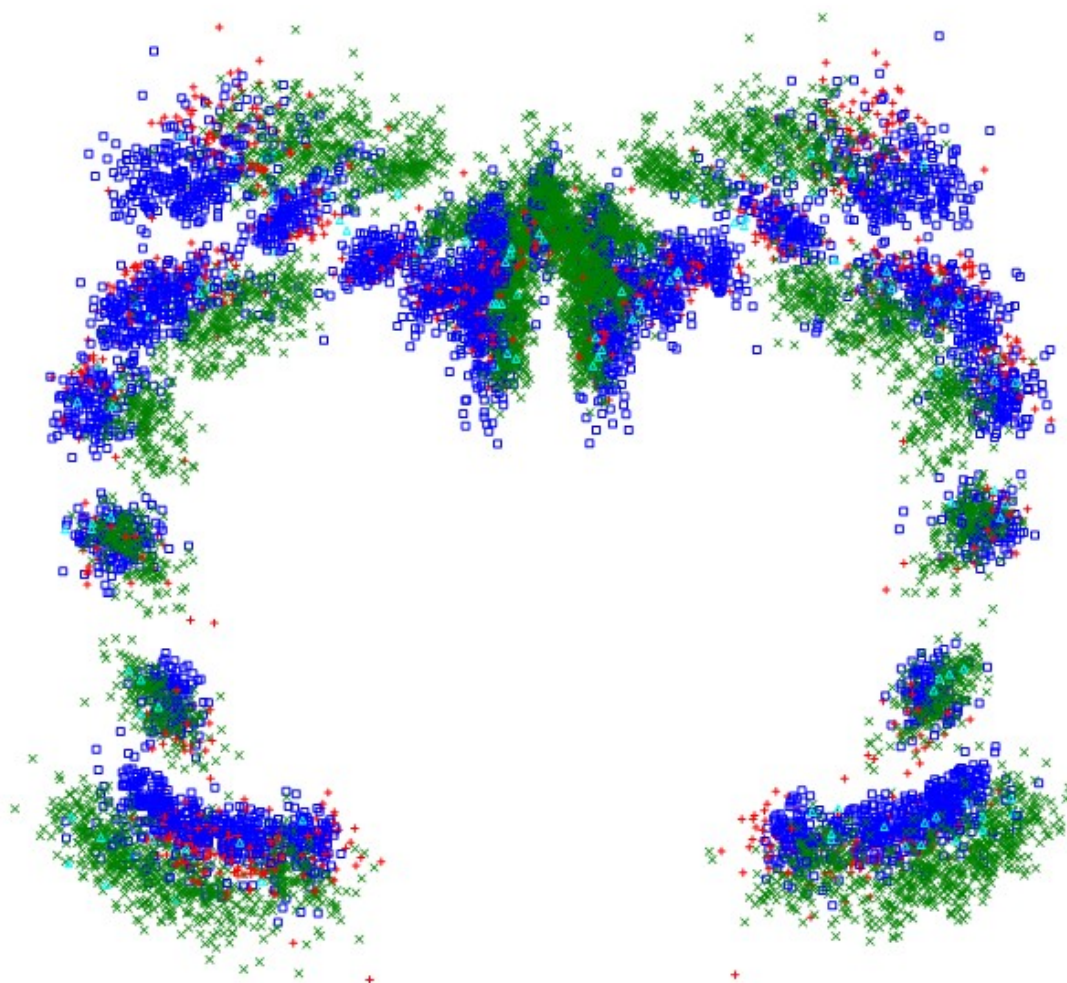
Zvlášť bylo hodnoceno 6 rostlinných částí: list, průřez květem, kališní lístky, korunní plátky, tyčinky a květní báze ze spodního pohledu.

Tvar **listů**, sjednocený prokrustovskou impozicí, byl zobrazen v programu PAST (**obr. 20 v příloze**). 25 význačných bodů, popisujících tvar pravé poloviny čepele a hlavní žilky listového laloku vykazuje variabilitu především v relativní šířce listového laloku a v poměru délky a šířky celého listu, kdy skupina s nejmenším genomem má široké listy, blíží se tvarem kruhu, a úzké listové laloky s přímými hlavními žilkami. Srovnání souřadnic význačných bodů bylo zobrazeno pomocí mnohorozměrné analýzy hlavních komponent, na které byly pro zajímavost zvlášť barevně označeny kultivary z botanické sbírky, ty ale nevyjadřují žádnou vlastní diferenciaci (**obr. 21 v příloze**). Již tato analýza ukázala jistou taxonomickou strukturu v datech.

Tato struktura byla dále zvýrazněna diskriminační analýzou (**obr. 22 v příloze**). Protože diskriminační analýza vyžaduje, aby každá ze skupin obsahovala více jedinců než je analyzovaných proměnných, skupina s deseti hybridy nebyla zahrnuta. Klasifikační diskriminační analýza ukázala, že na základě tvaru listů by mělo být možné správně zařadit 96% jedinců, bez zahrnutí hybridů. V programu tpsRegr byly k diskriminačním osám, vyjadřujícím nejlepší rozdělení skupin, přiřazeny rozdíly poloh význačných bodů, zobrazené pomocí deformačních mřížek. Krajní znázornění ve směru diskriminačních os jsou znázorněna **obrázkem 23 v příloze**.

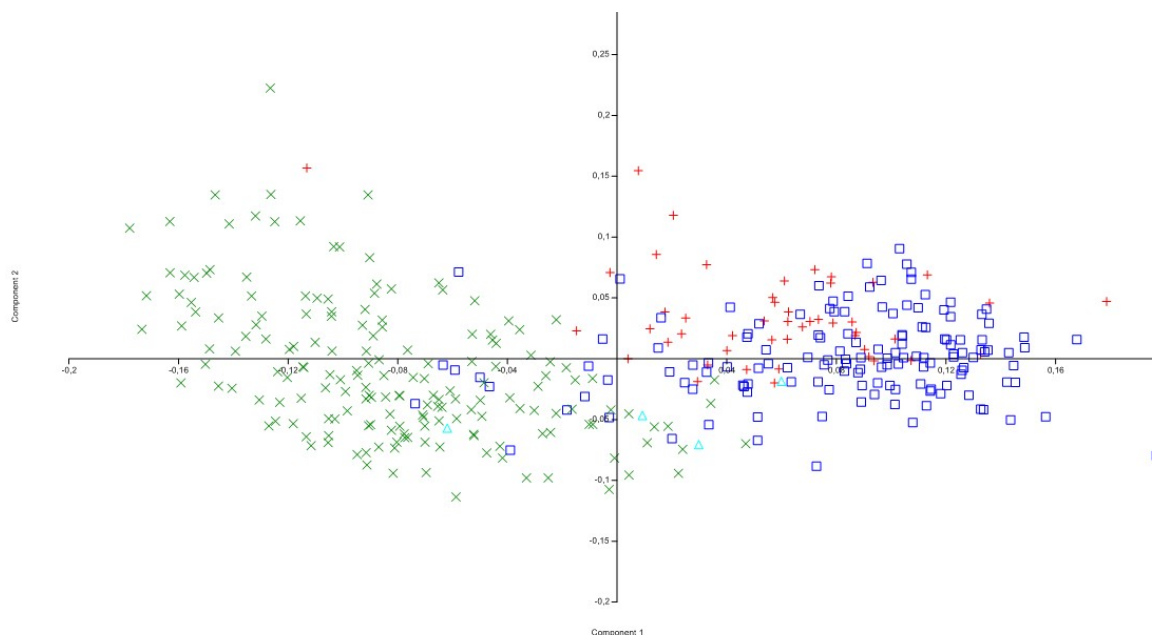
Bylo by velice praktické najít vegetativní znaky odlišující leknín bílý a pěstované odrůdy. Pro porovnání těchto dvou skupin a zvýraznění jejich rozdílnosti byly pomocí kanonické analýzy listy seřazeny ve směru nejlepšího odlišení na nové ose (pro dvě skupiny pouze jednorozměrný diagram) a k ní přiřazeny nové mřížkové deformace, zaměřené pouze na rozdělení těchto dvou skupin, viz **obr. 24 v příloze**. Podle grafu i klasifikační analýzy (**tab. 12 v příloze**) se skupiny překrývají tak, že 7 kultivarů a 4 zástupci *N. alba* se mísí, a ostatní lze definovat morfologickým rozpětím, jak je zobrazeno na připojených mřížkách. Deformační mřížky naznačují, že leknín bílý má oproti kultivarům vyklenutější vnitřní hrany listových laloků, mírně vyklenutější žilku laloku, oblejší konce laloků i vrchol listu a list je celkově užší a má relativně delší hlavní žebro.

Mnoho charakteristik v sobě zahrnuje **podélný průřez středem květu**. Překrytí 35 význačných bodů vyjadřuje následující zobrazení.



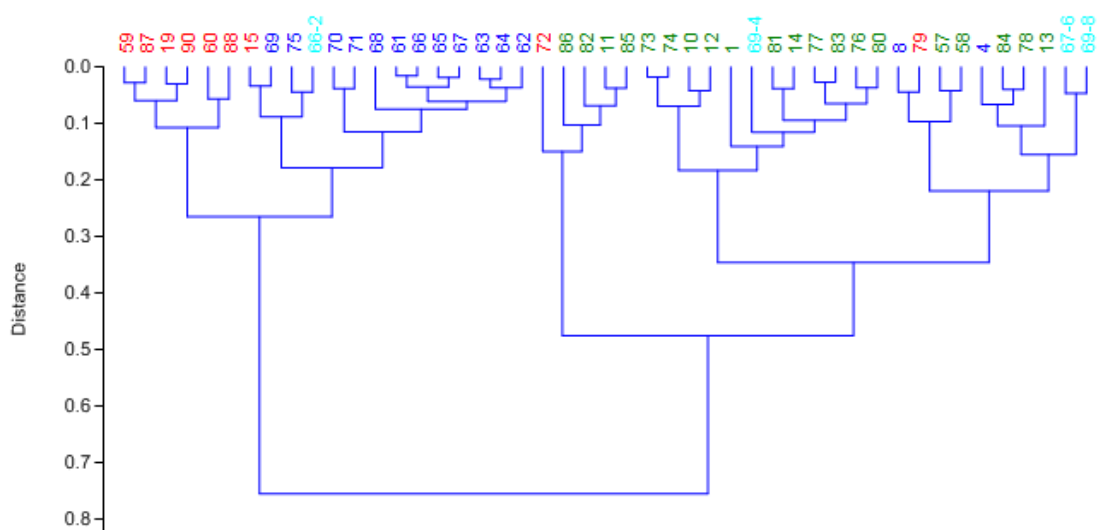
Obrázek 25 – Překrytí (*alignment*) 35 význačných bodů na podélném řezu pestíkem ukazuje rozdíly ve tvaru třech hlavních skupin. Hybridní jedinci (pouze 4) se pohybují ± na překryvu rodičovských druhů. Zelené ležaté křížky – *N. candida*, modré čtverce – *N. alba*, tyrkysové trojúhelníky – hybridy, červené křížky – kultivary.

Na překrytí landmarků na řezu květem lze pozorovat, že leknín bělostný má celkově relativně užší pestík i středový výčnělek, zatímco leknín bílý a kultivary mají podobný tvar semeníku a liší se především tvarem blizny, která je u kultivarů při krajích zvednutá, zatímco u leknínu bílého se stáčí dolů a je mírně vypouklá. Hybridy se pohybují mezi rodičovskými druhy, podobně jako bylo pozorováno u tvaru listů. Prvotní analýza hlavních komponent na jedincích (*obr. 26*) a shlukovací analýza populací (*obr. 27*) naznačily tvarovou podobnost pestíků leknínu bílého a kultivarů.



Obrázek 26 – PCA 35 významných bodů na květních průřezech. Zelené ležaté křížky – *N. candida*, modré čtverce – *N. alba*, tyrkysové trojúhelníky – hybridy, červené křížky – kultivary. První osa – 56,5 %, druhá osa – 16,2 % variability.

Kultivar v levé horní části diagramu je jediný zástupce kultivarů z lokality č. 72 z Břežyňského rybníka. Jedinci *N. alba* v levé části diagramu jsou zástupci populace č. 4 z jihomoravského jezírka Kutnar. Ve střední části se vyskytují zástupci populace č. 8 (Kokořínsko) promísení s populací č. 75 (Milotice).

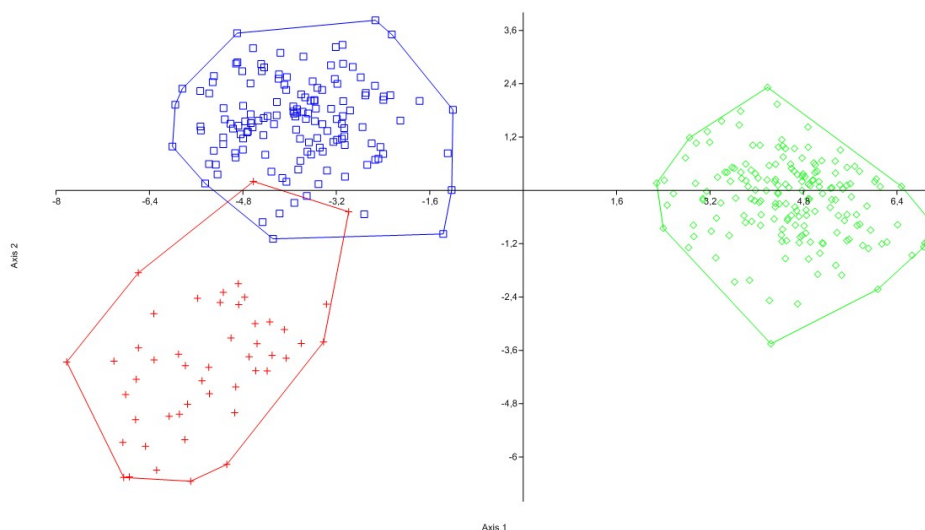


Obrázek 27 – Shluková analýza landmarků na květním řezu u 45 populací. Jednospojná metoda, Euklidovské vzdálenosti. Zelená – *N. candida*, modrá – *N. alba*, tyrkysová – hybridy, červená – kultivary.

Diskriminační analýzy ukázaly, že tvar pestíku je velmi dobrým rozlišovacím znakem mezi původními druhy a dá se podle něj správně zařadit i 96% kultivarů (**tab. 13, obr. 28**).

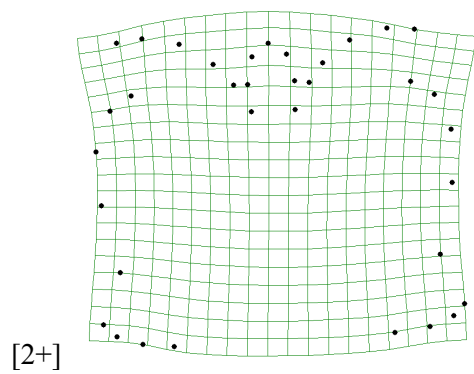
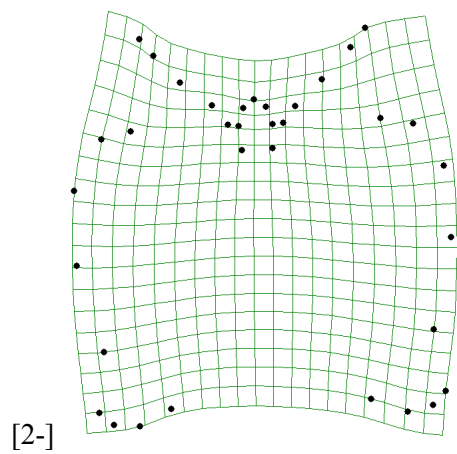
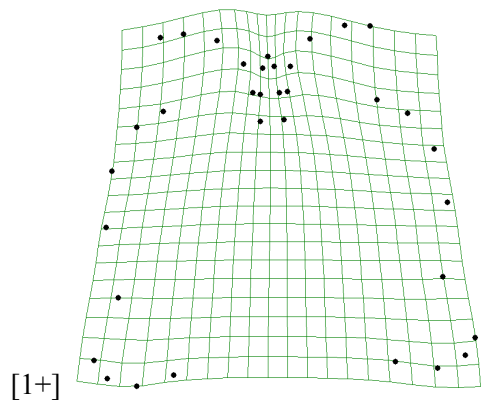
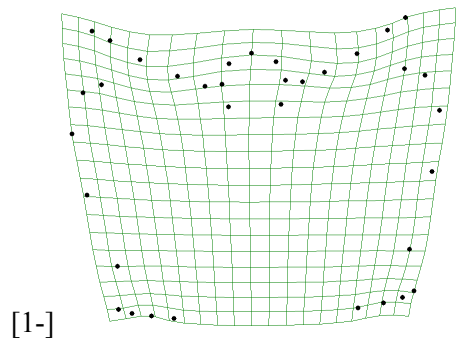
Tab. 13 – Úspěšnost klasifikace analyzovaných jedinců na základě celkového tvaru pestíku (počet procent/počet jedinců; 1 – kultivary, 2 – *N. alba*, 3 – *N. candida*)

0	1	2	3
1	95,8/47	4,2/1	0
2	0	100/141	0
3	0	0	100/176



Obrázek 28 – Diskriminační analýza tvaru 365 květů na průřezu dobře oddělila leknín bělostný. Červené křížky – kultivary, modré čtverce – *N. alba*, zelené kosočtverce – *N. candida*. První osa – 86,9 %, druhá osa – 14,1 % variability. Dva zástupci kultivarů, spadající do skupiny *N. alba*, jsou jedini zástupci populací č.72 (Břehyně) a č. 79 (Vyšehrad)

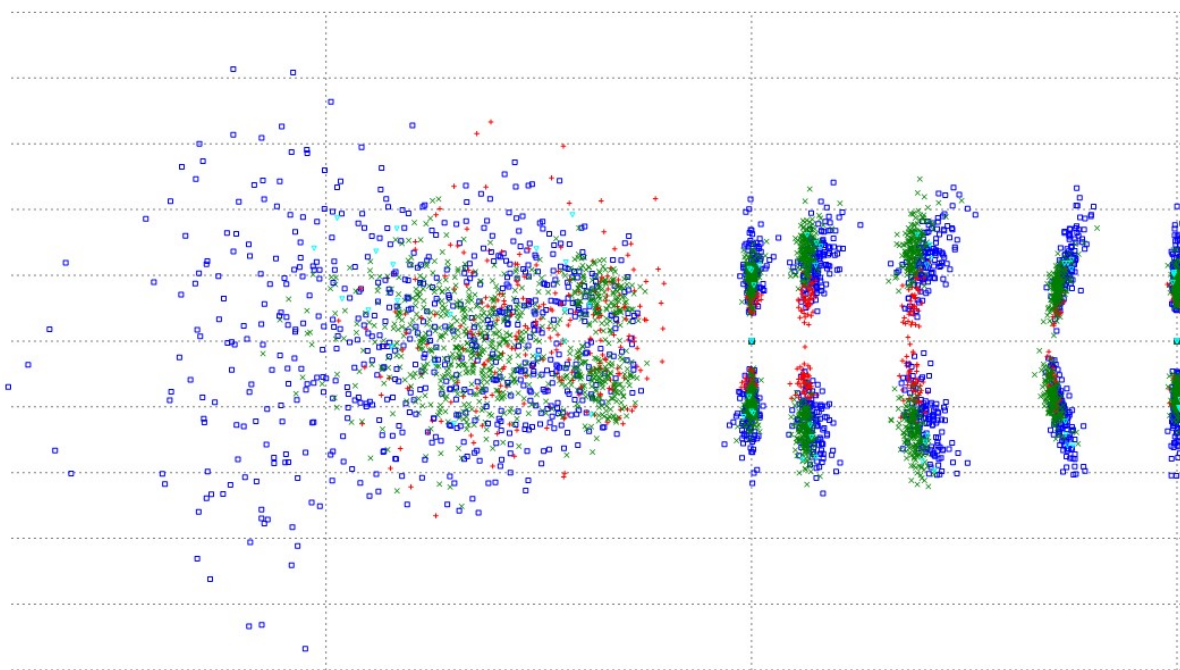
K diskriminačním osám byly přiřazeny extrémní tvary pestíku, znázorňující tvarovou variabilitu uvedené diskriminační analýzy (**obr 29**).



Obr. 29 – Variabilita tvaru pestíku podle kanonických os.

Následující zaměření pouze na část landmarků mělo upřesnit variabilitu tvaru blizny. Z celkového souboru jich bylo vybráno 17 (č. 10 až 26) a procedura opakována pro zjištění samotného významu tvaru této části pestíku. Překrytí bodů a jejich PCA ilustruje **obr. 30 v příloze**. Na překrytí bodů je názorněji patrný miskovitý tvar blizny kultivarů. Na základě komplexní geometrie pestíku je podle klasifikační analýzy možno zařadit správně 99,45% jedinců, na základě tvaru blizny pouze 96,16% (**tabulka 14 v příloze**), ale druh *N. candida* je možno dobře určit na základě tohoto samotného znaku. Diskriminační analýza s příslušným znázorněním tvarové variability blizny je na **obr. 31. v příloze**.

Tvar tyčinek byl hodnocen pomocí 15 význačných bodů, jejichž prokrustovské překrytí a analýzu hlavních komponent znázorňuje obrázek **32 v příloze**. Z překrytí landmarků jsou patrné především relativní rozdíly v šířce nitky a délce prašníku. DA a příslušné tvarové deformace zobrazuje **obr. 33 a tab. 15 v příloze**. Ze souřadnic landmarků byly poté vypočteny body, které se nacházejí ve středu báze nitky a ve středu rozhraní nitky a prašníku. Booksteinova superimpozice pak zarovнала souřadnice všech landmarků podle osy nitky, určené těmito dvěma body (**obr. 34**). Znázorňuje především variabilitu relativní velikosti prašníků oproti nitce a jejich zakřivení, které se přirozeně neodhalí diskriminační analýzou, neboť se asymetrické rozdíly všech jedinců ve výsledku zprůměrují. *N. candida* má podle tohoto zobrazení prašníky v rovině s osou nitky, *N. alba* a kultivary však nikoli. U kultivarů pozorujeme vedle zakřivení prašníků také úzkou nitku.



Obr. 34 – Meziskupinové rozdíly ve tvaru nitky a prašníku a jejich poměru vyjádřené polohou landmarků v Booksteinovském zarovnání. Vpravo báze, vlevo shluk bodů na prašnicích. Modré čtverce – *N. alba*, zelená x – *N. candida*, tyrkysová trojúhelníky – hybridy, červené křížky – kultivary.

Na korunních plátcích i kališních lístcích bylo rovněž umístěno 15 bodů. Překrytí všech korunních lístků ani PCA, jak ukazuje **obr. 35 v příloze**, nenasvědčují tvarové diferenciaci této květní části. Podle diskriminační analýzy (**obr. 36 a tab. 16 v příloze**) se rovněž jeví nízká. Podle tvaru korunních plátků lze správně zařadit jen 69,4 % rostlin.

Zato kališní lístky vykazovaly po překrytí a méně i v PCA (**obr. 37 v příloze**) oproti korunním o něco vyšší diferenciaci mezi skupinami a diskriminační analýza (**obr. 38, tab. 17**) správně zařadila 84,1 % jedinců. Z tohoto znázornění mimo jiné vyplývá, že původní taxony mají špičku kališního lístku ostřejší až kápoovitou a jeho báze, přisedající na semeník, je širší.

Překrytí a mnohorozměrné analýzy tvaru květní báze ukazují **obr. 39, 40 a tab. 18 v příloze**.

4.3.2 KLASICKÁ MORFOMETRIKA

Znaky byly vybrány podle publikovaných studií a podle variability zjištěné předchozí geometrickou analýzou. Nejprve byl testován dílčí význam znaků na listech pro odlišení taxonů. Poté byly testovány znaky na květech a finálně byly znaky shrnuty dohromady a hledaly se celkově nejlepší diskriminační charakteristiky, a to jak na souboru všech jedinců, tak pouze u vybraných skupin, v souladu s principem dichotomického určovacího klíče.

4.3.2.1 LISTY

Znaky na listech, které se uvádějí, jsou typicky délka a šířka listů, jejich poměr a úhel listového zářezu. Šířka laloku je nově použitý znak, definovaný jako maximální vzdálenost vyklenutí žilky od vnitřní strany laloku. Krabicové grafy, vyjadřující naměřenou variabilitu těchto základních listových charakteristik jsou na **obr. 41 v příloze**. Z geometricko-morfometrického výstupu vyplývá, že oblouk hlavní žilky listového laloku a vyklenutí vnitřního okraje laloku jsou výrazně vyvinuty u leknínu bělostného, naopak u pěstovaných odrůd jsou minimální. Musíme však brát ohled na fakt, že listy *N. candida* jsou celkově menší, proto charakteristika vynikne teprve v poměru k celkové velikosti listu. U hybridů s velkými listy se znak projevuje nejsilněji. Všech 22 znaků dohromady bylo zhodnoceno analýzou hlavních komponent (**obr. 42**).

Korelace znaků s osami naznačuje, že absolutní velikost většiny znaků stoupá směrem do prava, zatímco v levé části jsou drobné listy průhonických kultivarů. Znak L17, vysoký u kultivarů, je poměr mezi dvěma znaky, které by měly částečně negativně korelovat: vzdálenost nejširšího místa od vrcholu čepele a maximální šířka laloku. Podél druhé osy se odděluje *N. candida* od ostatních taxonů na základě vyklenutí hlavní žilky listového laloku a jeho vnitřní hrany. Hybridní jedinci se pohybují převážně na překryvu rodičovských taxonů.

Analýza hlavních komponent i shluková analýza (**obr. 43 v příloze**) ukazují poměrně jasné oddělení kultivarů ze sbírky a volně rostoucích kultivarů na základě měření listů, což je patrně způsobené drobným vzrůstem v mělkých zahradních nádržích a normálním vzrůstem v rybnících. Kultivary ze sbírky BÚ AVČR nebyly proto do dalších analýz zahrnuty. Při opakované shlukovací analýze (**obr. 44 v příloze**) je však struktura, vycházející ze znaků na listech, stále nepřehledná.

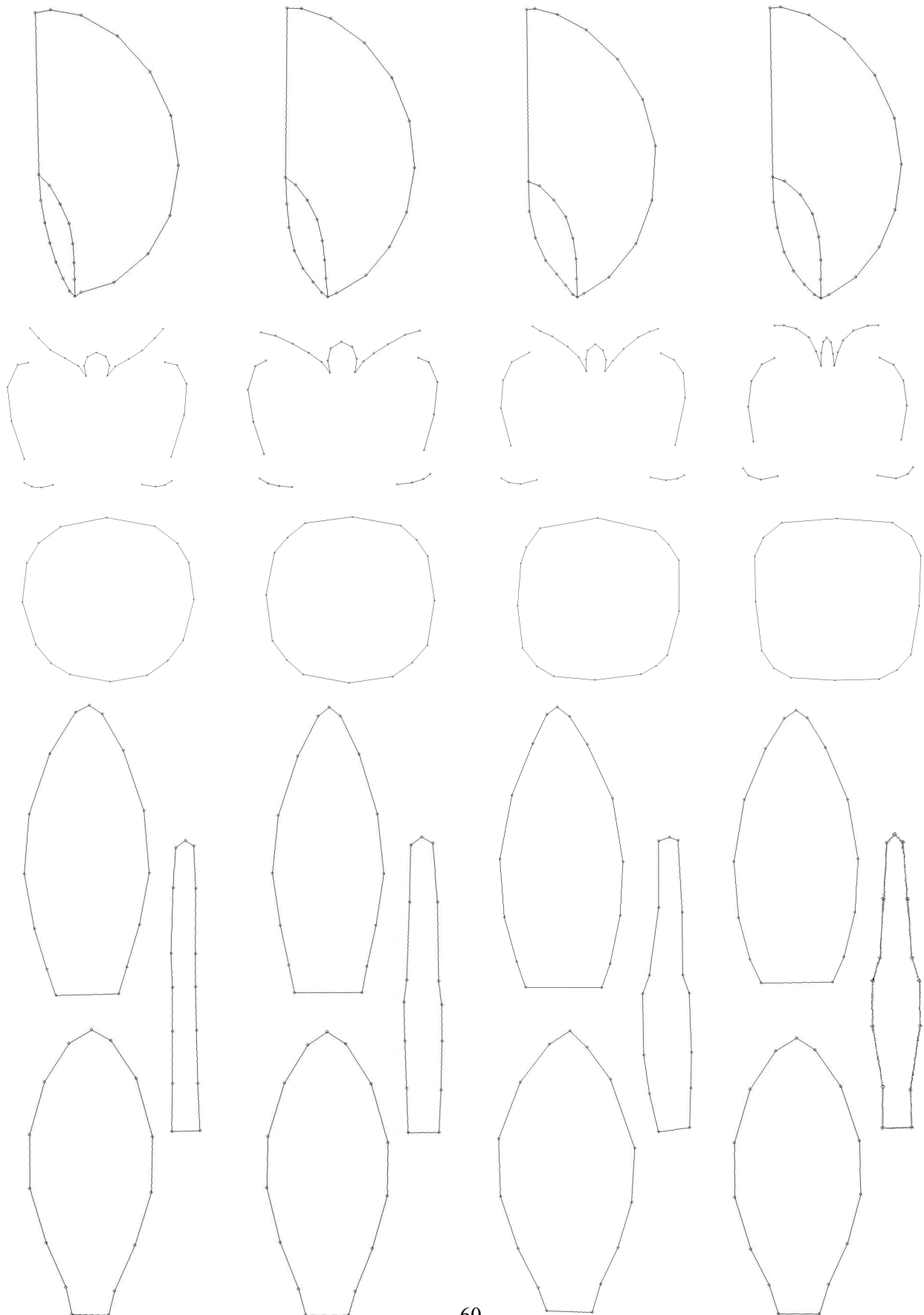
PRŮMĚRNÉ TVARY SKUPIN PODLE GEOMETRICKÉ MORFOMETRIKY

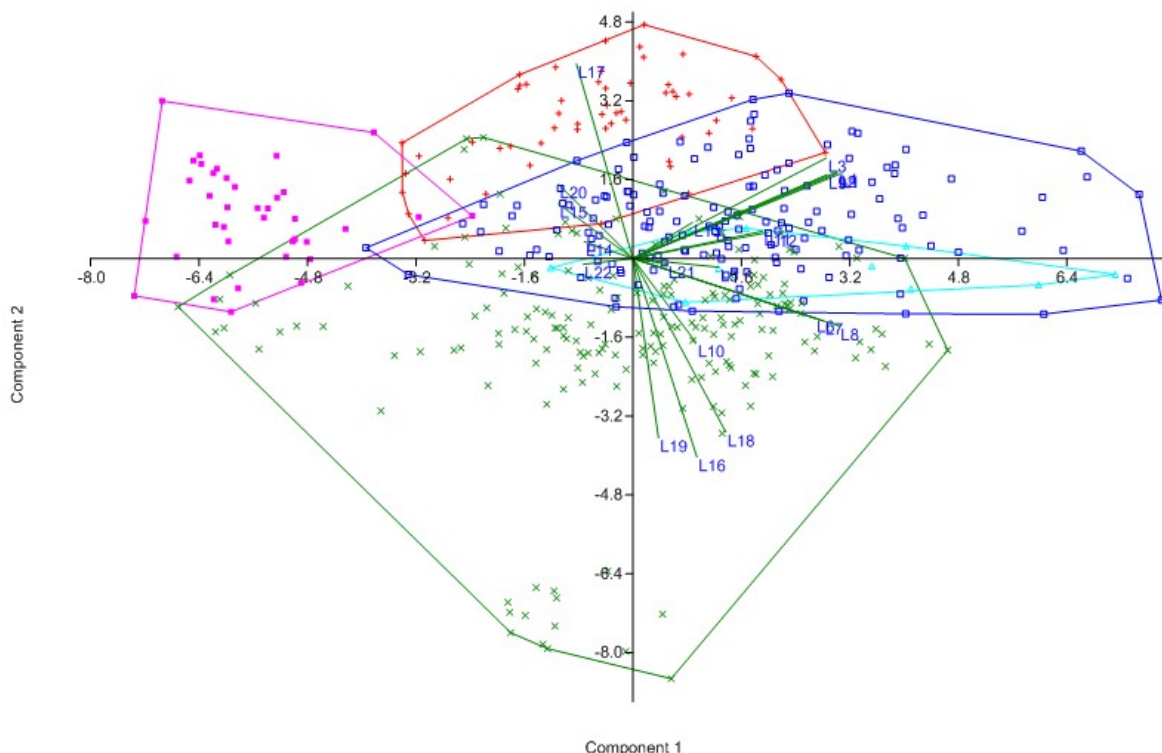
kultivary

N. alba

N. × borealis

N. candida





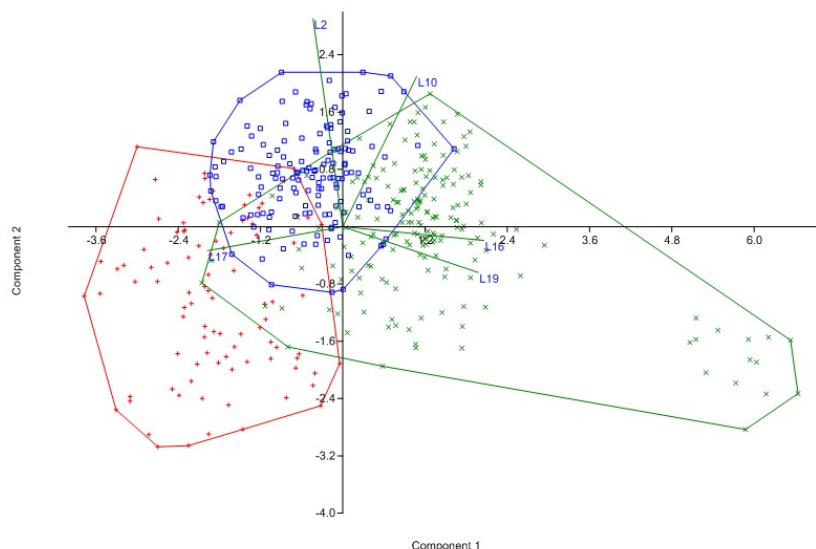
Obr. 42 – Dvojný graf (biplot). Standardizovaná PCA všech kvantitativních znaků na listech. První dvě osy vyjadřují 55% variability. Růžové plné čtverce – kultivary ze sbírek BÚ AV ČR v Průhonících, červené křížky – ostatní kultivary, modré čtverce – *N. alba*, zelená x – *N. candida*, tyrkysově trojúhelníky – hybridy.

Znaky jako délka žebra, celková délka listu a vzdálenost nejširšího místa od vrcholu vzájemně silně korelují ($>0,95$; **obr. 45 v příloze**), a proto musely být z diskriminační analýzy vyloučeny znaky L1 a L4 a nahrazeny poměrovými znaky, i když absolutní rozměry mohou být někdy významnější. Ze stejného důvodu byly odstraněny absolutní hodnoty znaků 6 a 7. Abychom mohli hodnotit co nejvíce znaků, byla z diskriminační analýzy vyřazena skupina 10 hybridů.

Při použití všech 18 znaků lze správně zařadit průměrně 94,4% jedinců (**tab. 19 a obr. 46 v příloze**). Dvojný graf potvrzuje, že *N. candida* se od ostatních odlišuje malou šířkou a délkou listů, zatímco kultivary se od *N. alba* odlišují především na základě úhlu listových laloků. Objektivně přínos znaků vyjadřuje kanonická struktura (**tab. 20 v příloze**), podle které byly vybrány následující znaky:

- L2 – délka listu**
- L10 – D/Š listu**
- L16 – Š laloku/D zářezu**
- L17 – D nejširšího místa/Š laloku**
- L19 – 6 (vyklenutí žilky)/D zářezu**

S použitím těchto 5 znaků byla průměrná úspěšnost určení pouze 84,6%, jak vyplývá z **tabulky 21 v příloze**. Vysoký překryv je rovněž patrný z analýzy hlavních komponent.



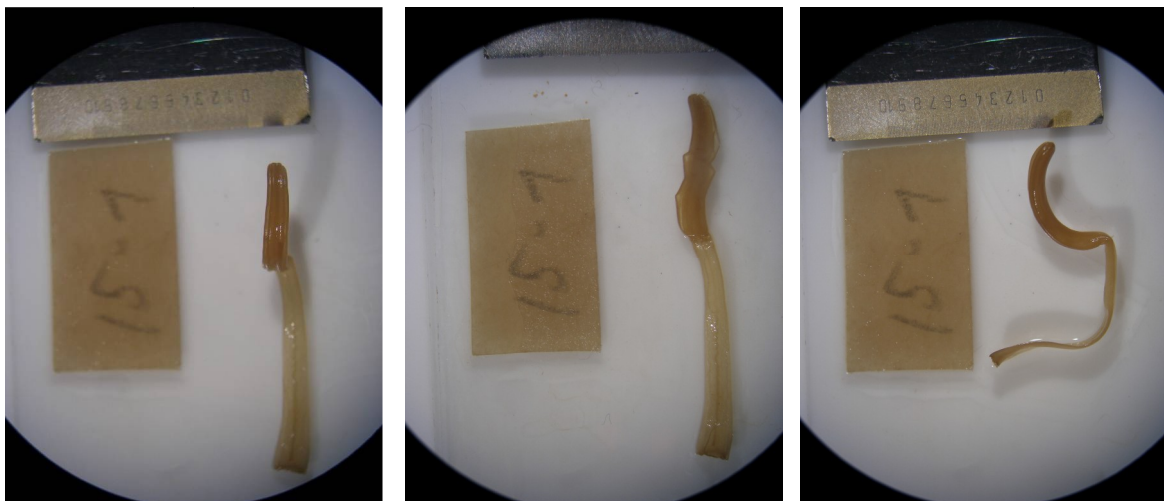
Obr. 47 – Standardizovaná PCA pěti vybraných znaků na listech; zobrazeno 79,9 % variability. Červené křížky – kultivary, modré čtverce – *N. alba*, zelená x – *N. candida*. Extrémní skupina jedinců *N. candida* v pravé části jsou zástupci populací 73 a 74 z nymburského Polabí.

4.3.2.2 KVĚTY

Nebyla zjištěna korelace stupně zralosti květu s žádným zkoumaným znakem, znaky jsou tedy nezávislé na fázi kvetení. Následuje přehled dílčích měřených částí květů, shrnuty jsou posléze mnohorozměrnými technikami, podobně jako listy.

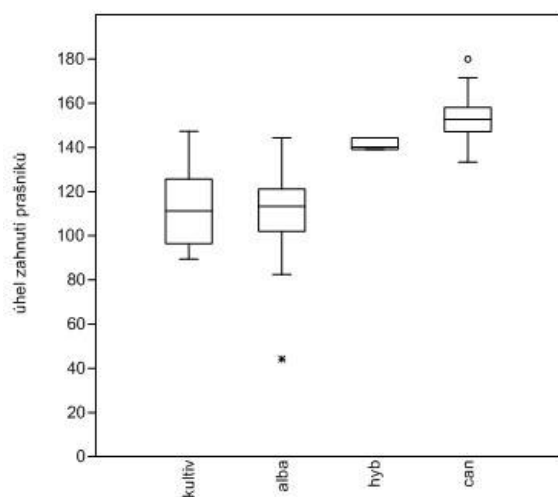
Znaky na pestíku a jejich poměry jsou zobrazeny na **obr. 48 v příloze**. Mezi důležité znaky patří např. počet plodolistů, poměry šířky a výšky bliznového výčnělku. Pozoruhodný je vysoký poměr šířky a výšky blizny u leknínu bílého. Významný se také jeví znak popisující absenci tyčinek na semeníku (**obr. 49 v příloze**). Na tyčinkách byly měřeny odvozené znaky, jako je poměr délky nitky a prašníku, poměr délky a šířky nitky (obojí dosahuje nejvyšších hodnot u kultivarů; viz **obr. 50**) a bylo zaznamenáno, která dvojice protilehlých bodů představuje nejširší místo na nitce, čímž by se měl částečně kvantifikovat tvar nitky (**obr. 51**). Nitky kultivarů jsou nejširší ve spodní $\frac{1}{4}$, případně v místě přechodu nitky a prašníku, zatímco *N. candida* má nitky téměř vždy nejširší v $\frac{1}{2}$ nebo $\frac{3}{4}$, podobně i *N. alba*, ta je ale variabilnější.

Při práci s tyčinkami bylo nově zaznamenáno, že se skupiny liší zakřivením prašníků. V literatuře se tento znak nevyskytuje, přestože je poměrně nápadný. Tyčinky leknínu bílého a šlechtěných linií činí problémy při fotografování na podkladu z čelního pohledu, a to i (nebo spíš především) pod sklem nebo lepicí páskou, kdy se tímto způsobem snažíme prašník narovnat, abychom zjistili délkové poměry. Nerovné prašníky jsou častou příčinou asymetrie tyčinky. Při analýze velkého množství různě asymetrických tyčinek se nicméně tato složka variability ztratí a není zohledněna ani diskriminační analýzou.



Obr 52 – Jedna tyčinka kultivaru fotografovaná: z čelního pohledu, kde je zkrácený délkový poměr nitky a prašníku (vlevo), z čelního pohledu pod sklem, kdy je již poměr věrnější, ale vzniká tvarová deformace prašníku (vprostřed) a z bočního pohledu, kdy je vidět prohnutí prašníku, typické pro pěstované odrůdy leknínů a druh *N. alba*.

Příklady různých úhlů jsou uvedeny na obrázcích v příloze. U původních leknínů (**obr. 53**) nejsou korunní lístky nikdy tak barevné a blizna se na krajích tolik nezvedá, jako u kultivaru na **obr. 54**. Nově objevený znak je zdá se velmi vhodný pro rozlišování původních druhů. Jeho rozpětí u jednotlivých skupin zobrazuje krabicový graf:



Obr. 55 – Úhel zahnutí prašníku z bočního pohledu je mezi původními taxony poměrně rozdílný.

Na vnějších korunních plátcích byla měřena délka a šířka, jak znázorňuje **obr. 56 v příloze**. Hybridy mají větší květy než rodičovské taxony. Korunní plátky l. bílého jsou poměrně úzké. U kultivarů jsou v průměru nejširší v 55% jeho délky, u domácích druhů je to o něco níže (**obr. 57 v příloze**).

Délka a šířka kališních lístků mají velmi podobnou variabilitu jako lístky korunní (**obr. 58 v příloze**). Délka a šířka kališních plátků rovněž koreluje a nejvyšších hodnot dosahují hybridní jedinci. Leknín bílý má podobně úzké kališní lístky jako l. bělostný, jsou však delší. Kultivary mají nejširší místo kališního lístku výše než ostatní skupiny (**obr. 59 v příloze**). Je zajímavé, že ač má *N. candida* co do šířky a délky nejmenší kališní lístky, jejich bázi má širokou. Vlastností kultivarů naopak je, že se jejich kališní lístky od báze znatelně rozšiřují (**obr. 60 v příloze**).

Byl počítán i poměr délky kališních a vnějších korunních lístků, neboť se jedná o jeden z uváděných rozdílů mezi původními druhy. U kultivarů je průměrně poměr roven 1, u *N. alba* 1,08 a u *N. candida* 1,2 (ale dosahuje i hodnot 1,7). Tento poměr má nepochybně vliv na tvar květu v otevřeném i zavřeném stavu.

Kališním lístkem prochází středová žilka a po jejích stranách vychází od báze víceméně souběžné žilky různé výraznosti. Po stranách středové žilky bývá dvojice žilek, které jsou méně výrazné, někdy sotva patrné a často nedosahují konce kališního lístku, proto se do počtů nezahrnují. Směrem k okrajům následuje počet (nejčastěji 3 nebo 4) podobně výrazných žilek, které se ke konci mohou větvit. Někdy se větví dříve, v takovém případě se počítají za jednu. Poslední započítávaná okrajová žilka musí přesahovat nejširší místo kališního lístku. Někdy jsou žilky nesymetrické a jejich počet může být sudý. Počet žilek se liší mezi skupinami velmi málo, většinou jich je 7–9, u leknínu bílého 7–8, což bude souviset s užšími kališními lístky.

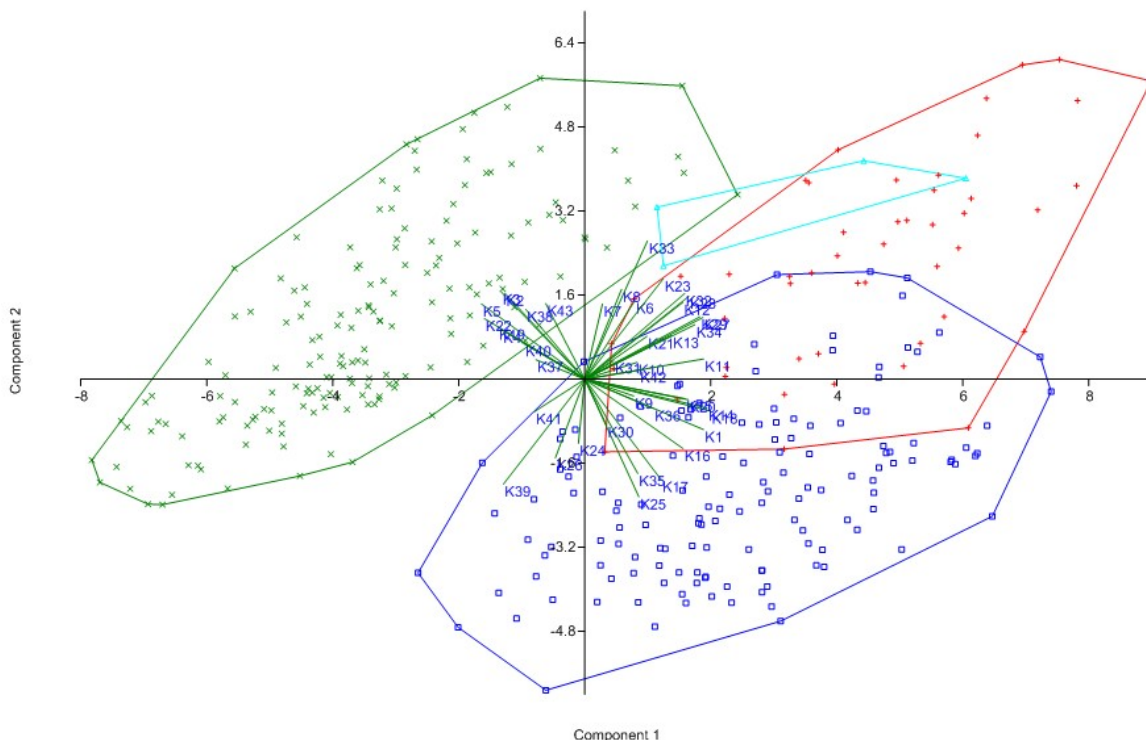
Kališní lístky jsou vždy v nějaké míře zelené a zajímavá je na nich spíše míra účasti růžové. Zelené kališní lístky tedy byly řazeny do kategorie „bílá“. Takové hodnocení umožňuje smysluplný převod kvalitativního hodnocení barvy na kvantitativní škálu. Většina kultivarů byla narůžovělá až růžová, *N. alba* byla oproti tomu většinou zcela bílá, nanejvýš narůžovělá, zatímco hybridy a *N. candida* se pohybovaly na škále od bílé po slabě růžovou.

Počet kališních lístků se obvykle pohybuje mezi 4 a 5, kdy hodnota 4,1 značí, že některé mají částečně charakter kalicha (v prostřední linii jsou zabarvené), avšak nemají vliv na tvar květní báze, která v takovém případě zůstává čtyřboká. Rozpětí 4,2 až 5 popisuje kontinuum, kdy korunní plátek nebo plátky přebírají funkci, tloušťku a barvu kališních lístků a zároveň mění tvar květní báze směrem k pětiúhelníku. U květů s kruhovouází se počet kališních lístků ve tvaru neprojevuje. Nejvyšší počet kališních lístků byl zaznamenán u leknínu bílého (průměr 4,2), o něco nižší u kultivarů, u l. bělostného téměř vždy 4.

Ze spodního pohledu byly počítány také vzdušné kanálky v květní stopce. Nejvyšší počet byl u kultivarů (prům. 4,4), nejnižší u *N. candida* (4,1), pravděpodobně kvůli celkové velikosti květů (znak slabě koreluje s počtem plodolistů a délkou kališních lístků).

4.3.2.3 Shrnutí znaků na květech

Prvotní ordinační diagram na základě všech generativních znaků zcela oddělil původní druhy, jejich hybridy jsou podle znázornění v nektěrych znacích intermediární, v jiných znacích zaujímají (mezi původními zástupci) téměř extrémní hodnoty. Problematické se jeví kultivary a jejich podobnost *N. alba*.



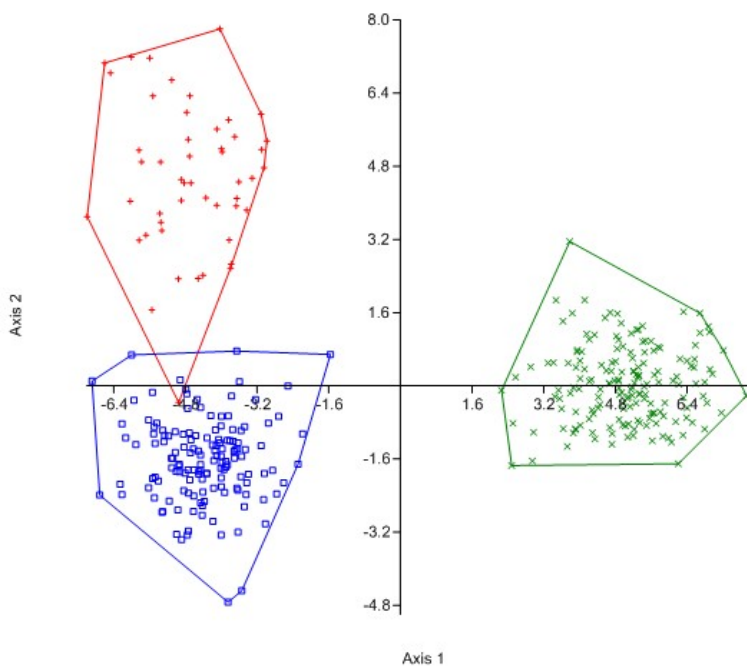
Obr. 61 – Standardizovaná PCA všech 43 znaků měřených a hodnocených na květech. Zobrazeno je 48,6% variability.

Délka korunních plátků silně koreluje se vzdáleností nejširšího místa plátku od jeho báze (0,97). Znak K29 byl proto vyřazen. Následná diskriminační analýza ukázala, že podle květů je možné rozeznat téměř všechny jedince.

Tab. 20 – Procentuální úspěšnost klasifikace analyzovaných jedinců na základě všech generativních znaků (1 – kultivary, 2 – *N. alba*, 3 – *N. candida*)

0	1	2	3
1	98	2	0
2	0	100	0
3	0	0	100

Obr. 62 – CVA znaků na květech. Kultivar zasahující do skupiny 'alba' je jediný zástupce z lokality č. 79 z rybníku Vyšehrad v jižních Čechách. Jedná se o jediný čistě bílý nalezený kultivar.

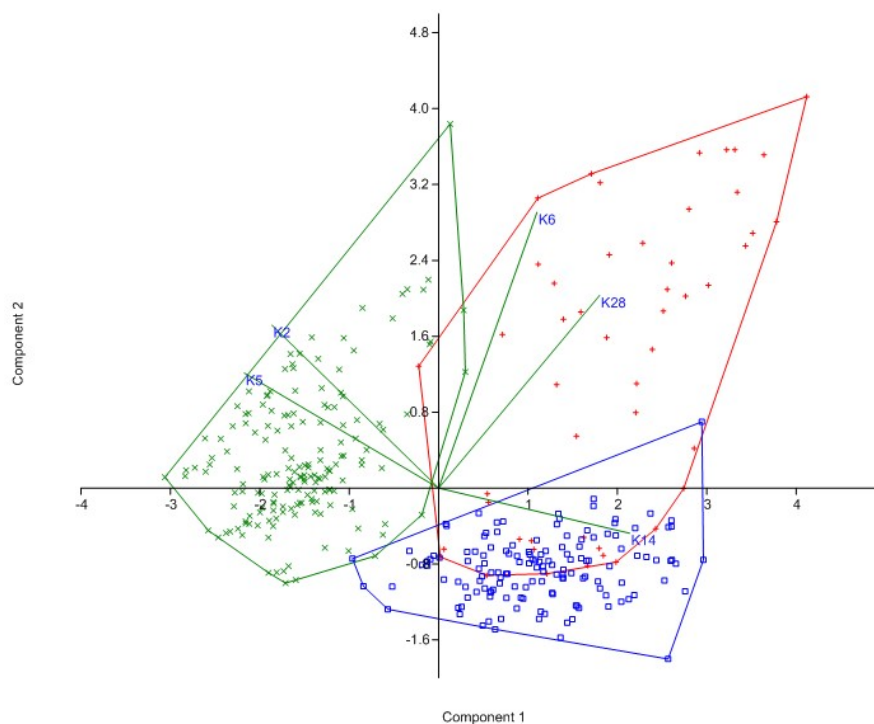


Podle celkové kanonické struktury (**tab. 21 v příloze**) jsou nejvýznamnější znaky K2 – barva blizny, K5 – úhel prašníků, K6 – barva koruny, K28 – šířka korunních plátků a K14 – šířka blizny. Tyto znaky mohou dopomoci k určení 88, 2% rostlin.

Obr. 63 – PCA 5
vybraných znaků na
květech. Zobrazeno 78,6%
variability.

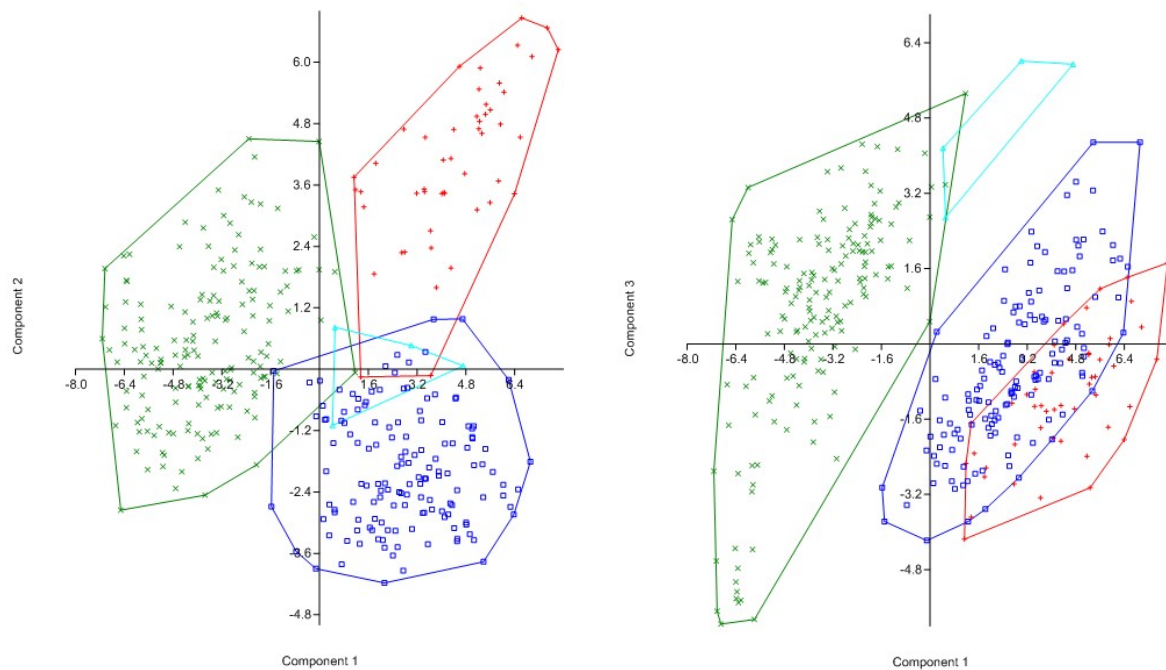
Tab. 22 – Procentuální
úspěšnost klasifikace
analyzovaných jedinců na
základě všech
generativních znaků (1 –
kultivary, 2 – *N. alba*, 3 –
N. candida)

0	1	2	3
1	67,3	30,6	2,1
2	0,6	98	1,4
3	0,6	0	99,4

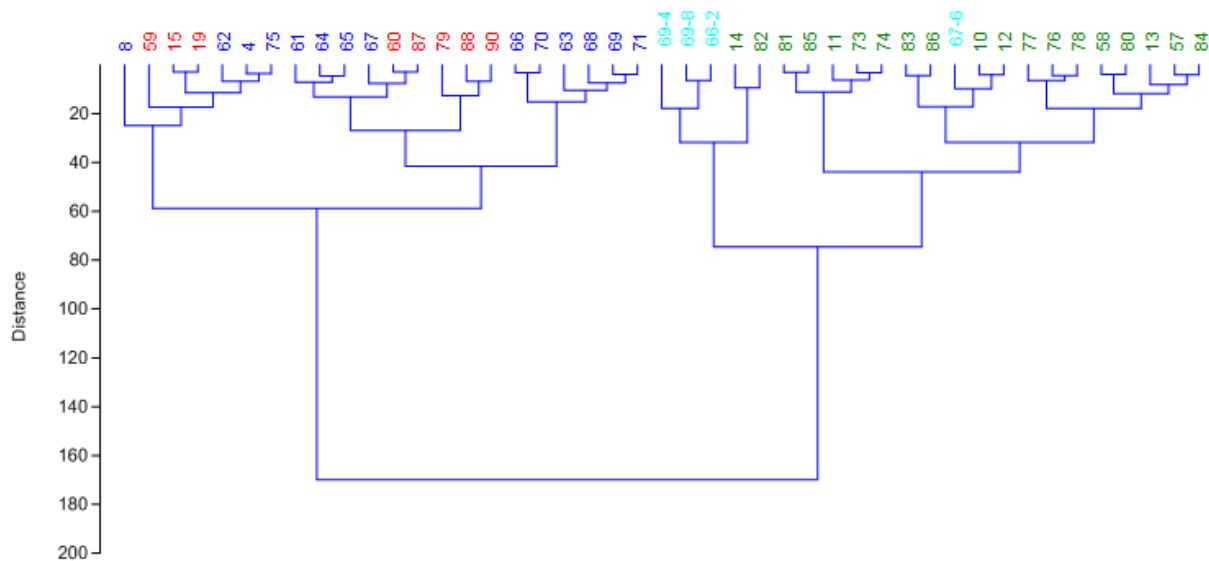


4.3.2.4 Shrnutí měřených znaků

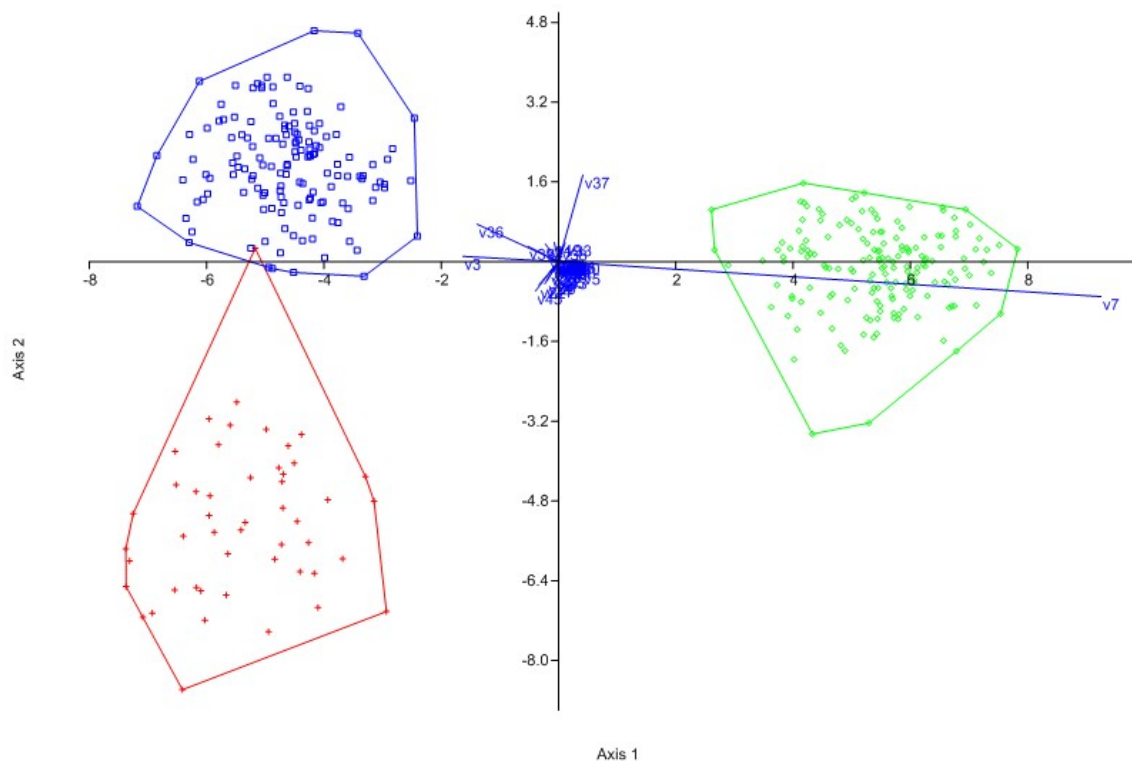
Měření 38 původních a 28 odvozených poměrových znaků u všech 4 skupin je shrnuto v **tabulce 23 v příloze**. Ze souboru byly vyřazeny některé ze znaků vzájemně silně korelujících a na celém souboru byla provedena analýza hlavních komponent, shlukovací analýza populačních průměrů a diskriminační analýza (klasifikační a kanonická). Podle kanonické struktury byly vybrány znaky nejlépe oddělující taxonomické skupiny.



Obr. 64 – Standardizovaná PCA všech znaků. První tři osy vyjadřují 52,4% variability. Červené křížky – kultivary, modré čtverce – *N. alba*, zelená x – *N. candida*, tyrkysové trojúhelníky – hybridy.



Obr. 65 – Shluková analýza populací s použitím Wardova algoritmu.



Obr. 66 – Kanonická diskriminační analýza všech znaků. Červené křížky – kultivary, modré čtverce – *N. alba*, zelené kosočtverce x – *N. candida*. Vychýlený kultivar je opět zástupce populace č. 79.

Tab. 30 – Procentuální úspěšnost klasifikace analyzovaných jedinců na základě všech znaků (1 – kultivary, 2 – *N. alba*, 3 – *N. candida*)

0	1	2	3
1	98	2	0
2	0	100	0
3	0	0	100

Diskriminační analýzy na základě znaků na květech a na základě všech znaků jsou velmi podobné a kanonická struktura ukazuje, že celkově nejlepší znaky pro odlišení skupin jsou již testované znaky na květech (**tab. 31 v příloze**).

4.3.2.5 Postupná diskriminace taxonomických skupin

Pro tvorbu dichotomického určovacího klíče byly nejprve hledány znaky odlišující původní taxony (včetně hybridů) od nepůvodních kultivarů. Posléze jsem se zaměřila na rozeznání leknínu bílého a bělostného. Nakonec byly testovány znaky odlišující původní druhy od jejich hybridů. Zvláště

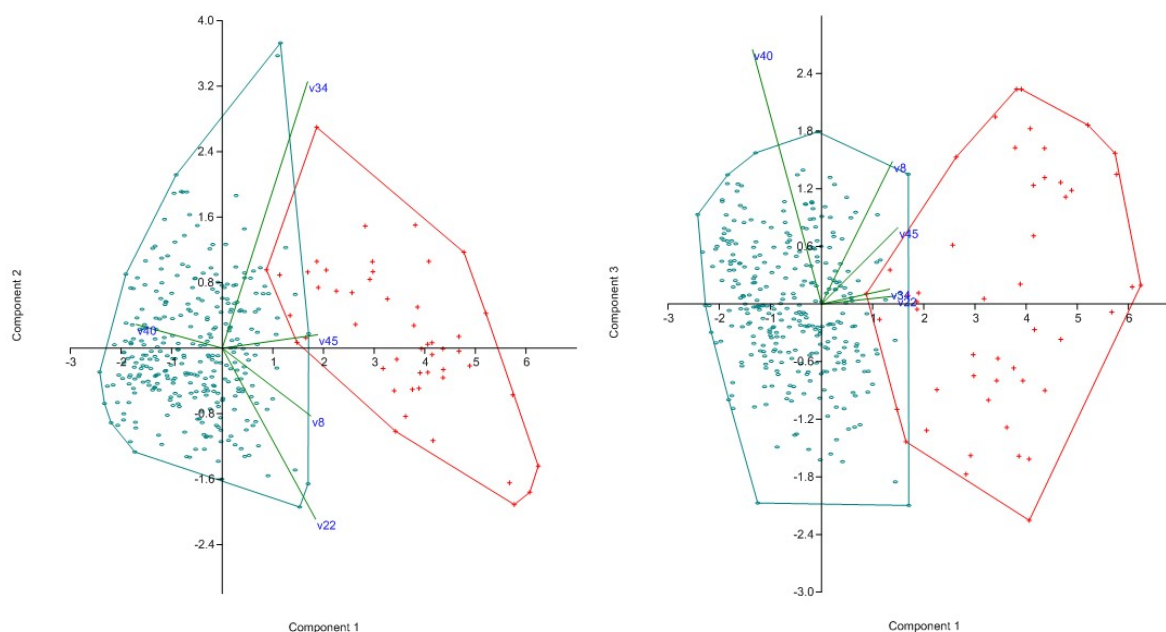
byly hodnoceny znaky generativní a vegetativní, poté všechny znaky dohromady. Hledání korelačních koeficientů znaků bylo provedeno v programu SAS 9.1, stejně jako jednorozměrné diskriminační diagramy.

4.3.2.5.1 PŮVODNÍ versus NEPŮVODNÍ

Nejprve byly hledány vhodné znaky zvlášť na listech a poté na celé kvetoucí rostlině. Kanonická diskriminační analýza s použitím 18 vegetativních znaků neoddělila příliš dobře původní taxony od nepůvodních (**obr. 67 v příloze**). Podle celkové kanonické struktury (**tab. 32 v příloze**) byly vybrány 3 znaky: L8 – šířka laloku, L10 – poměr délky a šířky listu a L17 – poměr vzdálenosti nejširšího místa listu od vrcholu a šířky laloku.

Podle 3 vybraných vegetativních znaků lze průměrně zařadit správně 88,7 % jedinců (**obr. 68 a tab. 32 v příloze**). Podívejme se nyní, které znaky jsou celkově nejlepší pro odlišení původních a nepůvodních zástupců leknínů.

Ani diskriminační analýza s použitím všech znaků nedokázala zcela oddělit původní rostliny od kultivarů (**obr. 69**). Problémem je opět jediná rostlina z rybníka Vyšehrad. Ze všech znaků mají nejlepší kanonické korelační koeficienty (**tab. 33**) znaky diskriminační analýzou kódované jako v8 – barva koruny, v22 – délka korunních plátků, v34 – poměr délky a šířky nitky a ze znaků na listu již zdůrazněné v40 – poměr délky a šířky listu a v45 – poměr vzdálenosti nejširšího místa listu od vrcholu a šířky laloku.



Obr. 70 – Standardizovaná PCA 5 vybraných vegetativních i generativních znaků k rozlišení původních (zelené ovály) a nepůvodních (červené křížky) rostlin. Zobrazeno 81,9% variability.

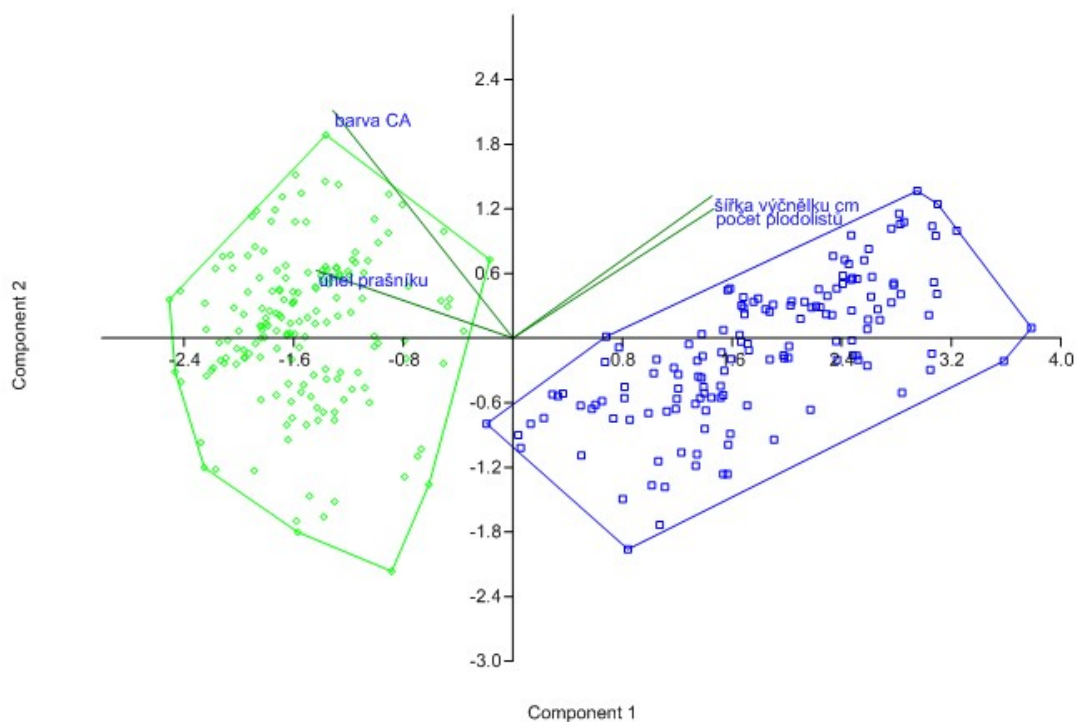
Tab. 34 – Procentuální úspěšnost klasifikace analyzovaných jedinců na základě 5 vybraných znaků (1 – kultivary, 2 – původní druhy)

0	1	2	celkem jedinců ve skupině
1	89,8	10,2	49
2	0,6	99,4	3166

4.3.2.5.2 *N. ALBA* versus *N. CANDIDA*

Ani při rozlišování původních druhů nebyly vegetativní znaky samy o sobě příliš úspěšné, skupiny se velmi překrývaly (**obr. 71 v příloze**). Z celého souboru znaků na listech byly pro oddělení *N. alba* a *N. candida* nejvýznamnější L3 – šířka listu, L17 – poměr vzdálenosti nejširšího místa listu od vrcholu a šířky laloku a L19 – poměr vyklenutí žilky laloku a délky zářezu (**tab. 35 v příloze**). S pomocí těchto 3 znaků je možné dobře zařadit průměrně 88,4 % listů (**obr. 72 a tab. 36 v příloze**).

Zato znaky na kvetoucích rostlinách (**tab. 37 v příloze**) zcela rozdělily dva původní druhy (**obr. 73 v příloze**). Byly vybrány 4 znaky, jejichž sloučením je možné stále relativně dobře rozlišit druhy *N. alba* a *N. candida*. Jedná se pouze o znaky na květech.



Obr. 74 – Standardizovaná PCA ukazuje, že i 4 znaky na květech stačí k odlišení leknínu bílého (modré čtverce) a l. bělostného (zelené kosočtverce). Vyjádřeno je 79,7% variability.

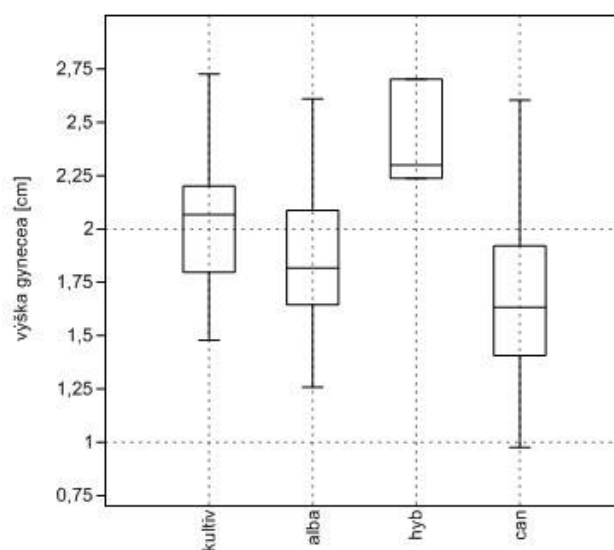
Tab. 38 – Úspěšnost klasifikace na základě 4 vybraných znaků (% / počet jedinců; 1 – kultivary, 2 – původní druhy)

0	1	2
1	99,3/142	0,7/1
2	0	100/169

4.3.2.5.3 PŮVODNÍ DRUHY versus HYBRIDY

Heterozní efekt u hybridů

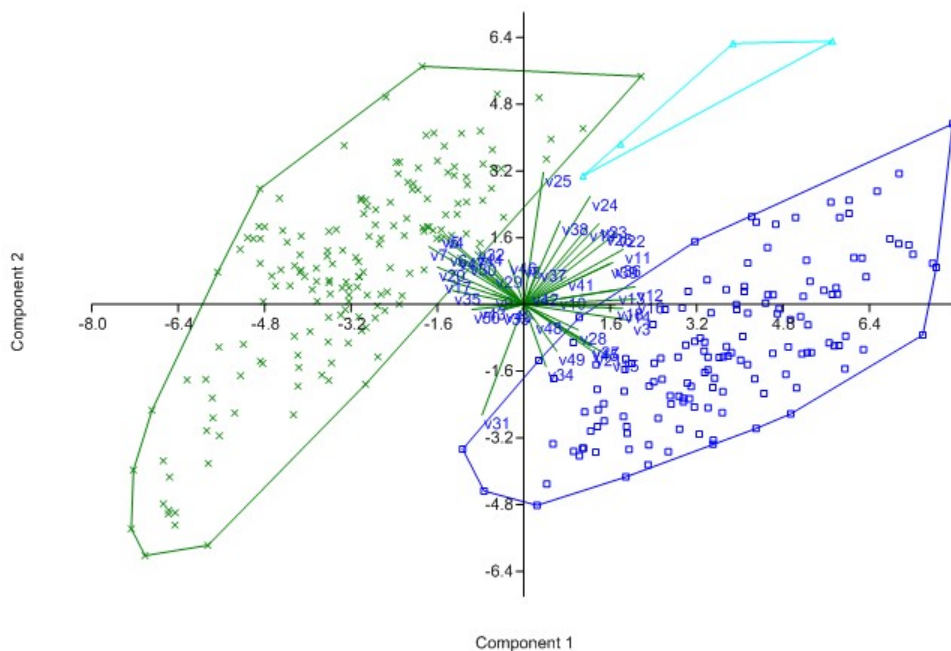
Hodnoty výšky blizny nebo celého pestíku, šířka semeníku, rozměry kališních a korunních lístků a v menší míře také délka a šířka listů (obrázky **41**, **56**, **58**) jsou znaky, které na první pohled upozorňují na fakt, že se u hybridních jedinců uplatňuje tzv. *heterozní efekt*, kdy potomstvo vykazuje různým způsobem vyšší kvality než jeho rodiče. Jedná se prakticky o opak inbrední deprese, protože se hybridizací zvyšuje genetická variabilita a nevýhodné recesivní alely se mohou dostat do blízkosti alel dominantních, čímž se eliminuje jejich nepříznivý efekt (Ledig 1986).



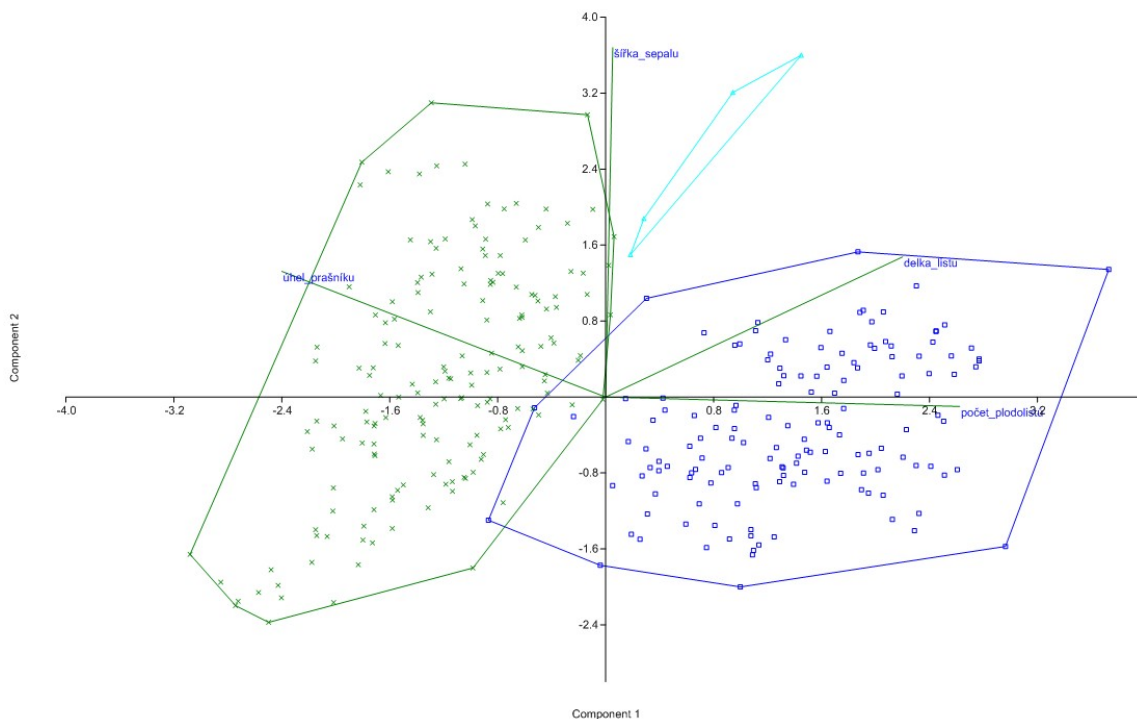
Obr. 75 – Výška pestíku je příkladem heterozního efektu u hybridů

Pozorovala jsem proto, jak se absolutní velikost promítá do celkové struktury původních rostlin a jejich hybridů (**obr. 75**).

Pro diskriminační analýzu je však počet znaků omezen počtem hybridních jedinců, který je v případě květů pouze 4. Protože nebylo korektní z těchto důvodů hledat znaky diskriminační analýzou, experimentálně jsem dosazovala znaky dvou typů. Z PCA vyplývá, že hybridy jsou v některých znacích intermediární mezi rodiči, zatímco v jiných jsou nadprůměrní. S tímto záměrem jsem dospěla ke 4 znakům (**obr. 76**)



Obr. 75 – Standardizovaná PCA původních druhů a 4 hybridů s použitím všech 48 znaků ukazuje, že je možno hybridy odlišit. Zobrazeno 43% variability. Tyrkysové trojúhelníky - hybridy, modré čtverce – *N. alba*, zelená x – *N. candida*. Zkratky znaků podle **tab. 37**.

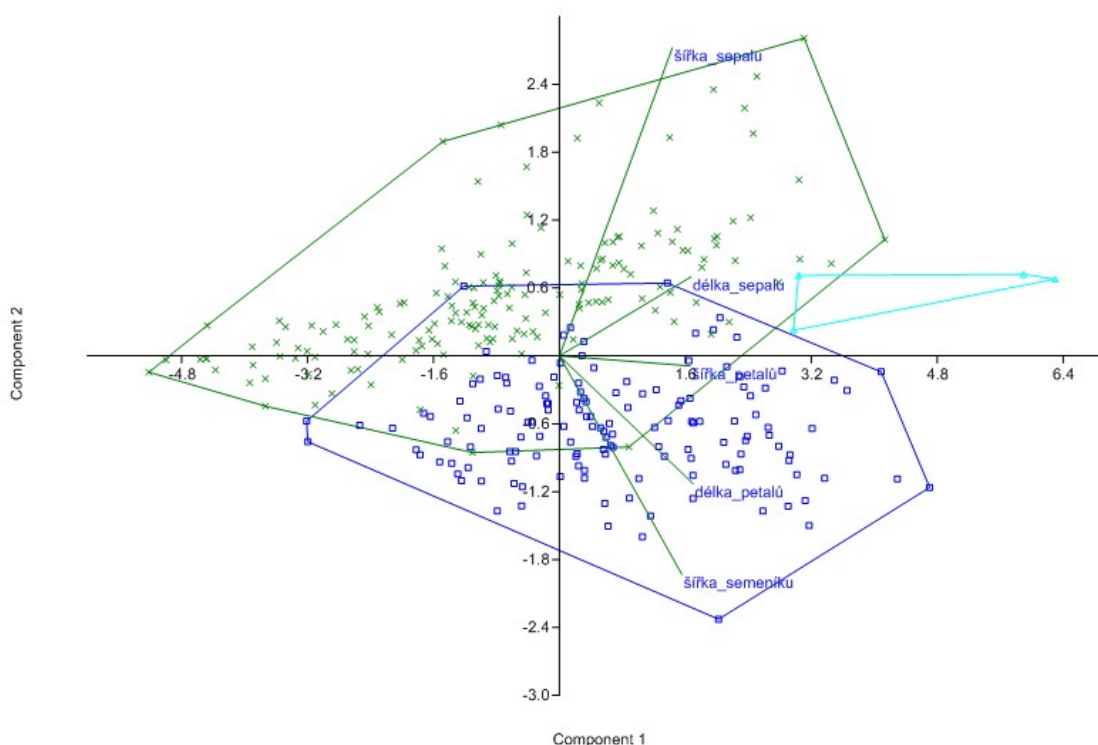


Obr. 76 – PCA (84,3% variability), dvojný graf zobrazující 4 vybrané znaky (tyrkysové trojúhelníky – hybridy, modré čtverce – *N. alba*, zelená x – *N. candida*)

V absolutních rozměrech listů a květů (zejména šířka kališních lístků) se hybridy čadí mezi největší rostliny. Ve znacích, které dobře oddělují dva původní druhy, jako je počet plodolistů nebo úhel zahnutí tyčinek, jsou umístěny ve středu kontinua. Podle takového souboru znaků by mohlo být možné hybridní jedince rozeznat, avšak počet zástupců, ze kterého vycházíme, není dostatečný pro jednoznačné závěry.

Navzdory porušení předpokladu, že počet znaků by neměl přesahovat počet jedinců v žádné ze skupin, byly hledány odlišovací charakteristiky i diskriminačními postupy. Jednorozměrná CDA hybridy na základě všech znaků oddělila (**obr. 77 v příloze**), avšak korelační koeficienty analýzy (**tab. 39 v příloze**) jsou vesměs nízké ($<0,5$), což může být způsobeno spojením původních druhů v analýze do jedné skupiny, a zřejmě by bylo třeba hledat zvlášť znaky odlišující hybridy od *N. alba* a od *N. candida* zvlášť.

CDA vybrala nicméně jiných 5 znaků, týkajících se absolutních rozměrů, především kalicha a koruny. PCA na základě tohoto souboru znaků ho však činí méně přesvědčivým.



Obr. 78 – PCA na základě 5 znaků, vybraných kanonickou diskriminační analýzou. Vyjádřeno 89,1% variability.

4.3.2.6 DICHOTOMICKÝ KLÍČ

Nejprve je uveden klíč k určování sterilních rostlin, jehož rozpětí znaků má však větší překryv, a určení nebude z toho důvodu jisté. Lekniny bychom měli určovat kvetoucí.

4.3.2.6.1 Klíč pro nekvetoucí rostliny

1 a

Poměr délky a šířky listu (0,9) – 1 – (1,1)

Šířka laloku (14) – 27 – (19) mm

Poměr vzdálenosti nejširšího místa listu od vrcholu a šířky laloku (5) – 7 – (9)

..... **kultivary**

1 b

Poměr délky a šířky listu (1) – 1,1 – (1,2)

Šířka laloku (15) – 41 – (28) mm

Poměr vzdálenosti nejširšího místa listu od vrcholu a šířky laloku (3) – 4,5 – (6)

..... **původní druhy – 2**

2 a

Poměr vzdálenosti nejširšího místa listu od vrcholu a šířky laloku (4) – 5 – (7)

Poměr max. vzdálenosti žilky od úhlu laloku a délky listového zářezu (0,09) – 0,13 – (0,18)

Šířka listu (17) – 23 – (32) cm

..... ***N. alba***

2 b

Poměr vzdálenosti nejširšího místa listu od vrcholu a šířky laloku (2) – 4 – (5)

Poměr max. vzdálenosti žilky od úhlu laloku a délky listového zářezu (0,14) – 0,2 – (0,35)

Šířka listu (8) – 17 – (25) cm

..... ***N. candida***

4.3.2.6.2 Klíč pro kvetoucí rostliny

1 a

Barva korunních plátků (bílá) – lehce narůžovělá – (slabě růžová)

Délka korunních plátků (5,8) – 7,5 – (10) cm

Poměr délky a šířky nitky (4,6) – 5,4 – (6,6)

Poměr délky a šířky listu (0,9) – 1 – (1,1)

Poměr vzdálenosti nejširšího místa listu od vrcholu a šířky laloku (5,4) – 6,8 – (9)

..... **kultivar**

1 b

Barva korunních plátků téměř bílá, nikdy se souvislým růžovým odstínem

Délka korunních plátků (3,8) – 5,4 – (6,9) cm

Poměr délky a šířky nitky (2,5) – 3,6 – (4,9)

Poměr délky a šířky listu (1) – 1,1 – (1,2)

Poměr vzdálenosti nejširšího místa listu od vrcholu a šířky laloku (2,5) – 4,5 – (6,41)

..... **původní taxon – 2**

2 a

Šířka kališního lístku (3,2) – 3,8 – (4,2) cm

Délka listu (27) – 31 – (36) cm

Úhel prašníku (139) – 141 – (144) °

Počet plodolistů 12 – 16

..... ***Nymphaea × borealis***

2 b

Šířka kališního lístku (1,9) – 2,6 – (3,45) cm

Délka listu (10) – 23 – (33) cm

Úhel prašníku (89 – 134) × (141 – 166) °

Počet plodolistů 7 – 22, vzácně 13 – 14

..... **původní druh – 3**

3 a

Úhel prašníků (89) – 111 – (134) °

Počet plodolistů (12) – 17 – (22)

Šířka bliznového výčnělku (2) – 3,5 – (5,2) mm

Barva bliznových zubů světle až tmavě žlutá

..... *Nymphaea alba*

3 b

Úhel prašníku (141) – 153 – (166) °

Počet plodolistů (7) – 10 – (13)

Šířka bliznového výčnělku (0,6) – 1,5 – (2,5) mm

Barva bliznových zubů (tmavě žlutá) – načervenalá – (červená)

..... *Nymphaea candida*

4.3.3 PYL

Dosud jsme sledovali znaky makromorfologické. Mezi druhové znaky střeoevropských leknínů však patří i vlastnosti pylu, jako je jeho velikost a především struktura povrchu. Vlastnostem pylových zrn zde byla věnována menší pozornost, neboť se jako terénní určovací znaky uplatňují ztěžší, navíc dostupné vybavení (optický mikroskop) poskytlo spíše hrubou představu o pylové morfologii a variabilitě.

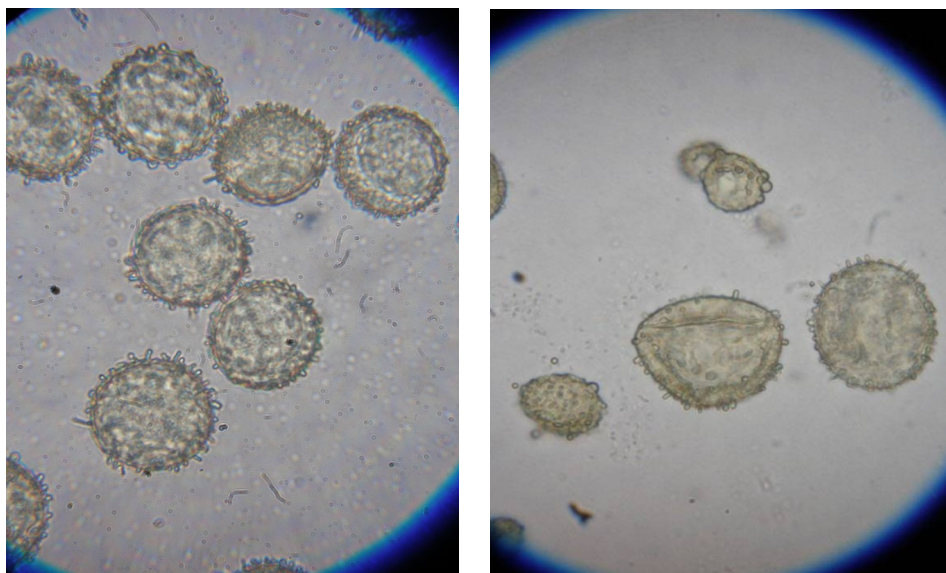
Především byl pyl zkoumán z hlediska fertility, a to u všech hybridních rostlin, u ostatních rostlin z lokalit hybridů, a pro srovnání také u několika "čistých" populací. Fertilita pylu byla zkoumána rovněž u 4 ze 6 populací kulturních rostlin, jelikož jejich množení probíhá většinou vegetativně a vysoká fertilita pylu se neočekává. Na druhou stranu zjištění vysoké fertility by mohlo znamenat riziko pro původní taxony.

Tabulka 40 – Pozorované vlastnosti pylu

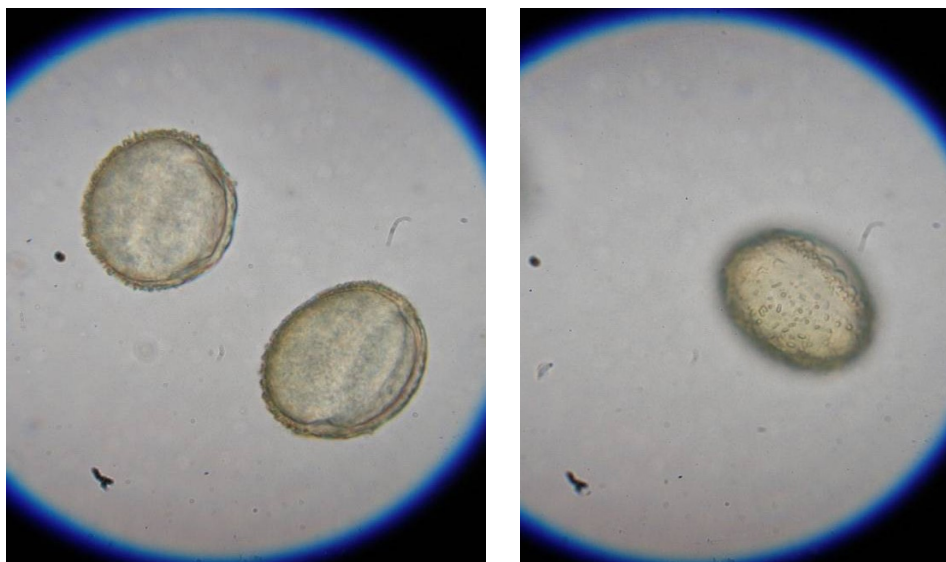
	pop./ jedinec	velikost	charakter výběžků	obarveno	asymetrie
kultivary	15	menší až velmi malá	někdy řídké, někdy husté, krátké široké i dlouhé úzké	-	+
	19	různá	větší kyjovité i drobné a paprscité; spíše řídké	-	+
	60	různá	různé	18%	+
	79	různá	drobné kulovité i kyjovité	8%	některá zrna
	87	různá	různé	12%	některá zrna
	90	různá	různé, několik typů zrn	5%	většina zrn
<i>N. alba</i>	4	menší	převažují dlouhé	-	-
	8	menší	řídké, dlouhé	100%	-
	62	menší	zejména protáhlé, paprscité	-	-
	66	menší	dlouhé paprscité i krátké kulovité	100%	-
	67	menší	především dlouhé paprscité	-	-
	69	menší	řídké paprscité i drobné krátké	100%	-
	70	menší	husté drobné kyjovité či kulovité	-	+
	71	menší	různě husté, drobné, kulovité	-	+
75	menší, dvou úrovní	kyjovité i paprscité	99%	výskyt 2 typů zrn	
hybridy	66-2	spíše větší	různý	99%	-
	67-6	různá	drobné	50%	-
	69-4,8	různá, spíše menší	husté drobné kyjovité	76%	-
<i>N. candida</i>	10	velká	spíše drobné, husté, kulovité	-	výrazná
	11	velká	drobné, kulovité	-	+
	12	spíše velká	drobné, husté, kulovité, některé delší	-	+
	13	velká	drobné, husté, kulovité, některé delší	-	+
	14	velká	drobné, kulovité	-	+
	74	menší	drobné husté	98%	+

80	menší	drobné husté, kulovité i paprscité	97%	+
83	menší	velmi drobné, husté	100%	mírná
85	menší	drobné husté, kulovité i paprscité	97%	+

Pyl obou druhů se liší především strukturou. Velikost pylových zrn nebyla měřena, pouze srovnávány relativní rozdíly mezi taxony (menší či větší typ zrn). Barvení pylu neukazuje významné snížení pylové plodnosti u hybridů (průměrně 75%), zato potvrdilo předpokládaný nízký vývin zrn u většiny pěstovaných kultivarů (průměrně 11%). Pyl původních taxonů byl barvitelný téměř ze 100%.



Obr. 79 – Pyl *N. alba* z populace č. 4 (jezíčko Kutnar; vlevo) a kultivaru z populace č. 15 (Mlékojedy; vpravo). 100× zvětšeno.



Obr. 80 – Nebarvený pyl (*N. candida*) populace 10 (vlevo) a 11 (vpravo) při 100x zvětšení.

5 DISKUZE

5.1 VARIABILITA VELIKOSTI GENOMU A DOKLADY HYBRIDIZACE

Práce se pokusila kriticky zhodnotit karyologickou a morfologickou variabilitu leknínů na území České republiky. Primárním cílem bylo zjištění cytotypové variability leknínů ve střední Evropě a určení, zda-li je možné karyologické charakteristiky využít jako druhově-specifický znak, jak naznačovala nedávno publikovaná studie Volkova et al. 2010. Za tímto účelem bylo 55 přírodních populací a 34 pěstovaných odrůd podrobena analýze velikosti genomu, která poměrně jasně odhalila přítomnost 5 skupin, odpovídajících dvěma původním druhům, jejich hybridům a nepůvodním kultivarům; zajímavý je pak nález jedinců (může se jednat pouze o 1 rostlinu), jejichž genom přesahuje 7,5 pg, v rybníce Skopaný u Dražova. Jedná se patrně o hybridy, vzniklé splynutím normální gamety *N. candida* a neredukované gamety *N. alba*, méně pravděpodobný je jejich vznik zpětnou hybridizací s *N. alba*.

Hybridní jedinci se vyskytovali výhradně ve smíšených populacích s *N. alba*, a to na rybnících Pohořelec (5 ze 45 vzorků), Fejmárek (1 ze 46 vzorků: zřejmě jedna rostlina) a Skopaný (2 za sebou následující vzorky z 41) v Třeboňské pánvi. Výskyt odpovídá dřívějším údajům, podle kterých *N. × borealis* roste v okolí Dražova, Kolenců a Vřesné, ale také na Šluknovsku (Tomšovic 1988), kde nebyl nově výskyt leknínů zaznamenán.

Měření velikosti genomu několika semenáčků, vypěstovaných ze semen z Botanické zahrady Univerzity Karlovy, prokázalo schopnost samoopylení u obou původních druhů. Samoopylení bylo dříve známo pouze u leknínu bílého (Wiersema 1988).

Cytometrické výsledky ukázaly, že historická druhová určení mnohdy nejsou spolehlivá. Příkladem je rybník v Seči na Plzeňsku, kde je velká populace *N. alba*, vydávaná za *N. candida* (1967 Vacek – Vacek & Matějková 1995), rybník v zámeckém parku Kozel u Štáhlav, kde se uváděl rovněž druh *N. candida* (Hadač & al. 1968), zatímco dnes je zde vysazen kultivar. Prosperující kultivary byly nyní zjištěny i v přírodních biotopech, jako je slepé labské rameno u Mlékojed nebo přírodní rezervace Stibůrkovská jezera na jižní Moravě (1995 zde Husák určil *N. alba*; Danihelka & Grulich 1996), představující hodnotné území s výskytem silně a kriticky ohrožených druhů rostlin.

Většina kultivarů (32 z 34 odrůd) se vyznačovala menším genomem než původní taxony. Pouze dva kultivary ('Firecrest' a 'Virginalis') měly shodný obsah DNA jako *N. alba*, avšak jejich listy (květy nebyly hodnoceny) se od leknínu bílého odlišovaly výrazně špičatými laloky, červeným zabarvením (zejména 'Firecrest') a u 'Virginalis' typickým zvlněním okraje čepele (Hříbal 1985) a malým úhlem listového zářezu, díky kterému se vnitřní strany laloků zvedají v kormidlo vysoké až 3 cm. To je znak u našich leknínů pozorovaný jen v malé míře u *N. candida*. 'Firecrest', pokud kvete, lze rozpoznat podle růžových a intenzivně vonících květů.

Zjištěná jasná diference velikosti genomu u původních druhů je ve shodě s výsledky studie Volkova & al. (2010), rozdílné jsou pouze absolutní naměřené hodnoty, což lze přičíst tomu, že jejich měření probíhala na sušeném listovém materiálu s barvivem DAPI a interním standardem *Lycopersicon esculentum* 'Stupické polní rané' (2C = 1.96 pg). Jinou absolutní velikost genomu *N. alba*, ikdyž už bližší, naměřili i Zonneveld & al. (2005) v Holandsku, a to 2C = 4 pg, což je v průměru o 0,5 pg méně, než současná měření. DNA byla barvena PI, lišil se však interní standard, kterým byla *Agave americana* (2C=15,9 pg). Podle všeho se mohlo jednat o zahradnický materiál nejasného taxonomického určení.

Cytometrická měření v předkládané diplomové práci probíhala jak s fluorescenčním barvivem PI, tak DAPI. Jelikož se barviva na cílovou DNA vážou jiným mechanismem, bylo třeba měření oběma metodami zkaližovat. Při tom bylo zjištěno, že relativní fluorescence leknínových jader získaná barvivem DAPI je nižší, což ukazuje na poměr bazí v genomu AT/CG < 1. Nezvyklý je však zjištěný poměrně značný rozdíl obsahu bazí v rámci rodu, kdy u *N. alba* a *N. candida* je fluorescence s DAPI nižší 1,3×, kdežto u kultivarů v průměru 1,2×.

Vzhledem ke známé obtížně ošetřitelné klonalitě tvořily populační vzorek vždy rostliny navzájem prostorově co nejdálnější s cílem zachytit co největší genotypovou variabilitu, která se ale jistě ve výsledku může velmi lišit mezi malými a velkými populacemi, neboť přednostně šlo o nasbírání určeného množství materiálu na lokalitu (ca 10 vzorků). K ověření klonality při dalších studiích by bylo přínosné práci doplnit studiem genetické variability prostřednictvím vhodných molekulárních markerů.

5.2 MORFOLOGIE

Geometrická a klasická morfometrika upozornily na hlavní rozdíly mezi skupinami a odhalily poměrně jasnou morfologickou diferenciaci, a to především mezi původními druhy. Jednotlivé rostlinné části, hodnocené geometrickou morfometrikou, odhalily různou míru diferenciaci. Nejlépe je to patrné z průměrných tvarů na str. 50 nebo z porovnání procent úspěšně zařazených jedinců na základě tvaru daného orgánu. Nejvíce diferencovaný se zdá být tvar semeníku a blizny, na jehož základě lze správně zařadit 98,6% jedinců. Pokud pozorujeme pouze tvar blizny, zařadíme stále správně 96,2% jedinců, podobně jako na základě tvaru listů – 96,1%. Dobrým znakem je též tvar tyčinek, charakteristický pro 97,1% jedinců. Podle tvaru květní báze poznáme 91% jedinců, podle kališních lístků jen 84,1% a nejmenší výpovědní hodnotu má tvar korunních plátek, podle kterého správně zařadíme jen 69,4 % jedinců.

Pro potřeby určování nejsou však výstupy geometrické morfometrie, přinášející komplexní informace o tvaru, přímo prakticky využitelné. Proto byly následně odvozeny klasické morfometrické znaky a jejich význam testován mnohorozměrnými statistickými postupy.

5.2.1 NEKVETOUČÍ ROSTLINY

Jelikož ne vždy můžeme rostliny určovat kvetoucí, zaměřila jsem se nejprve pouze na znaky na listech. Z geometricko-morfometrických výstupů je patrné, že skupiny se z hlediska tvaru listů budou lišit především vyklenutím hlavní žilky laloku, vyklenutím vnitřní hrany laloku, úhlem, který hrot laloku svírají, špičatostí těchto hrotů, tvarem vrcholu čepele, poměrem délky a šířky čepele a případně poměrovými charakteristikami, spojenými s délkou žebra a místem, kde je čepel listu nejširší.

Z těchto pozorování a literárních údajů (Conard 1905, Hříbal 1985, Tomšovic 1988, Muntendam & al. 1996, Kaplan 2000, Aeschmann & al. 2004 aj.) bylo odvozeno 22 měřitelných či jinak hodnotitelných znaků. Již z analýzy hlavních komponent vyplynulo, že rostliny mají v rámci skupin jisté společné měřitelné znaky. Ordinační diagram upozornil na fakt, že rostliny pocházející se sbírek BÚ AVČR mají drobné listy, což bylo patrně způsobeno nízkou hladinou vody v zahradních podmínkách, a rostliny tak neměly šanci dosáhnout svých přirozených rozměrů. V kultuře se ale také mohlo jednat o odrůdy, které nebývají tak často vysazovány, nebo nejsou dostatečně odolné, aby v přírodních podmínkách přežily. Tyto listy byly zahrnuty pouze do tvarové analýzy, nikoli do dalších analýz pracujících s absolutními rozměry.

Šířka a délka listové čepele jsou znaky odrážející celkový vzrůst rostliny. Jejich hodnoty jsou nejnižší u druhu *N. candida*. Menší velikost může souviset s přirozeným výskytem leknínu bělostného na méně úživných stanovištích, nebo se jedná o dědičnou vlastnost. Hříbal (1985) naměřil u tohoto druhu maximální délku čepele 32 cm, což se téměř shoduje s maximální hodnotou 31,5 cm, naměřenou v rámci předkládané práce. Nynější měření listů zástupců tohoto druhu dospělo k mírně nižším hodnotám, než jaké udává většina autorů, a nejvíce se blíží výsledkům práce Volkova & Shipunov (2007), viz *tabulku 1 v úvodu*. V určovacím klíči v téže práci se však uvádí, že délka listu l. bělostného nepřesahuje 15 cm, což patrně vychází z pozorování malolistých severských typů. Měření listů *N. alba* vyšlo téměř totožně s výsledky studie Muntendam & al. (1996). Výsledkem je, že se u nás tyto dva druhy velikostí listů překrývají méně, než se udává v zahraničí. Ke vzrůstnosti leknínu

bílého lze ještě poznamenat, že jeho listy často přerůstají hladinu, což u l. bělostného pozorováno nebylo (rovněž Hejný 2000, Volkova & Shipunov 2007).

Poměr délky a šířky čepele určuje jeho celkový tvar – široce eliptický, okrouhlý, či dokonce příčně široce eliptický. Hříbalem zavedený index D/\bar{S} listu činí podle něj u *N. alba* 0,97 – 1,01, zatímco u *N. candida* je průměrně roven 1,05. Podle současného měření jsou listy *N. alba* výjimečně okrouhlé ($D/\bar{S} = 1$), spíše však delší (1,1–1,2). Okrouhlé listy byly oproti tomu nyní zaznamenány častěji u *N. candida*, žádný z původních taxonů však neměl listy širší než delší. Tento znak může být užitečný pro rozlišení *N. alba* od některých kultivarů, neboť u nich bylo naměřeno rozpětí 0,9–1,1. Již z geometrických znázornění je patrné, že listy kultivarů jsou relativně širší než u původních taxonů. Např. *N. 'Irene'* (č. 27) a *N. odorata* var. *pumila* (č. 35) mají příčně široce eliptické listy ($D < \bar{S}$; ve shodě s Hříbal 1985).

Podle Hříbala (1985) je u pěstovaných lekninů dobrým odlišovacím znakem též poměr délky hlavního listového žebra a zářezu (dvě části listové osy oddělené místem napojení řapíku). Jelikož byly však všechny kultivary hodnoceny jako jediná skupina, jevila se velmi široká a příliš se nelišící od domácích taxonů. Ani mezi nimi znak nejevil velkou variabilitu. Ze všech venkovních lekninů naměřil Hříbal nejkratší zářez u 'Rose Nympe', což odpovídá i mému měření, s tím rozdílem, že jsem naměřila u jednoho listu tohoto kultivaru index 1,65 (s úhlem laloku 57°), zatímco Hříbal 1,84 (a průměrný úhel 70°). Více než Hříbalův index \bar{Z}/Z je překvapivě užitečnější absolutní délka listového žebra, která zároveň velmi silně koreluje s celkovou délkou čepele (0,99), a proto byla z většiny analýz vyřazena.

Úhel, který svírají špičky laloků, by měl být pro odrůdy pěstovaných lekninů údajně dobrým rozlišovacím znakem (Hříbal 1985), který koreluje s hloubkou listového zářezu, ale bohužel také se stářím listu, kdy se růstem postupně úhel zmenšuje. Ve výsledku se jeho hodnoty u skupin dosti překrývají. Podle Hříbala se laloky mnoha kultivarů překrývají, podobně i u druhu *N. candida*, kde naměřil v průměru 36°, zatímco u *N. alba* pozoroval laloky rozestálé pod úhlem průměrně 57°. Podle mých měření je však rozpětí hodnot u obou druhů podobně široké (zhruba 23–60°), u kultivarů je úhel menší (22–45°), u hybridů naopak větší (35–71°).

Tvarová analýza obrysu čepele naznačila, že podkovovitá čepel *N. candida* je nejširší v horní polovině listu, podobně jako zobrazuje Tomšovic (1988) a Volkova & Shipunov (2007). Byla proto měřena vzdálenost nejširšího místa čepele od vrcholu (v *nákresu v metodice rozměr č. 4*) a zjištěná rozpětí naznačila, že tento znak by mohl mít jistý význam pro odlišení *N. candida*. Druh má však obecně menší listy a v tomto případě jde pouze o silnou korelaci znaku s délkou čepele. Odvozenou proměnnou se tak nepodařilo vystihnout tvarovou variabilitu obrysu čepele. Některé trpasličí hybridy mají rovněž list včetně laloků ve tvaru koňského kopyta, mezi nimi je např. 'Pygmaea alba' (č. 34), u kterého se neví, zda jde o kultivar, botanický druh, nebo *N. pygmaea* var. *alba* (Hříbal 1985).

Jedním z nejčastěji uváděných znaků na listech je tvar žilek, které vedou do špiček laloků. Většinou se uvádí, že *N. candida* má alespoň v první 1/3 žilky ohnuté a *N. alba* přímé (Tomšovic 1988, Hejný 2000, Kaplan 2002, Volkova & Shipunov 2007). U *N. candida* se rovněž uvádí překryv laloků. Číselně bylo zahnutí žilky (znak L6) vyjádřeno maximální vzdáleností žilky od osy laloku (úhlu). Obdobný znak představuje maximální vyklenutí vnitřní hrany laloku od těže osy (L7). Tyto znaky, dohromady označené jako šířka laloku, se nejvíce projevíly v součtu, a především pak v poměru k dalším rozměrům listu. Malé listy *N. candida* mají široký lalok, ten pak představuje 12–14% celkové délky listu. U hybridů znak zůstává a mají lalok široký dokonce 13–14% délky čepele. U druhu *N. alba*, který má žilku přímější, je to jen 9–12% a nejužší oblast laloku z obou stran mají kultivary, a to pouhých 8–9% délky.

Hroty laloků *N. alba* jsou podle Hříbala ostré až tupé, zřídka oblé, u *N. candida* tupé až oblé. U *N. alba* vrchol listu mělce vykrojen. Podle analýz se nejostřejší hroty vyskytují u kultivarů, které mají zároveň nejvíce projmuté listové vrcholy. Jen o něco méně špičaté jsou laloky u *N. alba*, a u *N. candida* jsou spíše oblejší, ale skupiny se velmi překrývají, znak totiž závisí i na stáří listu: čím starší list, tím tupější hrot laloku (Hříbal 1985). Hybridy mají vrchol listu oblý a mírně zúžený, vzdáleně připomínající list stulíku.

Uvádí se, že listy *N. candida* jsou zesponu čeveně naběhlé (Presl 1823, Heslop-Harrison 1955, Tomšovic 1988). Znak se však projevuje napříč skupinami a nemá taxonomickou hodnotu.

Listy některých odrůd se nadto rozpoznávají podle nápadného mramorování, např. 'Marliacea Chromatella' (č. 41, 42). U některých hybridů skvrny jednou nalezneme a podruhé ne ('Pygmea alba'; Hříbal 1985).

Z celkového souboru diskriminační analýza upozornila na nejvýznamnější vegetativní znaky, které stačí na správné zařazení 78,4% rostlin. Jedná se o délku listu, poměr délky a šířky listu a poměrové charakteristiky týkající se šířky laloku, délky zářezu a polohy nejširšího místa čepele. Při dichotomickém určování pouze na základě listů bychom měli počítat s větší chybovostí. Vyplývá to i ze shlukovací analýzy, založené pouze na znacích na listech, která nadává znát jakoukoli strukturu.

Společné analýzy znaků na listech a květech však poukázaly přednostně na znaky generativní. Z výsledků klasické i geometrické morfometrie vyplývá, že znaky na květech jsou vhodnější pro rozlišení taxonomických skupin, pravděpodobně jsou v rámci nich stálější. Tvar listů i jejich velikost vykazuje, především podle klasických měření, o něco vyšší vnitrodruhovou variabilitu. Kromě toho vlastnosti listů podléhají vlivu ontogeneze (Hříbal 1985). Mladé listy jsou celkově menší, okrouhlejší, jejich laloky se méně překrývají, úhel zářezu je větší a hroty laloků ostřejší. Přestože byla snaha sbírat listy plně vyvinuté, jistá nejednotnost se v tomto ohledu může vyskytnout. Volkova & Shipunov (2007) vůbec nedoporučují tvar listu jako determinační znak, jelikož našli signifikantní závislost tvaru listu na jeho pozici na oddenku, navíc byla u každé rostliny povaha zjištěných tvarových změn jiná. Nehodnotili však tvar listové žilky.

5.2.2 KVETOUČÍ ROSTLINY

Na květech je významně více znaků nežli na listech, a proto bychom měli rostliny určovat kvetoucí. Podle geometrické morfometrie bylo zjištěno, že nejvíce druhově (skupinově) specifickými orgány z hlediska tvaru jsou pestík a tyčinky, naopak nejméně variabilní se ukázaly korunní lístky. Přesto byly zkoumány měřitelné znaky na všech strukturách. Všechny znaky kromě barvy blizny a bliznových zubů jsou nezávislé na fázi zralosti květů. Bylo pozorováno, že blizna začíná hnědnout krátce po vyprášení pylu.

Uvádí se, že blizna *N. alba* je plochá nebo slabě vyklenutá, u *N. candida* vprostřed prohloubená a silně vypouklá nahoru (Conard 1905, Podubský & Štědranský 1954, Hříbal 1985, Volkova & Shipunov 2007, Ejankowski & Małysz 2011). Nyní bylo navíc zjištěno, že kultivary, ač mají bliznu podobně plochou jako *N. alba*, její tvar není vypouklý, ale po obvodu se zvedá směrem k bliznovým zubům. Podobně jako geometrický konsenzus pestíku kultivarů vypadá i kresba *N. odorata*, zobrazená Hříbalem (1985), což podporuje předpokládanou afinitu velké části pěstovaných odrůd k tomuto druhu.

Samotné rozměry bliznového terče korelují s počtem plodolistů (0,82). Počet bliznových paprsků je často udávaným znakem, který by mohl být užitečný pro rozlišení původních druhů. Nejvyšší počet plodolistů byl spočten u kultivarů a druhu *N. alba* (u obou průměrně 17), avšak u kultivarů je tvar blizny i středového výčnělku z horního pohledu oválný, zatímco u *N. alba* nikdy. Podle Hříbala je bliznových paprsků u kultivarů 7 (u barevně proměnné 'Graziella') až 48 ('Gloire de Temple-sur-Lot'), u bílé kvetoucí odrůdy 8 u 'Virginalis' až 26 u *N. candida*.

Nově naměřené počty plodolistů u původních druhů jsou ve shodě s většinou publikovaných dat a nejbliže jsou práci Volkova & Shipunov 2007, kde byla určena hranice mezi druhy 13 plodolistů. Podle nynějších měření se druhy překrývají na hodnotách 12 a 13, kdy většina zástupců *N. candida* má hodnotu nižší a *N. alba* vyšší, znak se tedy při jejich rozlišování osvědčil.

Tvar semeníku, tak jak vyplynulo z geometrických analýz i literárních dat (Conard 1905, Podubský & Štědranský 1954, Dostál 1958, Volkova & Shipunov 2007), se u druhu *N. candida* zužuje

směrem k blizně, zatímco u *N. alba* je blizna podobně široká jako semeník. U *N. alba* bylo naměřeno, že blizna je široká průměrně jako 80% šířky semeníku a u *N. candida* je to průměrně jen 66% a u kultivarů 74%. Tvar semeníku (bez bliznové části) byl rovněž vyjádřen poměrem jeho šířky a výšky. *N. alba* má semeník 1,5–2 × širší než vyšší (podobně i kultivary a hybridy), zatímco semeník *N. candida* je jen 1,1–1,8 × širší než vyšší a někdy zcela kulovitý.

Výška blizny je rozdílem výšky celého pestíku a semeníku a podle geometricko-morfometrických výsledků má jistou roli v odlišení taxonů, ačkoli z deformace prostorových mřížek není trend jednoznačný. Nejvíce zploštělé (nízké a široké) blizny má *N. alba*. Tento poměr možná představuje jeden z mála znaků celkem dobře odlišujících leknín bílý od kulturních rostlin, neboť kultivary nikdy nemají výčnělek výškově přesahující kornoutovitou bliznu, dokonce se jeho výška pohybuje jen v její polovině (může to souviset s adaptivní evolucí botanických druhů, u nichž je výčnělek přizpůsoben opylovačům). Leknín bílý, jehož blizna bývá talířovitě nízká, má oproti tomu výčnělek vysoký přibližně do jejích $\frac{3}{4}$ a vzácně bliznu i přesahuje. Leknín bělostný není možné na základě tohoto znaku dobře zařadit, zde je vhodnější orientovat se podle tvaru samotného výčnělku.

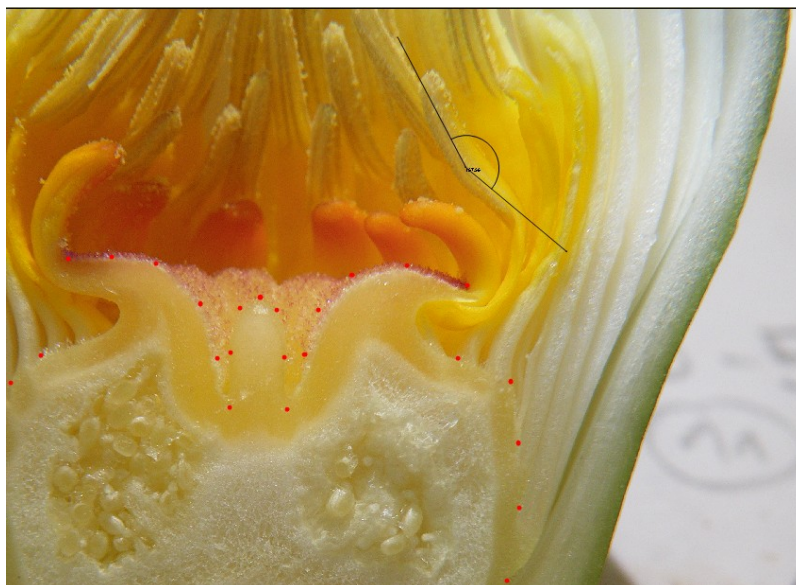
Tvar a absolutní šířka středového výčnělku je podstatným znakem. Tradičně je u *N. alba* popisován jako kulovitý a u *N. candida* jako úzký a kuželovitý (Tomšovic 1988, Muntendam et al. 1996, Volkova & Shipunov 2007). Přestože má *Nymphaea candida* nejužší blizny, část této šířky, kterou zabírá bliznový výčnělek, je pouhých 11–14 %, zatímco u *N. alba* je to 16–20 % a u kultivarů ještě více (viz **tabulku rozpětí 23 v příloze**). Bylo změřeno, že u leknínu bělostného je šířka výčnělku pouhých 0,6–2,5 mm, zatímco u ostatních skupin alespoň 2 mm, u hybridů dokonce 2,5–3,7 mm.

Mnoho autorů uvádí u l. bělostného oranžovou či červenou barvu blizny a u l. bílého výhradně žlutou (Conard 1905, Podubský & Štědrónský 1954, Heslop-Harrison 1955, Hříbal 1985, Muntendam et al. 1996, Wayda 2000, Volkova & Shipunov 2007, Nowak & al. 2010, Ejankowski & Małysz 2011). Bylo zhodnoceno, že barva blizny a bliznových zubů je u leknínu bílého skutečně výhradně žlutá, u kultivarů i oranžová, u leknínu bělostného může mít barvu od čistě žluté po zcela červenou. Bliznové zuby leknínu bílého jsou světle či tmavě žluté, u kultivarů i oranžové, a u leknínu bělostného bývají i vínově rudé.

Leknín bílý a kultivary mívají na semeníku pod bliznou místo jen pro nanejvýš jednu další řadu tyčinek, což u kultivarů patrně souvisí se selekcí na plnokvětost. U hybridů a leknínu bělostného se jakási mezera vyskytuje vždy a u leknínu bělostného dosahuje běžně i tloušťky více než 3 tyčinek. *N. alba* ssp. *occidentalis* je v Británii často zaměňována s druhem *N. candida*, byl u ní však pozorován růst tyčinek po celé výšce semeníku (Heslop-Harrison 1955).

Hříbal (1985) píše, že původní druhy leknínů se liší od tropických a jejich kříženců tím, že mají krátké prašníky. Porovnáním délky prašníků a nitek však nebyla nalezena žádná tendence ani mezi původními druhy. Zato poměr délky a šířky samotné nitky byl u kultivarů vysoký (4,6 – 6,6) a u původních skupin nižší (2,4–5,1). Tento znak měl zachytit sledovanou variabilitu tvaru nitky, který se tradičně u l. bělostného udával jako kopinatý a u l. bílého páskovitý; hybrid se pak měl vyznačovat společným výskytem obou typů (Dostál 1958, Tomšovic 1988, Hejný 2000, Kaplan 2002, Volkova & Shipunov 2007), ale získané rozpětí se u původních druhů příliš překrývá. Bylo také zaznamenáváno, na jaké úrovni je nitka nejširší. Měření ukazuje, že u kultivarů je nitka nejširší buďto zcela u báze, nebo v místě přechodu v prašník, zatímco u leknínu bílého se většinou rozšiřuje mezi těmito místy a u leknínu bělostného je nitka nejširší v polovině nebo blíže prašníku.

Při zpracování materiálu došlo k objevu nového, dosud nepoužitého determináčního znaku, jehož hodnoty se ukázaly nejvíce variabilní mezi původními druhy. Jedná se o úhel zahnutí prašníků z bočního pohledu. Prašníky *N. alba* jsou úzké a bývají značně zahnuté (90–134°), hybridy dosahují středních hodnot (139–144°) a prašníky *N. candida* jsou téměř přímé (141–166°).



Obr. 81 – *N. candida* s typickými znaky: červené papily na blizně a tmavší (oranžové) bliznové zuby, nálevkovitá blizna se zužujícím se středovým výčnělkem, mezera na semeníku za posledními tyčinkami a téměř přímý prašník.

I když kališní a korunní lístky neprojevily významnou tvarovou variabilitu, podle jejich absolutních rozměrů se dá odvodit celková velikost květu a podle Hříbala (1985) i jeho tvar (tzv. korunní index D/\bar{S} korunních plátků). *N. alba* by podle něho měla mít široce šálkovité květy s indexem 2,25–2,49. Zaznamenala jsem rozpětí mnohem širší (1,9–2,8), které se překrývá s hodnotami ostatních skupin, a podle kterého nelze druh zařadit do žádné tvarové kategorie. Z pozorování však mohu uvést, že květy leknínu bílého bývají hvězdicovité a někdy ční nad hladinu, zatímco u leknínu bělostného bývají spíše zčásti ponořené, což pozorovali už Muntendam & al. (1996) a Nowak et al. (2010). Poměr délky a šířky kališních lístků je důležitější než korunní index, protože mnohem lépe odlišuje druh *N. alba* a kultivary, liší se i mezi domácími taxony, kališní lístky *N. candida* jsou relativně širší než u *N. alba*.

Absolutní délka kališních a korunních lístků byla nejvyšší u kultivarů a u hybridů. U kultivarů se zjevně jedná o důsledek selekce na velikost květu, u listů tento trend pozorován nebyl. Zajímavé jsou poměry délky kališních a korunních lístků, kdy kultivary mají korunní lístky i delší, průměrně však stejně dlouhé. Kališní lístky *N. alba* jsou stejně dlouhé až v 1,2 násobku délky korunních. U *N. candida* jsou kališní lístky vždy delší, a to až v 1,4 násobku délky lístků korunních, podobně jako u hybridů. Vysvětluje to sledovaný kuželovitý či protáhle pyramidovitý tvar horního konce poupat a zavřených květů *N. candida* v porovnání s vejčitými či oválně špičatými poupaty *N. alba* a kultivarů.

U kališních a korunních lístků byla měřena poloha nejširšího místa, ale u korunních lístků není dostatečně variabilní. U lístků kališních je nejširší místo u kultivarů a *N. alba* téměř v polovině délky, zatímco u hybridů a *N. candida* leží níže – kolem $2/5$ délky. Zajímavé je, že u hybridních jedinců byl kališní lístek nejširší v průměru ještě níže než u leknínu bělostného, což způsobuje, že tvar zavřeného květu je výrazně hranatý. Bylo zjištěno, že šířka báze kališních lístků je největší u *N. candida* a kultivarů, což je pozoruhodné, neboť *N. candida* má drobné květy. Porovnáme-li tuto hodnotu s maximální šířkou kališního lístku, zjistíme, že u kultivarů je báze kališního lístku vždy užší, zatímco u *N. alba* představuje 0,7–1,1 jeho maximální šířky.

Barva kalicha a koruny je však zásadní znak pro odlišení původních a nepůvodních skupin, neboť růžový odstín se u našich původních taxonů vyskytuje jen slabě, zatímco u vysazovaných odrůd obvykle pozorujeme silnější barvu.

Kultivary však mohou být i zcela bílé, jako například rostlina nalezená na rybníce Vyšehrad na Třeboňsku, která na základě celého souboru dalších znaků nebyla oddělena od původních taxonů přes

to, že se velikostí genomu řadí mezi nepůvodní kultivary. Jediný nalezený zástupce roste při hrázi, což zvyšuje pravděpodobnost, že sem byla uměle vysazena. Její barva je extrémně bílá (květy, vnitřek kalicha) bez náznaku růžové v květu. Shluková analýza na základě tvaru pestíku zařadila jedince mezi leknín bílý z Kokořínského dolu a leknín bělostný z Hradčanských rybníků u Mimoně. Shluková analýza založená na všech hodnocených znacích ho však dala do blízkosti dvou populací kultivarů z Mělic v Polabí.



Obr. 82 – Květ a list jediné rostliny z lokality 79 – rybník Vyšehrad, cytometricky řazené mezi kultivary, morfologicky však k druhu *N. alba*.

Shluková analýza na základě všech znaků vytvořila dvě skupiny. Jedna sestává ze zástupců druhu *N. alba* a kultivarů, přičemž jednotlivé populace jsou promísené a chybí v nich geograficky interpretovatelná struktura, která by např. sloučila populace leknínu bílého z Třebońska nebo z Plzeńska. Do těsné blízkosti se však dostaly jihomoravské populace z jezírka Kutnar a z Písečného rybníka u Milotic. Poměrně samostatně stojí populace l. bílého z Kokořínského dolu, jejíž původ je nejasný. Druhou velkou skupinu tvoří pouze *N. candida* a hybridy. Tři hybridy stojí pohromadě v blízkosti populací leknínu bělostného od Borovan a od Strmilova. Zajímavé je, že geograficky se hybridní rostliny nacházejí téměř mezi těmito lokalitami, a to ve vzdálenosti asi 30 km od obou. Není zcela vyloučeno, že struktura, zachycená v morfologické proměnlivosti, odráží skutečné příbuzenské vztahy.

Hybridní jedinec s vyšším obsahem DNA se umístil vedle populací leknínu bělostného od České Lípy a od Nových Strašecích. Tento jedinec je ze všech 4 hybridů nejmenší (list dlouhý 26 cm, kališní lístek 7,5 cm).

5.3 VLASTNOSTI HYBRIDŮ

Jelikož byl u všech hybridních jedinců pozorovaný větší vzrůst, než by odpovídalo průměru původních taxonů, domnívám se, že se u nich uplatnil tzv. heterozní efekt, při němž mají kříženci vyšší zdatnost než jejich rodiče, která se může projevit právě nadměrnou velikostí. Díky tomuto efektu hybridy vybočují z morfologického kontinua rodičovských druhů a vedle některých intermediárních

hodnot (úhel prašníku, počet plodolistů) je možné rozeznat je především podle větších květů. Měření v práci Muntendam & al. (1996) sice zaznamenala větší květy a menší listy *N. candida* než nynější studie, avšak na hybridech byl pozorován podobný jev, kdy jejich kališní a korunní lístky dosahovaly větších rozměrů než u původních druhů.

Tomšovic (1988) se domníval, že příčinou občasného výskytu některého typického znaku u opačného taxonu je spíše dřívější introgrese, než nedostatečná diferenciaci druhů. Na základě zjištěné jasné karyologické diferenciaci skupin se však nyní dá říci, že introgrese v pozorovaných populacích dokumentována nebyla.

Společný výskyt na lokalitách s leknínem bílým naznačuje, že by mohl být, vzhledem k efektivnějšímu šíření pylu nežli semen, mateřským taxonem, nedá se však vyloučit, že se historicky na rybnících vyskytoval rovněž l. bělostný. Některé zahraniční studie uvádějí společný výskyt s *N. alba* v souvislosti s abiotickými charakteristikami stanoviště, k nimž má *N. × borealis* údajně širší toleranci (Gąbka & al. 2004, Szańkowski & Kłosowski 1999), Tomšovic (1988) dával výskyt hybridů do souvislosti spíše s lokalitami *N. candida* a s možným vysazením *N. alba*.

Tak tomu patrně bylo na rybníce Vajgar v Jindřichově Hradci, kde přítomnost *N. × borealis* uvedli Podubský a Štědranský (1954). Jindřichohradecko je oblast původního výskytu *N. candida* (rovněž naučná cedule u Vajgaru zmiňuje velké porosty tohoto druhu), zatímco *N. alba* sem byla později vysazena, a mohlo zde dojít ke spontánní hybridizaci. R. 2002 byl však rybník odbahněn (Z. Kaplan, ústní sdělení) a zdá se, že populace leknínů tím byla zcela zdecimována. Údajného hybridního jedince z Vajgaru z r. 2000 vlastní ve sbírce V. Hříbal, ale měření obsahu DNA ukazuje na čistý druh *N. alba* ($2C = 4,4$ pg).

Hybridizace původních druhů na Třeboňsku nepředstavuje riziko pro původní druhy, neboť se jedná přibližně o 5 dosud nalezených rostlin (přesný počet vzhledem ke klonalitě není znám), u nichž byla sice zaznamenána poměrně vysoká pylová fertilita (78%) a dokonce i vyvíjející se semena (**obr. xxx**), avšak zpětní kříženci zatím dokumentováni nebyli.



Obr. 83 – Hybridní jedinec z populace č. 69 (rybník Pohořelec u Kolenců) s vyvíjejícími se semeny v rané fázi.

V Holandsku jsou původní druhy dobře oddělené a pravděpodobně tam k hybridizaci nedochází (Muntendam 1996), v jiných oblastech překryvu původních druhů byly hlášeny hybridy se sníženou plodností (Conard 1905, Heslop-Harrison 1955, Volkova & Shipunov 2007). Semena *N. × borealis* bohužel nebyla zkoumána a produkci semen různé velikosti a jejich různou klíčivost, udávanou

Casparium (Caspari 1789 in Heslop-Harrison 1955), tak není možné ověřit. Ani barvení pylu není zárukou jeho klíčivosti ve stejné míře, v jaké vstřebává barvivo.

Hybrid *N. × borealis* byl obecně málo studován. Nedávné polské výzkumy, které zaznamenaly jeho vcelku hojný výskyt na základě morfologie, však naznačují, že budou v dohledné době učiněny podrobnější studie, včetně molekulárních (Nowak & Nowak 2007, Nowak & al. 2010).

5.4 PYLOVÁ MORFOLOGIE A FERTILITA

Vzhledem k primárnímu zaměření na hledání determinačních znaků použitelných v terénu byla morfologická variabilita pylu zkoumána jen okrajově a za použití minimálních prostředků (světelný mikroskop). I tento způsob však přinesl hodnotné výsledky. Ve shodě se sledováním, že struktura pylu není vždy stejná po celém povrchu (Volkova & Shipunov 2007), byla u asymetrických zrn popsána jen jeho proximální část, kde měla zrna různou hustotu výběžků a různé poměry verukátních (širších než vyšších) a bakulátních (protáhlých) výběžků (terminologie Muntendam & al. 1996). Volkova & Shipunov obvykle našli v rámci populace několik typů zrn a došli k závěru, že *N. alba* a *N. candida* se nedají rozpoznat pomocí struktury pylového povrchu, zatímco *N. tetragona* se od nich viditelně liší hustě granulátními či verukátními (kulovitými) výběžky exiny.

Podle mých pozorování je ale tento typ pylové exiny, uvedený v úvodu na *obr. xxx*, typický pro středoevropské zástupce *N. candida*, byl v populacích leknínu bělostného přítomen poměrně jednotně a může být považován za dobré determinační kritérium. *Nymphaea candida* má ve srovnání s *N. alba* větší pylová zrna (nebylo měřeno ani statisticky hodnoceno) s kratšími a hustšími výběžky exiny na proximální straně, na straně distální je hladký. Diferenciace stran, daná stavbou apertury, nebyla u leknínu bílého tak výrazná. Jeho pylová zrna jsou celkově menší a s delšími (bakulátními), někdy až paprskovitými výběžky. Sledování pylu potvrzuje diferenciaci popsanou v práci Muntendam & al. (1996), až na dvě populace *N. alba* na Plzeňsku a populaci v Písečném rybníce u Milotic. První má pyl strukturou podobný spíše *N. candida*, ve druhém případě byla nalezena směs dvou typů zrn, mírně se lišící velikostí a tloušťkou exiny. Menší zrna měla průhlednější stěnu. Může se jednat pouze o nedovyvinutý, avšak obarvený pyl.

Muntendam & al. (1996) měřili dokonce průměrnou výšku hrbolků a výrůstků na pylové exině. Vedle verukátních a bakulátních rozlišuje také výběžky gemátní (kratší, na konci rozšířené). Takové byly nyní pozorovány především na zrnech kultivarů, z nichž jiná byla čistě verukátní, nebo se vyskytovala směs různých typů. Oproti tomu povrch *N. alba* byl téměř vždy pokryt řídké výběžky bakulátními, které se vzácně vyskytovaly i na jinak granulátních zrnech *N. candida*.

Volkova & Shipunov (2007) našli ve středním Rusku dva morfotypy *N. candida*, rozdílné i na základě velikosti pylu. Domnívají se, že jde o dvě různé chromozomové rasy a dávají je do souvislosti s pozorovanými ploidními stupni a počty chromozomů u tohoto druhu v Evropě (např. Heslop-Harrison 1955). Připomeňme, že *N. candida* s počtem chromozomů $2n = 160$, udávaným mimo naše území, může spíše reprezentovat aneuploidní formu hybridu, vzniklého z redukované gamety leknínu bílého ($n=42$) a neredukované gamety l. bělostného ($2n=112$).

Pylová zrna u našich hybridů byla strukturou hustých, převážně krátkých výběžků blízka pylu *N. candida*, velikostí se však blížila mnohem více druhu *N. alba*, přítomna byla v menším množství i drobná abortovaná zrna. Barvení cytoplazmy, ukazující počet hypoteticky klíčivých zrn, prokázal navzdory některým dřívějším studiím (Volkova & Shipunov 2007), že pyl *N. × borealis* je z nadpoloviční většiny fertilní. Volkova & Shipunov (2007) zjistili, že rostliny s neobvyklými kombinacemi znaků mají téměř vždy vysoce fertilní pyl, a vyvodili z toho, že tyto rostliny mohou být proto jen stěží pokládány za hybridy. Nynější studie však dokládá, že hybridy mohou skutečně tvořit vysoké procento barvitelného pylu.

5.5 REVIZE VÝSKYTU KARYOLOGICKY OVĚŘENÝCH MORFOTYPŮ

Udávané rozšíření bylo mnohdy zpracováno na základě herbářových dokladů (např. Tomšovic 1988), ale stanoviště podstupují mnohé negativní vlivy a v posledních desetiletích populace leknínů neustále ubývají.

Kromě toho docházelo, vzhledem k obtížné determinaci, k druhovým záměnám, a mapy rozšíření jednotlivých druhů mohou být z toho důvodu zkreslené.

Bylo ověřeno mnoho lokalit leknínu bělostného v jižních Čechách, a to především díky pečlivému zájmu A. Vydrové a V. Grulichy, v oblastech mezofytika dále na Dokesku, kde se vyskytují pozoruhodné populace především u Máchova jezera, jedna populace byla nalezena na Křivoklátsku, kde se historických lokalit nachází poměrně mnoho, žádné další výskyty zde však nebyly potvrzeny, zejména kvůli zániku samotných lokalit. Poněkud atypický se jeví výskyt *N. candida* v termofytiku v Polabí, kde roste zejména v samotném Labi.

V zanesených mrtvých ramenech Labe, Moravy a Dyje je pravděpodobně původní druh *N. alba*, jehož výskyt zde je částečně nevyzpytatelný, neboť při revizi v červnu a srpnu 2011 nebylo několik populací, sledovaných o dva roky dříve, ověřeno. Velmi vzrostlé morfotypy byly nalezeny na dvou lokalitách na Plzeňsku, zvláštní morfotyp, tvarem blizny se blížíci *N. candida*, roste v Kokořínském dole, a jedny z nejbohatších jsou pak populace leknínu bílého u Veselí n. Lužnicí, kde bylo ve smíšených populacích rovněž nalezeno několik rostlin *N. × borealis*.

Na celém studovaném území byly dokumentovány volně rostoucí populace různých nepůvodních kultivarů leknínů, které se téměř vždy vyznačovaly bujným růstem a dlouhou periodou kvetení, přesahující kvetení původních druhů.

6 ZÁVĚR

Získané výsledky významně přispěly k poznání populační struktury, fenotypové variability a mikroevolučních procesů u zástupců rodu *Nymphaea* rostoucích na území České republiky. Ačkoli se vyskytly rostliny s nejasným původem, prakticky všechny byly nakonec úspěšně zařazeny mezi původní taxony, jejich hybridy, nebo nepůvodní kultivary, neboť se potvrdilo, že velikost genomu představuje druhově specifický znak.

Potvrdila se tak i probíhající hybridizace, dříve ve střední Evropě přesvědčivě doložená jen vzácně, častěji však uváděná jen na základě morfologických znaků, a to z celého areálu rozšíření rodičovských druhů. Kromě toho bylo objeveno několik přírodních lokalit s výskytem nepůvodních odrůd, které jsou s původními zaměňovány, a mohou tak představovat riziko jako kompetitoři původních druhů. Zjištěná nízká fertilita jejich pylu však nenaznačuje významné riziko hybridizace a introgrese s původními druhy.

Díky současnému použití klasických a moderních biosystematických metod bylo dosaženo částečné revize rozšíření zástupců rodu *Nymphaea* v České republice. Jako velmi vhodná metoda pro rychlé určení druhové příslušnosti se v rámci studie osvědčila průtoková cytometrie, v dané problematice již uplatněná.

Statistickým zpracováním morfometrických dat s využitím karyologické determinace se podařilo stanovit znaky, které jsou více méně charakteristické pro jednotlivé taxony, a z nich pak vybrat znaky, které mohou být nadále považovány za determinační v dané skupině. Kromě některých dříve

uváděných určovacích znaků se u těchto druhů zejména osvědčil nově nalezený znak, úhel pronutí prašníků.

Konfrontace předchozích morfologických studií s daty získanými v rámci diplomové práce poskytla zajímavé výsledky. Časté byly v literatuře například neshody o významu struktury pylových zrn pro rozlišování druhů (Muntendam et al. 1996, Wayda 2000). Zde jsem došla ke zcela odlišným výsledkům než nedávna, a jinak přesvědčivá studie Volkové a Shipunova (2007), podle které nemá znak determinační význam. Určité neshody lze patrně mnohdy vysvětlit rozdílnou zeměpisnou šířkou lokalit (vliv na vzrůst, jiní opylovači apod.) či taxonomickým pojetím druhu.

Častým předmětem spekulací byla zejména absolutní velikost rostlinných orgánů, jejíž proměnlivost většina autorů (např. Heslop-Harrison 1955, Volkova & Shipunov 2007) přičítá faktorům jako je úživnost prostředí či stáří rostliny. Bylo zjištěno, že velikost rostlinných orgánů může mít taxonomický význam, a to zejména pro odlišení hybridních jedinců od rodičovských taxonů. Vzhledem k velmi nízkému počtu nalezených hybridních rostlin však není jisté, zda je tento jev pro hybridu *N. × borealis* typický, ale byl zdokumentován přinejmenším dvakrát i v zahraničí.

Ačkoli se uvádí (Conard 1905, Tomšovic 1988), že původní Preslův popis leknínu bělostného není jednoznačný nebo zapadl, domnívám se, že na jeho základě a také na základě přiloženého zobrazení totožnost druhu rozpoznat lze, jelikož druh je morfologicky poměrně dobře oddělen od leknínu bílého a většina v literatuře udávaných znaků je platná.

Komplikovanější je nyní naopak fenotypová vyhraněnost leknínu bílého, neboť shlukovací analýzy na základě morfologických znaků ukázaly natolik vysokou blízkost pěstovaným odrůdám, že samotnými morfologickými charakteristikami nelze bezpečně určit sto procent jedinců. Tato situace zřejmě souvisí s nespojitým areálem *N. alba*. Vysvětlením může být již dříve zmiňovaná (Tomšovic 1988) existence několika samostatných linií na našem území, které byly částečně uměle vysazeny. Podstatným závěrem je samotný fakt, že lze spojením více metod nepůvodní rostliny odlišit od původních a většinu jich rozpoznat i v terénu použitelnými makromorfologickými znaky.

Rozpoznání nepůvodních a původních taxonů a jejich hybridů je důležitým předpokladem účinné druhové ochrany, proto se domnívám, že předkládaná práce může nepřímo přispět k zachování kriticky ohrožených populací středoevropských leknínů a s nimi i typického rázu jejich přirozených vodních stanovišť.

Samotná (i když ne vyčerpávající) revize rozšíření v ČR poskytla orientační představu o stavu leknínů a dějích, které ovlivňují vývoj těchto populací. V budoucnu dojde patrně k nálezům dalších lokalit leknínů, na které bude již možno aplikovat aktuální určovací klíč a relativně snadno zhodnotit druhovou příslušnost nově nalézaných populací.

7 LITERATURA

- Anderson E. & Stebbins Jr. G. L. (1954): Hybridization as an Evolutionary Stimulus. – *Evolution*, 8: 378–388.
- Ansari R., Jeeja G. & Jayalakshmi S. K. (2005): Pollen morphology of *Nymphaea* Linn. – *Journal of Palynology*, 41: 139–152.
- Arber A. R. (1920): *Water plants; a study of aquatic angiosperms*. Cambridge University Press. London.
- Bernhardt P. & Thien L. B. (1987): Self-isolation and insect pollination in the primitive angiosperms: New evaluations of older hypotheses. – *Plant Systematics and Evolution*, 156: 159–176.
- Bodt S. D., Maere S. & de Peer Y. V. (2005): Genome duplication and the origin of angiosperms. – *Trends in Ecology & Evolution*, 20: 591–597.
- Borsch T., Hilu K., Wiersema J. H., Neihaus K., Hellquist C. & Wilde V. et al. (2002): Water-Lilies (*Nymphaea*) in Northern Hemisphere: What Do Dna, Morphology, and Fossils Tell Us About Their Origin, Migration and Diversification? In: *Abstracts of Evolutionary Biology Meeting at Marsielle*.
- Borsch T., Hilu K. W., Wiersema J. H., Löhne C., Barthlott W. & Wilde V. (2007): Phylogeny of *Nymphaea* (*Nymphaeaceae*): Evidence from Substitutions and Microstructural Changes in the Chloroplast *trnT-trnF* Region. – *International Journal of Plant Sciences*, 168(5):639–671.
- Borsch T., Löhne C. & Wiersema J. (2008): Phylogeny and evolutionary patterns in Nymphaeales: integrating genes, genomes and morphology. *Taxon* 57: 1052–1081.
- Briggs D. & Walters S. M. (2001): *Proměnlivost a evoluce rostlin*. Olomouc.
- Carpenter K. J. (2006): Specialized structures in the leaf epidermis of basal angiosperms: morphology, distribution, and homology. *American Journal of Botany*, 93: 665–681.
- Conard H. S. (1905): *The waterlilies: a monograph of the genus Nymphaea*. Carnegie institution of Washington.
- Čvančara A (1976): Floristické poměry severovýchodní části Ralské pahorkatiny I. – *Sborník Severočeského Musea, Přírodní Vědy, Liberec*, 8: 3–50.
- Danihelka J. & Grulich V. (1996): Výsledky floristického kursu v Břeclavi (1995). – *Zprávy České Botanické Společnosti, Příloha, Praha*, 31: 1–86.
- Diao Y., Chen L., Yang G., Zhou M., Song Y., Hu Z & Liu J. Y. (2006): Nuclear DNA C-values in 12 species in Nymphaeales. – *Caryologia*, 59: 25–30.
- Dippel L. (1856): *Zur primordialschauchfrage*, 488–491.
- Dkhar J., Kumaria S., Rao S. R. & Tandon P. (2012): Sequence characteristics and phylogenetic implications of the nrDNA internal transcribed spacers (ITS) in the genus *Nymphaea* with focus on some Indian representatives. – *Plant Systematics and Evolution*, 298: 93–108.
- Doležel J., Sgorbati S. & Lucretti S. (1992) Comparison of three DNA fluorochromes for flow cytometric estimation of nuclear DNA content in plants. – *Physiologia Plantarum*, 85: 625–631.
- Doležel J. & Bartoš J. (2005): Plant DNA Flow Cytometry and Estimation of Nuclear Genome Size. – *Annals of Botany*, 95: 99–110.
- Durnikin D. A. (2003): *Nymphaea candida* in Biodiversity of Altai-Sayan Bioregion. Elektronický zdroj, přístupný na http://www.bioaltai-sayan.ru/regnum/eng/species_all.php?right=box-spec-p/nymphaea.php&left=go.php&species=nymphaea_candida.
- Ejankowski W. & Małysz B. (2011): Morphological variability of the water lily (*Nymphaea*) in the Polesie Zachodnie region, Eastern Poland. – *Biologia* 66: 604–609.
- Emboden W. A. (1981): Transcultural use of narcotic water lilies in ancient Egyptian and Maya drug ritual. – *Journal of Ethnopharmacology*, 3(1): 39–83.
- Fu D.-Z. & Wiersema J. H. (2001): Nymphaeaceae. In: Zheng-yi W. & Raven P. H. et al (eds.): *Flora of China*, 6: 117.
- Gąbka M., Owsiany P. M. & Sobczyński T. (2004): Acidic lakes in the Wielkopolska region – physico-chemical properties of water, bottom sediments and the aquatic micro- and macrovegetation. – *Limnological Review*, 4: 81–88.
- Chomchalow N. & Chansilpa N. N. (2007): The role of the ‘Suthasinobon’ complex in introgressive hybridization. – *Assumption University Journal*, 11: 67–76.
- Gąbka M., Owsiany P. M. & Sobczyński T. (2004): Acidic lakes in the Wielkopolska region – physico-chemical properties of water, bottom sediments. *Limnological Review*, 4: 81–88.

- Giesen T. G. & Van der Velde G. (1983): Ultraviolet reflectance and absorption patterns in flowers of *Nymphaea alba* L., *Nymphaea candida* Presl and *Nuphar lutea* (L.) Sm. (Nymphaeaceae). – *Aquatic Botany*, 16: 369–376.
- Goremykin V. V. & Hellwig F. H. (2006): A new test of phylogenetic model fitness addresses the issue of the basal angiosperm phylogeny. – *Gene*, 381: 81–91.
- Grant V. (1981): *Plant speciation*. New York: Columbia University Press XII, 563 s.
- Gupta P. P. (1980): Cytogenetics of Aquatic Ornamentals VI. Evolutionary trends and relationships in the genus *Nymphaea* I. – *Cytologia*, 45: 307–314.
- Gupta P. P. (1978): Cytogenetics of Aquatic Ornamentals II. Cytology of Nymphaeas. *Cytologia*, 43: 477–484.
- Hadač E., Sofron J. & Vondráček M. (1968): Květena Plzeňska. Krajské středisko státní památkové péče a ochrany přírody, Plzeň.
- Hammer Ø. (2010): PAST-PALaeontological STatistics, version 2.00. – Reference manual.
- Hegi E. (1965): Familie *Nymphaeaceae*. *Illustrierte Flora von Mitteleuropa*, Band III. Carl Hansen Verlag, Wien, pp. 1–29.
- Heslop-Harrison, Y. (1955): *Nymphaea* L. em. Sm. (nom. conserv.). – *The Journal of Ecology*, 43(2): 719–734.
- Hesse M., Zetter R. (2005): Ultrastructure and diversity of recent and fossil zona-aperturate pollen grains. *Plant Systematics and Evolution*, 255: 145–176.
- Hossain A., Kabir G., Ud-deen M. M. & Alam A. M. S. (2007): Cytological studies in *Nymphaea* species available in Bangladesh. *Journal of Bio-Science*, 15: 7–13.
- Hromek J. (2004): Koncepce ochrany přírody a krajiny Libereckého kraje. Liberecký kraj, resort životního prostředí a zemědělství, s. 230.
- Hříbal V. (1985): *Voda v zahradě a vodní rostliny*. Státní zemědělské nakladatelství, Praha.
- Khan N, Sultana S. (2005): Inhibition of potassium bromate-induced renal oxidative stress and hyperproliferative response by *Nymphaea alba* in Wistar rats. – *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 20(3): 275–83.
- Klecka W. R. (1980): *Discriminant analysis*. (Sage University Papers, Series: Quantitative applications in the social sciences, no. 19). Sage Publications, Beverly Hills and London.
- Korneck D., Schnittler M., Vollmer I. (1996): Rote Liste der Farn- und Blütenpflanzen (*Pteridophyta* et *Spermatophyta*) Deutschlands. pp. 21–187. In: Ludwig G., Schnittler M. (eds): *Rote Liste gefährdeter Pflanzen Deutschlands*. Schr.-R. f. Vegetationskunde 28. Bundesamt für Naturschutz, Bonn-Bad Godesberg. 744 s. + VXI.
- Langlet O. & Södeberg E. (1927): Über die Chromosomenzahlen einiger Nymphaeaceen. – *Acta Horti Bergiani*, 9: 85.
- Ledig F. T. (1986): Heterozygosity, heterosis, and fitness in outbreeding plants. – In: Soule M. E. (ed.): *Conservation Biology: the science of scarcity and diversity*. Sinauer Associates, Sunderland. s 77–104.
- Les D. H. & Philbrick C. T. (1993): Studies of hybridization and chromosome number variation in aquatic angiosperms: evolutionary implications. – *Aquatic Botany*, 44: 181–228.
- Les D. H., Crawford D. L., Kimbal R. T., Moody M. L. & Landolt E. (2003): Biogeography of Discontinuously Distributed Hydrophytes: A Molecular Appraisal of Intercontinental Disjunctions. *International journal of plant sciences*, 164: 917–932.
- Les D. H., Moody M. L. & Doran A. S. (2004): A genetically confirmed intersubgeneric hybrid in *Nymphaea* L. (*Nymphaeaceae* Salisb.). – *HortScience*, 39: 219–222.
- Liu R. N., Wang W., Ding Y., Xie W. D., Ma C. & Du L.J. (2007): A new flavonol glycoside and activity of compounds from the flower of *Nymphaea candida*. – *Journal of Asian Natural Products Research*, 9(3-5): 333–8.
- Löhne C., Borsch T. & Wiersema J. H. (2007): Phylogenetic analysis of *Nymphaeales* using fastevolving and noncoding chloroplast markers. – *Botanical Journal of the Linnean Society*, 154: 141–163.
- Löve A. & Löve D. (1942): Chromosome numbers of Scandinavian plant species. – Botaniska Notiser, s. 37.**
- Marhold K. & Suda J. (2002): *Statistické zpracování mnohorozměrných dat v taxonomii (Fenetické metody)*. Karolinum, Praha.
- Maude P. F. (1939): The Merton catalogue. A list of the chromosome numerals of species of British flowering plants. – *New Phytologist*, London, 38: 1–31.
- Miller Renee (2009): Cross- and self-fertilization of plants – Darwin's experiments and what we know now. – *Botanical Journal of Linnean Society*, 161: 357–395.
- Moseley M. F. Jr. (1961): *Morphological Studies of the Nymphaeaceae II. The Flower of Nymphaea*. – *Botanical Gazette*, 122: 233–259.
- Muntendam J. B., Povel G. D. E. & van der Velde G. (1996): Morphometric patterns in the *Nymphaea alba-candida* complex. – *Acta Botanica Neerlandica*, 45: 279–302.
- Musilová L. (2010): Riziko hybridizace pěstovaných třešní s ohroženou třešní křovitou (*Prunus fruticosa*). *Bakalářská práce, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze*.
- Nowak A. & Nowak S. (2007): The problem of the occurrence of *Nymphaea candida* C. Presl in the Opole Silesia. – *Opole Scientific Society Nature Journal*, 40: 25–33.

- Nowak A., Nobis M., Dajdok Z., Zalewska-Galosz J., Nowak S., Nobis A., Czerniawska-Kusza I., Kozak M., Stebel A., Bula R., Sugier P., Szlachetka A., Bena W., Trojecka A., Piwowarczyk R., Adamiec A., Krawczyk R. (2010): Revision of *Nymphaea candida* range - new data on the distribution and habitat preferences of the species in southern Poland. – *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 79: 333–350.
- Otto F. (1990): DAPI staining of fixed cells for high-resolution flow cytometry of nuclear DNA. In: Crissman H. A. & Darzynkiewicz Z. (eds.): *Methods in Cell Biology*, 33: 105–10. Academic Press, New York.
- Otto S. P. & Whitton J. (2000): Polyploid incidence and evolution. – *Annual Reviews of Genetics*, 34: 401–37.
- Peterson R., Slovin J. P. & Chen c. (2010): A simplified method for differential staining of aborted and non-aborted pollen grains. – *International Journal of Plant Biology* 1: 66–69.
- Podubský V. & Štědrónský E. (1954): *Vodní, bažinné a pobřežní rostliny*. Státní zemědělské nakladatelství, Praha.
- Poczai P., Mátyás K. K., Szabó I., Varga I., Hyvönen J., Cernák I., Gorji A. M., Desci K. & Taller J. (2011): Genetic variability of Thermal *Nymphaea* (Nymphaeaceae) Populations Based on ISSR Markers: Implications on Relationships, Hybridization, and Conservation. – *Plant Molecular Biology Reporter*, 29: 906–918.
- Presl J. S. & Presl C. B. (1822): *Nymphaea candida* in: *Deliciae Pragenses: historiam naturalem spectantes*. s. 224–225.
- Presl C. B. (1823): *Nymphaea candida* in: Berchtold B. V. & Presl J. S. (1923): *O přirozenosti rostlin, aneb, Rostlinář, pro lékaře, hogače, hospodáře, umělce, řemeslníky a vychovatele. Oddělenj třetj, swazek desátý. W Praze, B. W. z Berchtoldu, J. S. Presl. s 10–17.*
- Procházka F. (ed.) 2001: *Červený a černý seznam cévnatých rostlin České republiky (stav v roce 2000)*, Příroda, Praha.
- Radies F. (1967): A Revision of the *Nymphaea* Material in Hungarian Natural History Museum. – *Annales Historico-Naturales Musei Nationalis Hungarici*, 59: 135–145.
- Rajagopal K. & Sasikala K. (2008): Antihyperglycaemic and antihyperlipidaemic effects of *Nymphaea stellata* in alloxan-induced diabetic rats. – *Singapore Medical Journal*. 49(2): 137–141.
- Rhymer J. M. & Simberloff D. (1996): Extinction by Hybridization and Introgression. – *Annual Review of Ecology and Systematics*, 27: 83–109.
- Rieseberg L. H. (2001): Chromosomal rearrangements and speciation. – *Trends in ecology & evolution*, 16: 351–358.
- Rohlf F. J. (2000): tpsUtil*TPS utility program [Online] Bhttp://life.bio.sunysb.edu/morph/_.
- Rohlf F. J. (2003): tpsSuper. Ver. 1.12 [Online] Bhttp://life.bio.sunysb.edu/morph/_.
- Rohlf F. J. (2005): tpsRegr. Ver. 1.31 [Online] Bhttp://life.bio.sunysb.edu/morph/_.
- Rohlf F. J. (2006): tpsDig. Ver. 2.10 [Online] Bhttp://life.bio.sunysb.edu/morph/_.
- Rohlf F. J. (2007): tpsRelw: relative warps. Ver. 1.45 [Online] Bhttp://life.bio.sunysb.edu/morph/_.
- Rydlo J. (1993): Zanikající mokřady v Polabí. 2. Libický luh. - Muzeum a současnost, řada přírodovědná, Roztoky u Prahy, 7: 91-208.
- Rydlo J. (1995): Vodní makrofyta v Národním parku Podyjí. - Muzeum a současnost, řada přírodovědná, Roztoky u Prahy, 9: 129-148.
- Rydlo J. (1997): Vodní makrofyta v Labi v úseku Chvaletice - Mělník v letech 1976, 1986, 1996. - Muzeum a současnost, řada přírodovědná, Roztoky u Prahy, 11: 87-128.
- SAS Institute Inc. (2002): *SAS9 Language Reference: Dictionary*, 1 a 2. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Schönschwetter P., Suda J., Popp M., Weiss-Schneeweiss H. & Brochmann C. (2007): Circumpolar phylogeography of *Juncus biglumis* (Juncaceae) inferred from AFLP fingerprints, cpDNA sequences, nuclear DNA content and chromosome numbers. – *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 42: 92–103.
- Smits A. J. M., De Lyon M. J. H., van der Velde G., Steentjes P. L. M., Roelofs J. G. M. (1988): Distribution of three nymphaeid macrophytes (*Nymphaea alba* L., *Nuphar lutea* (L.) Sm. and *Nymphoides peltata* (Gmel.) O. Kuntze) in relation to alkalinity and uptake of inorganic carbon. – *Aquatic Botany*. 32: 45–62.
- Soltis P. S. & Soltis D. E. (2000): The role of genetic and genomic attributes in the success of polyploids. – *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 13: 7051-7057.
- Soltis D. E., Bell C. D., Kim S. & Soltis P. S. (2008): Origin and early evolution of angiosperms. – *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1133: 3–25.
- Songpanich P. & Hongtrakul V. (2010): Intersubgeneric cross in *Nymphaea* spp. L. to develop a blue hardy waterlily. – *Scientia Horticulturae*, 124: 475–481.
- Szańkowski M. & Kłosowski S. (1999): Habitat conditions of nymphaeid associations in Poland. – *Hydrobiologia*, 415: 177–185.
- Šumberová K. (1999): *Flóra a vegetace mokřadů v oblasti soutoku Moravy a Dyje*. – Muzeum a současnost, ser. natur., Roztoky u Prahy, Středočeské muzeum. 13: 33–53.
- Takhtajan A. (2001): *Flowering plants (second edition)*. s. 56.

- Tischler G. (1927): Die chromosomen und ihre Bedeutung für Allgemeine Pflanzenkaryologie. – *Tabulae biologicae*, Hague, 3: 554.
- Hultén E. (1950): Atlas över växternas utbredning i Norden. Stockholm. s. 196.
- Tischler G. (1950): Die Chromosomenzahlen der Gefäßpflanzen Mitteleuropas. Junk, s'Gravenhage, Netherlands.
- Tomšovic P. (1988): *Nymphaeaceae*. In: Květena České socialistické republiky I. Academia, Praha.
- Vacek V. & Matějková I. (1995): Materiál ke květeně Přešticka. Západočeské muzeum, Plzeň.
- Vaněk V. & Stodola J. (1987): Vodní a vlhkomilné rostliny. Státné zemědělské nakladatelství, Praha.
- Višňák R. (2000): Botanické poměry severovýchodní části Ralské pahorkatiny; 1. Potenciální přirozená vegetace a floristické poměry. – *Zprávy České Botanické Společnosti*, Praha. 34: 185-212
- Vít P., Suda J., Krahulcová M., Urfus T. & Trávníček P. (2009): Hybridization of *Cerastium alsinifolium*: caryological and molecular evaluation of serpentine endemic species. Abstrakt posterů z International Conference on Polyploidy, Hybridization and Biodiversity v Saint Malo, Francie, s. 90.
- Volkova P. A. (2002): White water-lily flowers behaviour (*Nymphaea candida* J. et C. Presl.) in different photoperiods. – The materials of the White Sea Expedition of Moscow South-West High School. 2 [online]. Poslední aktualizace 2005. Dostupné na adrese: <http://herba.msu.ru/shipunov/belomor/english/2002/nymph.htm>
- Volkova P. A. (2006): Changes of sizes and shape of pollen grains and leaves of *Nymphaea alba*, *N. candida* and *N. tetragona* (Nymphaeaceae) after traditional means of treatment of fresh plants. [online]. Poslední aktualizace 14. 04. 2011. Přístupné na adrese http://herba.msu.ru/shipunov/belomor/english/2006/nym_ch.htm
- Volkova P. A. & Shipunov A. B. (2007): Morphological variation of *Nymphaea* (*Nymphaeaceae*) in European Russia. – *Nordic Journal of Botany*, 5-6: 329–338.
- Volkova P. A., Trávníček P. & Brochmann C. (2010): Evolutionary dynamics across the discontinuous Eurasian aquatic system: vast expansion and multiple polyploid origins in white water-lilies (*Nymphaea*). – *Taxon*, 59: 483–494.
- Vydrová A. & Grulich V. (2010): Lekniny (rod *Nymphaea*) v jižních Čechách. – *Muzeum a současnost*, ser. natur., Roztoky u Prahy, Středočeské muzeum, 25: 25–71.
- Wayda M. (2000): The distribution of *Nymphaea candida* C. Presl. (Nymphaeaceae) in Poland. – *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 69(1): 75–78.
- Walker J. W. (1974): Aperture evolution in the pollen of primitive Angiosperms. – *American Journal of Botany*, 61: 1112–1137.
- Werner K. & Hellwig F. (2006): Hybridization between *Nymphaea alba* and *Nymphaea candida* investigated by AFLP fingerprinting and morphological data. In: Abstracts of 17th Symposium Biodiversity and Evolutionary Biology, Bonn, p. 227.
- Wiersema J. H. (1996): *Nymphaea tetragona* and *Nymphaea leibergii* (Nymphaeaceae): Two Species of Diminutive Water-Lilies in North America. – *Brittonia*, 48: 520-53.
- Woods K., Hilu K. W., Wiersema J. H. & Borsch T. (2005): Pattern of Variation and Systematics of *Nymphaea odorata*: I. Evidence from Morphology and Inter-Simple Sequence Repeats (ISSRs). – *Systematic Botany* 30(3): 471–480.
- Zhao J., Liu T., Ma L., Yan M., Gu Z., Huang Y., Xu F. & Zhao Y. (2009): Antioxidant and Preventive Effects of Extract from *Nymphaea candida* Flower on In vitro Immunological Liver Injury of Rat Primary Hepatocyte Cultures. – *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011, 8 s. <http://www.hindawi.com/journals/ecam/2011/497673/cta/>
- Zonneveld B. J. M., Leitch I. J., Bennett M. D. (2005) First nuclear DNA amounts in more than 300 angiosperms. – *Annals of Botany* 96: 229–244.

8 PŘÍLOHA

Tabulka 4 – Seznam 55 populací, 35 kultivarů ze sbírek Botanického ústavu AV ČR, v.v.i., Průhonice (šedivě, č. 22–56) a tři zahraničních sběrů. Uvedena je lokalita s upřesněním v souřadnicích GPS, rok a měsíc sběru, početnost leknínů na lokalitách a počet vzorků odebraných na cytometrii a morfometriku (listy, květy).

číslo lokality / populace	oblast	souřadnice	rok	měs.	početnost trsů	vzorků cytom.	listy	květy
1	Labe u Velkého Oseka, P břeh	50°5'15,3" N 15°10'4,8" E	2009, 2011	VI	15	10	8	2
2	Tonice - Bezedná u V. Oseka	50°5'2" N 15°10'24,5" E	2009	VI	3 kvetoucí	3	0	0
3	rybník u kempu u V. oseka	50°5'42" N 15°10'43" E	2009	VI	8	1	0	0
4	Rakvice (JM), jezírko Kutnar	48°50'10,9"N 16°47'34,4"E	2009, 2011	VII	16	22	12	13
5	Břeclav (JM), slepé rameno Bruksa	48°45'45" N 16°52'3,6" E	2009	VII	25	10	0	0
6	pivovarský r. Brumov (JM)	49°5'30" N 18°1'6" E	2009	VII	6 velkých	10	0	0
7	Kokořínsko, Kokořínská tůň	50°26'7.1"N 14°34'50.6"E	2009	VIII	4	4	0	0
8	Kokořínsko, Hlučovská tůň	50°26'56.1"N 14°34'38.9"E	2009, 2011	VIII	30	13	10	10
9	Vlašim, r. U Drůbežárny	49°41'1.6"N 14°53'45.9"E	2009	VIII	4 velké	10	10	10
10	Novozámecký r.	50°37'43" N 14°32'19" E	2010	VI	20	11	11	11
11	Swamp u Doks	50°34'34"N 14°40'10.5"E	2010	VI	40	11	11	11
12	Horní Kralce u Rudy	50°8'26" N 13°50'34" E	2010	VII	po celé ploše	11	11	11
13	Obecní r. u Jarošova (JH)	49°11'8,4" N 15°5'20" E	2010	VII	10	10	10	10
14	Pazouřák u Strmilova (JH)	49°9'26" N 15°13'18,7" E	2010	VII	50	11	11	11
15	Mlékojedy, labské rameno	50°15'32" N 14°32'40" E	2010	VII	9 velkých	9	9	9
16	Brandýs n. L., labské rameno	50°11'29.1"N 14°41'30.7"E	2010	IX	5	2	2	0
17	Mosty (JH) návesní rybníček	49°6'36.4"N 15°14'4.5"E	2010	IX	7	1	4	0
18	Nová Bystřice, r. Růže	49°4'18.9"N 15°6'54.2"E	2010	IX	po celé ploše	1	3	0
19	Nová Bystřice, Číměř, r. u silnice	49°4'7"N 15°5'10.9"E	2010	IX	4 bílé, 4 růžové	10	10	10
20	Vajgar (JH) - SZ břeh	49°8'39.2"N 15°0'23.8"E	2010	IX	2	1	3	0
21	Vanůvek (Jihl.), návesní r.	49°13'19.4"N 15°25'20.3"E	2011	V	4	3	0	0
22	'Rosennymphe'	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0
23	'Marliacea rosea'	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0
24	'Fabiola'	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0
25	'Attraction'	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0
26	'Firecrest'	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0
27	'Irene'?	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0
28	'Norma Gedye'	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0
29	'Perry's magnificent'	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0
30	'Ray Davies'	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0
31	'American star'	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0
32	'Heverwhite'	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0
33	'Gloire de Temple-sur-Lot'	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0
34	'alba'	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0
35	odorata var. pumila?	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0
36	'Merliacea albida'	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0

37	'Gladstone'?	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0
38	'...selinberg'	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0
39	'Souvenir de Fridolfing'	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0
40	'Virginalis H94'	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0
41	'Marliacea chromatella'	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0
42	'Marliacea chromatella'	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0
43	'Odorata sulphurea'	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0
44	'Gold medal'	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0
45	'Pink starlet'	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0
46	'Texas Dawn'	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0
48	'Attraction'	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0
49	'Gloriosa'	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0
50	'Perry's Dwarf Red'	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0
51	'Perry's Red Star'	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0
52	'Sirius'	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0
53	'Perry's Super Red'	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0
54	bez označení	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0
55	'Yellow princess'	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0
56	'MME Maurice Laydeker'	sbírka Průhonice	2011	VI	1	1	1	0
57	Hradčany (Dokesko), Vavrouškův r.	50°36'34.8"N 14°45'5.4"E	2011	VI, VII	> 100 trsů	19	10	10
58	Hradčany (Dokesko), Strážovský r.	50°36'38.4"N 14°44'31.8"E	2011	VI	3 kvetoucí	4	4	4
59	Šťáhlavy (Plzeňsko), Lopatecký r.	49°40'2.6"N 13°31'47.1"E	2011	VI	3	3	3	3
60	Lanzhot, Stibůrkovská jezera	48°45'0.2"N 17°0'10.3"E	2011	VI	11 kvetoucích	11	10	10
61	Drahov (JČ), Farářský r.	49°10'31.9"N 14°44'28.1"E	2011	VII	4 velké propojené	10	10	10
62	Drahov (JČ), r. Přední Sax	49°9'46.8"N 14°45'34.5"E	2011	VII	15	15	10	10
63	Drahoj (JČ), r. Smíchov I	49°9'42.9"N 14°46'32.5"E	2011	VII	> 70 trsů	10	10	10
64	Drahov (JČ), r. Hluboký Sax - SV	49°9'52.4"N 14°46'13.2"E	2011	VII	15	11	10	10
65	Drahov (JČ), r. Hluboký Sax - J	49°9'41.8"N 14°46'5.6"E	2011	VII	40	10	10	10
66	Kardašova Řečice (JČ), r. Fejmárek (Frajmárek)	49°10'35.9"N 14°48'13.8"E	2011	VII	15-20%; hustý porost s centrálním trsem	46	10	10
67	Kardašova Řečice (JČ), r. Skopaný	49°10'12.4"N 14°47'34.5"E	2011	VII	5 menších, 1 velký	37	10	10
68	Kardašova Řečice (JČ), Prostř. Ohrazice	49°11'14"N 14°47'31"E	2011	VII	10	14	10	10
69	Kolence (JČ), r. Pohořelec	49°6'8.8"N 14°47'44.4"E	2011	VII	7 menších a 3 velké v S části, 3 malé v J části	56	10	10
70	Seč (Plz.), Mlýnský r.	49°35'11.3"N 13°30'15.4"E	2011	VII	40 velkých trsů	9	9	10
71	Stará Huť (Plz.), Huťský r.	49°33'43.1"N 13°33'20.4"E	2011	VII	rozsáhlý ± souvislý porost	10	10	10
72	Břehyňský r. (Dokesko)	50°34'35.1"N 14°41'38.8"E	2011	VII	1	1	1	1
73	Nymburk: P břeh Labe	50°11'4.6"N 15°3'8.8"E	2011	VII	3 kvetoucí	3	3	3
74	Kostomlátky: P břeh Labe	50°10'13.4"N 14°59'21.8"E	2011	VII	13 kvetoucích	10	10	10
75	Písečný r. u Milotic	48°57'44.5"N 17°9'0"E	2011	VIII	po celé ploše	10	10	10
76	Slavonice (JČ), M. Spálený r.	49°0'54.7"N 15°18'11.4"E	2011	VIII	25 kvetoucích	11	10	10
77	Senotín (JČ), r. Skalák	49°3'45.8"N, 15°9'31.6"E	2011	VIII	30 % plochy	10	10	10

78	Nová Bystřice (JČ), r. Panoš	49°4'14.4"N 15°6'55.6"E	2011	VIII	9%	10	10	10
79	Stříbřec (Třeboňsko), r. Vyšehrad	49°2'1.4"N 14°51'4.6"E	2011	VIII	1	1	1	1
80	Na Primárně (JČ), slepé rameno Lužnice	48°51'53.1"N 14°53'39.3"E	2011	VIII	10	11	11	10
81	Šalmanovice (JČ), r. Xerr	48°52'5.7"N 14°46'47"E	2011	VIII	50 / 15 kvetoucích	12	13	10
82	Jílovice, JČ	48°53'10"N 14°42'3"E	2011	VIII	2 menší, 1 velký	5	6	2
83	Trhové Sviny (JČ), D. Machartův r.	48°51'22.8"N 14°38'27.3"E	2011	VIII	40/ 20 kvetoucích	11	7	10
84	Nové Hradky (JČ), Přesličkový r.	48°46'15.7"N 14°48'10.2"E	2011	VIII	> 100, bohatě kvetly	10	11	10
85	Malonty (JČ), V. Hodonický r.	48°42'2"N, 14°33'17.8"E	2011	VIII	50 / 30 kvetoucích	12	11	11
86	Tichá (JČ) - rybníček	48°37'24.5"N 14°29'47.3"E	2011	VIII	20 / 5 kvetoucích	14	10	10
87	Trhová Kamenice (JČ), Velká Kamenice	49°46'50.4"N 15°49'44.1"E	2011	VIII	6 velkých	10	10	10
88	Labe u Mělic, P břeh	50°2'0.2"N 15°36'58.7"E	2011	VIII	1	1	1	1
89	slepé ram. V Mělic	50°2'0.7"N 15°37'35.5"E	2011	VIII	4 nekvetočí	2	2	1
90	Mělice, rybníček	50°2'6.8"N 15°36'59.1"E	2011	VIII	15	5	5	5
Šv.	Švédsko	?	2010	VII	1	1	3	1
UK10	Skotsko	?	2010	VII	2	2	0	0
UK11	Skotsko	?	2011	VIII	2	2	0	0

Tab. 5 – nepotvrzené výskyty, dříve udávané v literatuře (především v databázi FLDOK)

zdroj	lokality	datum revize
Šachl J. (1981)	Legerova tůň u Tří Dvorů u Kolína	opakovaně 2009 - 2008
Šachl J. (1981)	v Pytli mezi Osečkem a Poděbrady	opakovaně 2009 - 2009
Knížetová L., Pecina P. et Pivničková M. (1987), Husák Š. et Rydlo J. (1985)	L. břehu Labe mezi Záhořím a Starým Kolínem /Špačkov jezero a stráně k trati/	opakovaně 2009 - 2010
Knížetová L., Pecina P. et Pivničková M.	CHPV Libický luh	opakovaně 2009 - 2011
Knížetová L., Pecina P. et Pivničková M. (1987)	Navrhované CHÚ Pňovský luh	opakovaně 2009 - 2012
Husák Š. et Rydlo J. (1985)	Velký Osek: tůň u Tonice 1,7km ZJZ od nádraží	červenec 2009
Husák Š. et Rydlo J. (1985)	Veltruby: tůň uprostřed obce	červenec 2009
Rydlo J. (1987)	Kolínsko: CHÚ Lžovická ramena	červenec 2010
Rydlo J. (1987)	Kutnohorsko: Špačkov jezero a jeho okolí	červenec 2009
Rydlo J. (1997)	Veletov: břehy Labe na 90-93 říč.km	červen 2010
Rydlo J. (1996).	L. břeh od veletovského jezu po ústí Černé struhy (délka 2km) /S obce Starý Kolín	červenec 2009
Černý T. (2003).	Tůň zv. "Bejkovna" u Lžovic	červenec 2011

Husák Š. et Rydlo J. (1985)	Byšičky: tůň při ZJZ okraji vsi	červenec 2011
1979; Rýdlo J, Petříček V.; Str:43; ; Rydlo J. (1987)	Kolínsko: CHÚ Kolínské tůně 1,8km V od nádraží	červenec 2010
Knížetová L., Pecina P. et Pivničková M. (1987)	CHPV Veltrubský luh	opakovaně 2009 - 2012
Rydlo J. (1997)	Kostomlátky: břehy Labe na 53-54 říč.km	červenec 2011
Rydlo J. (1997)	Drahelice: břehy Labe na 56-58 říč.km	červenec 2011
Černohous F. (1978)	Lohenice: odstavené rameno Labe u obce	červenec 2010
Černohous F. (1978)	Lázně Bohdaneč: rybník Nadymač	červenec 2011
1994; Danihelka J.; Str:74; Danihelka J., Grulich V., Šumberová K., Řepka R., Husák Š. et Čáp J. (1995)	Nové Mlýny: rez. Křivé jezero	červen 2009
Danihelka J., Grulich V., Šumberová K., Řepka R., Husák Š. et Čáp J. (1995)	Lednice: Květné jezero	červen 2010
1987; L.Hrouda a J.Kochjarová; Str:20; Grulich V. (1989)	Napajedla, sádky S slepého ramene Pahrbek na J okraji města	červenec 2010
1987; Z.Habrovanský; Str:20; Grulich V. (1989)	Babice, Uhliska, vytěžená pískovna 1,5 km JJV obce	červenec 2010
1987; R.Řepka, V.Skalický; Str:27; Grulich V. (1989)	Rohatec, Soboňky, rybníček pod tratí	červenec 2011
1995; Hájek M. (1996).	Rybníky pod Babí horou: jde o 3 letněné rybníky v údolí Boršovského potoka v katastrech obcí Hluk a Boršice u Blatnice	červen 2009
1985; Skalický; Str:149; Hrouda L. et Skalický V. (1988)	Vrchotovy Janovice, rybníčky pod silnicí JZ a Z dvora Voračice	srpen 2010
Knížetová L., Pecina P. et Pivničková M. (1987)	Registrovaná lokalita Rybníček u Studeného: nachází se v k.ú. Studený	červen 2011
Rydlo J. (1995)	NP Podyjí: Stojaté vody: úzký rybníček při kraji lesa 1km V od Onšova	červenec 2011
Štryplová K. et Bureš P. (1995)	Kasany: vlhká louka a břeh rybníka v obci	červenec 2012
Elsnerová a spol.1982; Rydlo J. (2000)	Rybníky kromě jednoho nad koupalištěm nad pivovarem v Brumově	červen 2009
Rydlo J. (2000)	Rybníček ve strání v rezervaci V krátkých 3km ZJZ od Starého Hrozenkova	červen 2010
Slavík B. (1983)	Klý u Mělníka	červenec 2010
Šachl J. (1981)	Na Ovčačce - tůň u Tří Dvorů u Kolína	červenec 2009
Sterneck J. (1938)	Elbogen /Loket	srpen 2010

Sterneck J. (1938	Karlsbader Stadtgutwald /Karlovy Vary	srpen 2011
Vacek V. et k tisku po úmrtí autora připravila I. Matějková (1995)	v Úhlavě u mlýna v Borovech	srpen 2011
Skalický V. et Vaněček J. a kolektiv (1980	Nepomuk: rybník Jednota	srpen 2012
Vacek V. et k tisku po úmrtí autora připravila I. Matějková (1995)	Žinkovy: u rybníka	srpen 2013
Komárek K. (1966).	Nový rybník S okraj města Soběslav	září 2009
Lhotský O. et Hejtný S. (1974)	Vlkov n. Luž.: u Z konce hráze rybníka Překvapil /Nový rybník	září 2009
Kučerová J. (1974).	Lišov: cihelna při silnici na Hůrky 700m od kostela	září 2009
Pešout P. (1992)	Vlašim: rybník Krčák	září 2009
1990; Pešout a prof.P. Čech; Str:45; ; Pešout P. (1992).	rybníček asi 750m SZ od obce Onšovice u Radošovic	září 2009
Pešout P. (1996)	Římovice: rybník v Koledřovech	září 2009
Marschner H., Tuma E., Houfek J. et Roubal A. (1983)	Okraje rybníků, vlhké křoviny u Šluknova	červenec 2012
Višňák R. (1999).	Černý rybník /asi u obce Černé Noviny	červen 2011
Nesvadbová J. et Sofron J. (1996)	Žinkovy: při zelené tur. znače po JZ břehu horního 6inkovského rybníka	srpen 2011
Pešout P. (1996)	Vlašimsko: Vlašim, rybník Utopenec	září 2009
Faltys V. (1996)	Kralupy nad Vltavou: P břeh Vltavy a slepá ramena S od mostu v obci	opakovaně 2010-12
Rydlo J. (1992).	Křivoklátsko: rybník 100m J od kóty 409m n.m. Na vrších, 400m J od Trubské	srpen 2010



POPIS LOKALIT

Materiál z lokalit 1 – 8 byl v roce 2009 zpracováván, jak se později ukázalo, nevhodnou metodou herbářování listů a ukládání květů do lihu. Proto byly významné lokality navštíveny znovu, avšak s malou úspěšností.

1 - Labe u Velkého Oseka, pravý břeh – „U Starého Labe“

– *N. candida*

Výskyt *N. candida* zaznamenali v Labi u Libického, Pňovského a Veltrubského luhu r. 1978 V. Skalický, r. 1983 Š. Husák a J. Rydlo a od r. 1987 vícekrát Rydlo - Klárko, pokud to jsou nějaké články, pak citovat klasicky (Skalický 1978, atd.) (79–74 km říční kilometráže). V červnu 2009 jsem viděla lekníny na obou březích Labe, což potvrdilo starší údaje. Při opakování sběru 12. 6. 2011 byl stav populace ztlačně horší, asi jen 3 kvetoucí trsy při pravém břehu; převažoval *Nuphar lutea*.

2 – Tonice-Bezdná

– *N. alba*

Jedná se o přírodní rezervaci zahrnující mrtvá říční ramena nedaleko první lokality na pravém labském břehu, avšak zanesené labské rameno je eutrofnější a s vyšší vrstvou bahna. Výskyt *N. alba* zde uvádí 1983 Husák Š. a Rydlo J., 1985 Knížetová L., Pecina P. a Pivnicková M., a od r. 1989 Rydlo J.

Sběr nebyl zopakován. Již v r. 2009 byla populace slabá (3 kvetoucí rostliny) a r. 2011 nebyli nalezeni kvetoucí jedinci. Zde je ilustrační ukázka blizen z r. 2009.



Obr. 84 – Rozdíl ve tvaru a barvě blizen leknínů z blízkých lokalit u Velkého Oseka je velmi nápadný: *N. alba* (vlevo) a *N. candida* (vpravo). Květy se navečer zavírají a tyčinky často překrývají bliznu, proto je třeba je rozevřít.

3 – Rybník JZ od Velkého Oseka

– kultivar

Není jasné, zda se nejedná o lokalitu popsanou 1983 Husákem a Rydlem jako tůň Okrouhlík 1,9 km JZ od nádraží v Oseku, kde zaznamenali druh *N. alba*. Pokud však popis odkazoval k mrtvým ramenům blíže k Labi, zde lekníny r. 2009 nebyly. Na lokalitě č. 3 v rybníčku nedaleko kempu rostly hojně při S břehu růžovokvěté vonné lekníny. Sběr nebyl opakován.

4 – Rakvice na jižní Moravě, Jezírko Kutnar

– *N. alba*

Přírodní památka Kutnar je jezírko v polích v Dyjsko-svrateckém úvalu, kde V. Grulich 1987 určil druh *N. alba*. Sběry byly zopakovány 28. 6. 2011. Rostliny mají kápovité špičky a bílé spodní části kališních lístků, korunní plátky jsou třpytivě bílé.

5 – Břeclav, jezero Bruksa

– *N. alba*

Jedná se o pěkné přírodní, poměrně rozsáhlé, slepé rameno Dyje s vod'ankou žabí, kde bylo r. 2009 zaznamenáno mnoho kvetoucích trsů leknínu bílého (1987 Grulich, 1994 Husák), ale při opakované návštěvě 4. 8. 2011 nebyly patrné kvetoucí rostliny, ani listy, a sběr nebyl opakován.

6 – Brumov-Bylnice na Zlínsku, 2. rybník nad koupalištěm

– kultivar

V Brumově se lekníny vyskytovaly ve všech čtyřech pivovarských rybnících nad koupalištěm. *N. alba* zde zaznamenali 1973 Holub a Elsnerová 1982. Dnes (2009) jsou rybníky v soukromém majetku a pouze na 2. rybníce rostou lekníny kulturního původu, jejichž mohutné trsy vystupují nad hladinu a bohatě kvetou. Sběr nebyl opakován.

7 + 8 – Kokořínský důl, tůň na říčce Pšovce

– *N. alba*

Mezi Kokořínem a Lhotkou u Mělníka leží několik revitalizovaných tůní na říčce Pšovce v přírodní rezervaci Kokořínský důl. V Harasovské tůni uvádí bohatě kvetoucí *N. candida* 1908 Kavina. Leknín bělostný se v Kokořínském dole uvádí dodnes, např. v seznamu chráněných druhů CHKO Kokořínsko. V Podhradské tůni (1983 Husák a Rydlo), v Hlučovském, Lhoteckém a Pivovarském rybníce a v Harasovské a Kokořínské tůni (1988 Petříček) byl zaznamenán výskyt *N. alba*, v Kokořínské tůni druh našel už Böhm r. 1888.

V r. 2009 byly 4 rostliny nalezeny v Kokořínské tůni v rákosu při V břehu, většina tůně byla zarostlá stulíkem žlutým. Bohatší populace rostla v Hlučovské tůni. Při opakování sběrů r. 2011 žádné lekníny v Kokořínské tůni nalezeny nebyly, sběr byl opakován pouze na Hlučovské tůni a dvě samostatné rostliny byly spatřeny též v Harasovské tůni, která je využívána jako koupaliště.

Některé rostliny mají pozoruhodně dlouhé bliznové zuby a některé mají vzájemně částečně srostlé kališní lístky.

9 – Vlašim, rybník U Drůbežárny

Vysazené lekníny v rybníčku U Drůbežárny tvoří bujný porost a vyznačují se vysokým počtem bliznových paprsků, které nejsou do kruhu, ale spíše dosahují oválného tvaru, stejně jako středový výčnělek



Obr. 85 – U Drůbežárny. Vysazený kultivar – celkový habitus (vlevo), pohled do květu (vpravo).

Jižně od Vlašimi se nachází soustava rybníků. Leknín bez druhového určení zaznamenal v roce 1990 P. Pešout v této oblasti na rybníce Kačák, ten se však nepodařilo ověřit. R. 2009 nebyly lekníny na žádném dalším rybníce na Orlině mezi Vlašimi a Vracovicemi.

10 – Zahrádky na Dokesku, Novozámecký r.

– *N. candida*

Lekníny rostou na JZZ břehu. D. Turoňová ho zde zaznamenala r. 2000 bez druhového určení.

11 – Máchovo jezero: Swamp

– *N. candida*

V severní dvojité zátocce (1993) a ve východní zátocce u Břežyňského potoka v NPP Swamp (1996) leknín uvádí D. Turoňová. R. 2010 byly lekníny jen ve východní zátocce, kde jezero plynule přechází v mokřad a mimo jiné se zde vyskytuje *Utricularia australis*. *N. candida* zde dosahuje neobyčejně malých rozměrů, což souvisí s hloubkou vody, která se pohybuje okolo 30 cm. Oddenky drobných leknínů na lokalitě přezimovávají pravděpodobně díky vrstvě humózního bahna, která nepromrzá.



Obr 86 – Swamp – lokalita drobného morfortypu leknínu bělostného.



Obr. 87 – Jednou z charakteristik leknínu bílého je neúplné vynoření květů nad hladinu. Máchovo jezero.

12 – Ruda na Rakovnícku, r. Horní Kracele

– *N. candida*

N. candida zde určil r. 1988 a 2008 J. Rydlo, lekníny kvetou po celé ploše rybníka.

V jižních Čechách bylo navštíveno několik lokalit podle nedávných průzkumů A. Vydrové (Vydrová & Grulich 2010):

13 – Obecní rybník u Jarošova n. Nežárkou

– *N. candida*

Menší načervenalé rostliny v bahnitě, dosti eutrofnizované vodě.

14 – Pazourův rybník u Strmilova

– *N. candida*

Leknín bělostný se zde vyskytuje hojně v čisté vodě s vysokou průhledností.

V červenci 2010 nebyly lekníny nalezeny v Dolním r. pod Hájenkou u osady Kaproun u Kunžaku, ve Velké Černé u Hospříze (Vydrová ještě r. 2009 zaznamenala 20 trsů), ani ve Vlčetínském r. u Kamenice n. Lužnicí.



Obr. 88 – Pazourův rybník je bohatou lokalitou *N. candida*.

15 – Polabí, Mlékojedy – slepé labské rameno na P břehu

– kultivar

Rameno je hojně využíváno rybáři. Bujné trsy, vystupující nad hladinu. Rostliny s tlustými řapíky, velkými květy, některé květy jsou výrazně narůžovělé.

V mělnickém Polabí jsem v červenci 2010 hledala lokality leknínu bělostného, který zde uváděl K. Presl (Presl 1823) a našla jsem jednu nekvetoucí rostlinu ve špatném stavu (nesbíráno) ve slepém labském rameni J od Mělníka, kde rostl hojně *Nuphar lutea*, podobně jako v přilehlém Labi.

Lekniny jsem nenašla v Labi v blízkosti Kel a Obříství, v labském rameni S Dušníků, v tůni v Černavě u Libiše, ve slepém rameni u Tuhaně na P břehu Labe (okřehek, stulík) ani v rybníčku u silnice u Červené Písky

16 – Brandýs n. L. – slepé labské rameno

– kultivar

Lokalita je na okraji města. 12. 9. 2010 zaznamenáno několik trsů, ale žádný kvetoucí; sebrány vzorky jen na cytometrii.

17 – Mosty u Kunžaku, Malé jezero

– kultivar

V návesních rybníčcích v obci rostlo několik trsů.

18 – Nová Bystřice, rybník Růže

– *N. candida*

Rozsáhlý rybník, 14. 9. 2010 hojně zarostlý listy, ale lekniny již nekvetly, sebrány byly pouze listy a sběr zopakován následující rok na vedlejším rybníce Panoš.

19 – Číměř, rybníček u silnice

– kultivar

Veliké rostliny. Polovina trsů kvetla bíle, druhá polovina do růžova (14. 9. 2010). Rovnoměrné rozložení trsů, velký vzrůst, zbarvení do růžova, kvetení v půli září a dostupnost lokality napovídají, že lekniny sem byly vysazeny.

20 – Jindřichův Hradec, rybník Vajgar

– kultivar

Rybník Vajgar představuje zajímavou lokalitu, neboť na něm bylo zaznamenáno několik taxonů leknínů. Rostl zde leknín bělostný, pravděpodobně sem byl vysazen i leknín bílý, a na Vajgaru došlo ke spontánní hybridizaci (Podubský & Štědrónský 1954). R. 2010 byly však lekniny nalezeny pouze při SZ břehu u zástavby. Jedná se o výsadbu asi 2 kulturních rostlin.

V září r. 2010 jsem v jižních Čechách nezaznamenala žádné lekniny v rybníce Panoš mezi Číměří a Kunějovem, ani na lokalitě PR Rybníček u Studeného (lokality udávané Vydrovou a Grulichem 2010).

Nesbírala jsem evidentní kultivary v Horní Vilímeči (rybník na J obce), v Senotíně (v obci) a v návesním rybníce v Matějovci.

21 – Vanůvek, návesní rybník

– kultivar

Rostliny s malými červenými listy byly sebrány pouze pro porovnání.

57 – Hradčanské rybníky, Vavrouškův rybník

– *N. candida*

Rybník s velmi čistou vodou (viditelnost alespoň 2 m). Jednotlivé trsy leknínu jsou rovnoměrně rozprostřené po celé ploše rybníka. Laloky listů se zvedají a tvoří tzv. kormidlo. Měřením v červnu 2011 byl odhalen jedinec s genomem pouhých $2C=3,14$ pg, který se však morfologicky nelišil od

zbytku populace. Proto byl sběr na lokalitě v červenci opakován, ale tentokrát nebyla ve vzorku nalezena žádná variabilita, jednalo se pravděpodobně o náhodně sebraného aneuploidního jedince.



Obr. 89 – Vavrouškův rybník

58 – Hradčanské rybníky, Strážovský rybník

– *N. candida*

Nedaleký druhově chudší rybník s několika lekníny v S polovině. Rostliny jsou menší.

Do soustavy Hradčanských rybníků spadá i Černý rybník u Hamru, kam byly údajně vysázeny lekníny nejasné taxonomické hodnoty (Višňák 2000), někdy se uvádí druhotný výskyt druhu *N. alba* (Hromek 2004), tam ale 19. 6. 2011 lekníny nebyly nalezeny.

Lokality leknínu bělostného na Dokesku na Hamerském, Ploužnickém i Hvězdovském rybníce zanikly (Čvančara 1976).



Obr. 90 – Vavrouškův r. Květy leknínu bělostného bývají zčásti ponořené.

59 – Kozel, Lopatecký rybník

– kultivar

Hadač, Sofron & Vondráček (1968) v Květeně Plzeňska udávají v Kozlu výskyt *N. candida*. R. 2011 jeden trs leknínů vyrůstal z květináče, větší trsy v hloubce (1,3 m) byly rozrostlé. Všechny měly velké listy, narůžovělé květy. Kroně leknínů na rybníce roste i stulík žlutý.



Obr. 91 – Lopatecký rybník

Na Plzeňsku nebyly 24. 6. 2011 lekníny nalezeny ve Štáhlavách v rybnících na severu obce, v Neslívském r. ani v lese mezi Uněticemi a Libákovcemi.

60 – Lanžhot, Stibůrkovská jezera

– kultivar

Husák zde 1995 uvádí druh *N. alba*. V S polovině mrtvého ramene se nyní (2011) nachází asi 4 shluky pravděpodobně vzniklé vegetativním růstem a kolem asi 11 dalších trsů. Květy jsou lehce narůžovělé.

Lokalita 61 – 69 na Třeboňsku byly navštíveny začátkem července 2011 podle záznamů Vydrové a Grulichy (2010), kteří zde určili leknín bílý. Z okolí Vřesné, Drahova a Kolenců jsou navíc udávány hybridní rostliny (Tomšovic 1988). Vesměs se jednalo o mělké kapří rybníky s vysokým obsahem živin a bahnitým dnem. Výjimkou byl 63 – Smíchov I; lekníny tu byly značně poškozeny mandelinkou *Galerucella nymphaeae*.

Na všech lokalitách se potvrdil primárně druh *N. alba*, na lokalitách 66, 67 (v jižní části) a 69 byli nalezeni hybridní jedinci. Koncem srpna byly tyto tři lokality navštíveny znovu a tentokrát byly odebrány vzorky z většího počtu jedinců. Navzdory tomu druhé měření nepotvrdilo výskyt hybridů na lokalitě 66 (36 vzorků rovnoměrně z celé plochy).

Některé rostliny mají poměrně dlouhé bliznové zuby.

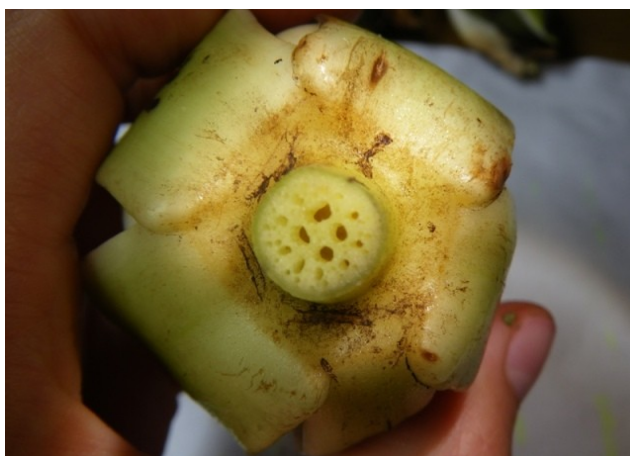


Obr. 92 – Rybník Fejmárek, lokalita č. 66 s výskytem hybridů.

70 – Seč, rybník v obci

– *N. alba*

Lekniny rostou při severním břehu rybníka a pro přístup je třeba použít soukromý vstup přes zahradu. Lekniny jsou tu velmi mohutné, tvoří jeden veliký trs a kolem několik menších. Listy rostou nad hladinu. Květy této populace mají ze spodního pohledu poněkud hranaté (čtverhranné nebo pětihranné) květní báze, což je možná příčinou dřívějšího určení jako *N. candida* (1967 Vacek, Vacek & Matějková 1995), které je rovněž uvedené na místní naučné ceduli.



Obr. 93 – Květní báze leknínu bílého z lokality 70.

71 – Stará Hut' u Blovic

– *N. alba*

Velký kachní rybník v obci, velmi rozsáhlý porost, značně vystupující nad hladinu. Kachny z lekninů ožírají hmyz.

72 – Břehyňský rybník

– kultivar

Při SZ břehu (na druhé straně porostů *N. candida*) roste 1 drobná vysazená rostlina s růžovými květy.

73 + 74 – Labe u Nymburka a Kostomlátek

– *N. candida*

Na P břehu Labe v porostech stulíku.

75 – Milotice, Písečný rybník

– *N. alba*

R. 1987 druh *N. alba* uvádí Grulich. Čistá voda s *Utricularia australis* a *Ceratophyllum demersum*. Několik rostlin bylo odsud patrně přesazeno na lokalitu Lanžhot – Kesle (nově vybagrovaný zemník napojený na soustavu kanálů J od obce; Šumberová 1999).



Obr. 94 – Písečný rybník u Milotic.

76 + 77 + 78 – Malý Spálený, Skalák u Senotína (2000 Boublík K.), Panoš u Nové Bystřice (2008 Vydrová A.)

– *N. candida*

Písčité či kamenité dno s vrstvou černého bahna. Okus bázlivcem leknínovým. Mnoho semenáčků. Laloky listů tvoří kormidlo.



Obr. 95 – Malý Spálený

Ve Velkém Troubném SV od Stálkova je slabě kvetoucí populace asi 20 jedinců, nesbíráno.

79 – Rybník Vyšehrad (1978 Hejný: *Nymphaea* sp.)

– **kultivar**

V JV cípu při hrázi se mezi stulíky nachází jeden vysazený trs leknínu velmi připomínajícího l. bílý. Není narůžovělý, květ je zcela bílý a ostatní části čistě zelené, blizna má nezvykle dlouhé zuby.

81 až 86 – lokality leknínu bělostného dle Vydrová & Grulich (2010): **Na Primárně** (mrtvé rameno lužnice v kravské ohradě), **Xerr**, **Jílovice**, **Dolní Machartův**, **Přesličkový rybník**, **Velký Hodonický** a **Tichá – rybníček** (obdélníková nádrž). Téměř všechny rostliny mají nápadně dlouhé bliznové zuby.

– *N. candida*



Obr. 96 – Lokalita Jílovice – polovypuštěný rybníček se šípatkou zarůstající olší.



Obr 97 – Velký Hodonický rybník. Výrazné požerky bázlivce leknínového na druhu *Nymphaea candida*.

87 – Trhová Kamenice, Velká Kamenice

– kultivar

N. alba uvádí v Trhové Kamenici bez bližšího určení místa: 1882, 1883 Hansgirk ap. Čelakovský, 1884 Částka ap. Čelakovský, 1889 Kalenský ap. Čelakovský, 1906 Šulc, 1887 Zitko, 1942 Hadač E. a J. a 1969 Vejdělková.



Obr. 98 – Velká Kamenice

88 – Labe u Mělic

– kultivar

Jediná růžovobílá rostlina při pravém břehu.

89 – Mrtvé labské rameno V Mělic (1972 Černošous, 1976 Slavík: *N. candida*)

– *N. candida*

Velmi malá nekvetoucí populace leknínu bělostného.

90 – Mělice, rybníček

– kultivar

Asi 15 trsů roztroušeně v mělkém rybníčku u silnice.

Lekniny nebyly ověřeny u Rybniště na Šluknovsku, kde se kdysi vyskytovaly i hybridy.

VELIKOST GENOMU

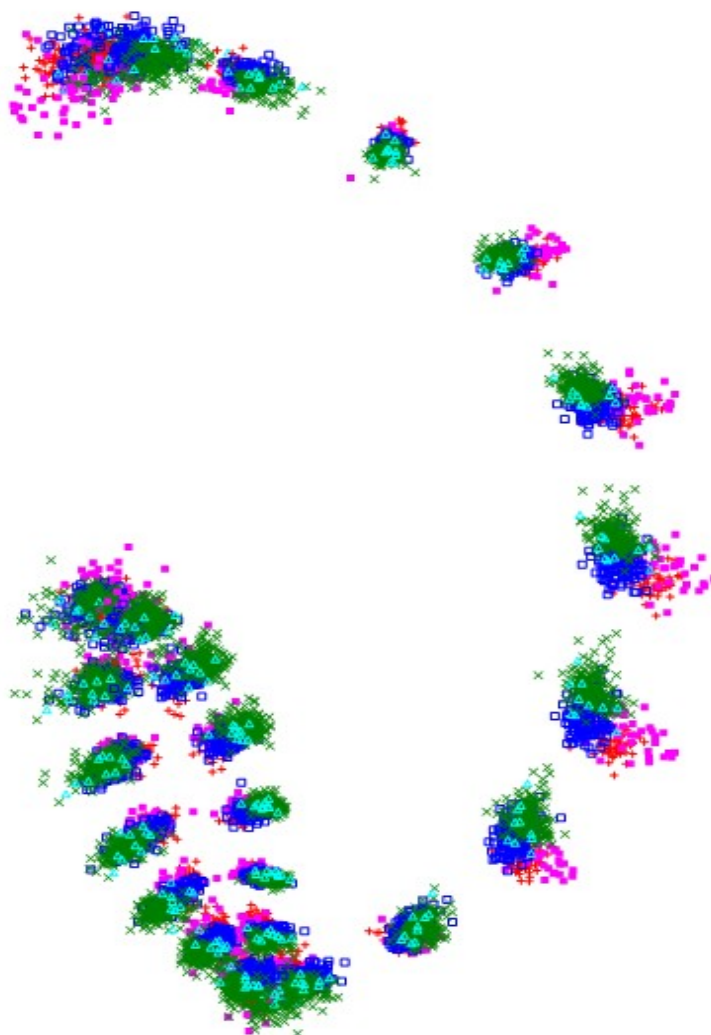
Tabulka 11 – Seznam 55 populací, 35 kultivarů ze sbírek Botanického ústavu AV ČR, v.v.i., Průhonice (šedivě, č. 22–56) a tří zahraničních sběrů. Uvedena je lokalita, průměrná hodnota naměřeného obsahu jaderné DNA se směrodatnou odchylkou, počet vzorků odebraných na cytometrii a určení na základě velikosti genomu. * značí smíšené lokality

číslo lokality / populace	oblast	prům. 2C	± SD	vzorků cytom.	určení taxonu
1	Labe u Velkého Oseka, P břeh	6,37	0,04	10	<i>N. candida</i>
2	Tonice - Bezedná u V. Oseka	4,50	0,02	3	<i>N. alba</i>
3	rybník u kempu u V. oseka	3,42	0,00	1	kultivar
4	Rakvice (JM), jezírko Kutnar	4,49	0,03	22	<i>N. alba</i>
5	Břeclav (JM), slepé rameno Bruksa	4,39	0,01	10	<i>N. alba</i>
6	pivovarský r. Brumov (JM)	3,29	0,01	10	kultivar
7	Kokořínsko, Kokořínská tůň	4,41	0,02	4	<i>N. alba</i>
8	Kokořínsko, Hlučovská tůň	4,41	0,01	13	<i>N. alba</i>
9	Vlašim, r. U Drůbežárny	3,37	0,01	10	kultivar
10	Novozámecký r.	6,50	0,01	11	<i>N. candida</i>
11	Swamp u Doks	6,49	0,08	11	<i>N. candida</i>
12	Horní Kracle u Rudy	6,59	0,07	11	<i>N. candida</i>
13	Obecní r. u Jarošova (JH)	6,49	0,07	10	<i>N. candida</i>
14	Pazouřák u Strmilova (JH)	6,44	0,06	11	<i>N. candida</i>
15	Mlékojedy, labské rameno	3,37	0,04	9	kultivar
16	Brandýs n. L., labské rameno	3,33	0,03	2	kultivar
17	Mosty (JH) návesní rybníček	3,32	0,00	1	kultivar
18	Nová Bystřice, r. Růže	6,48	0,00	1	<i>N. candida</i>
19	Nová Bystřice, Číměř, r. u silnice	3,35	0,02	10	kultivar
20	Vajgar (JH) - SZ břeh	3,30	0,00	1	kultivar
21	Vanůvek (Jihl.), návesní r.	3,38	0,04	3	kultivar
22	‘Rosennnyphe’	3,50	0,00	1	kultivar
23	‘Marliacea rosea’	3,40	0,00	1	kultivar
24	‘Fabiola’	3,40	0,00	1	kultivar
25	‘Attraction’	3,51	0,00	1	kultivar
26	‘Firecrest’	4,52	0,00	1	kultivar
27	‘Irene’?	2,66	0,00	1	kultivar
28	‘Norma Gedye’	2,69	0,00	1	kultivar
29	‘Perry’s magnificent’	2,81	0,00	1	kultivar

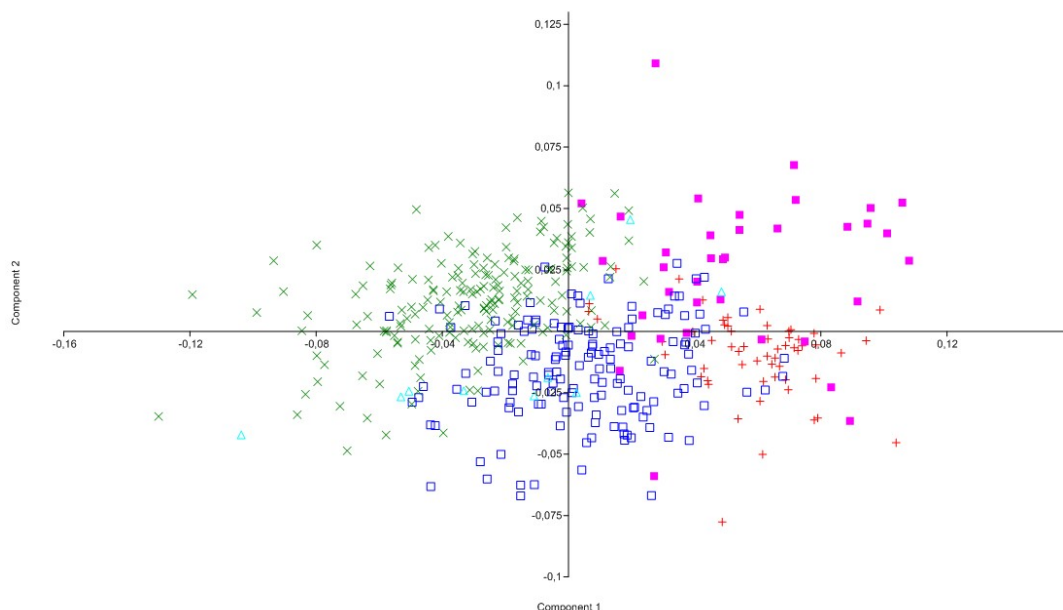
30	‘Ray Davies’	2,73	0,00	1	kultivar
31	‘American star’	2,68	0,00	1	kultivar
32	‘Heverwhite’	3,36	0,00	1	kultivar
33	‘Gloire de Temple-sur-Lot’	3,39	0,00	1	kultivar
34	‘alba’	3,35	0,00	1	kultivar
35	odorata var. pumila?	3,51	0,00	1	kultivar
36	‘Merliacea albida’	3,50	0,00	1	kultivar
37	‘Gladstone’?	3,51	0,00	1	kultivar
38	‘...selinberg’	3,49	0,00	1	kultivar
39	‘Souvenir de Fridolfing’	3,51	0,00	1	kultivar
40	‘Virginalis H94’	4,53	0,00	1	kultivar
41	‘Marliacea chromatella’	2,84	0,00	1	kultivar
42	‘Marliacea chromatella’	2,91	0,00	1	kultivar
43	‘Odorata sulphurea’	2,87	0,00	1	kultivar
44	‘Gold medal’	2,97	0,00	1	kultivar
45	‘Pink starlet’	2,98	0,00	1	kultivar
46	‘Texas Dawn’	2,94	0,00	1	kultivar
48	‘Attraction’	3,40	0,00	1	kultivar
49	‘Gloriosa’	3,38	0,00	1	kultivar
50	‘Perry’s Dwarf Red’	3,41	0,00	1	kultivar
51	‘Perry’s Red Star’	3,29	0,00	1	kultivar
52	‘Sirius’	3,58	0,00	1	kultivar
53	‘Perry’s Super Red’	4,06	0,00	1	kultivar
54	bez označení	2,16	0,00	1	kultivar
55	‘Yellow princess’	2,96	0,00	1	kultivar
56	‘MME Maurice Laydeker’	3,52	0,00	1	kultivar
57 *	Hradčany (Dokesko), Vavrouškův r.	6,49	0,08	19	<i>N. candida</i>
58	Hradčany (Dokesko), Strážovský r.	6,45	0,03	4	<i>N. candida</i>
59	Šťáhlavy (Plzeňsko), Lopatecký r.	3,36	0,01	3	kultivar
60	Lanžhot, Stibůrkovská jezera	3,41	0,02	11	kultivar
61	Drahov (JČ), Farářský r.	4,51	0,03	10	<i>N. alba</i>
62	Drahov (JČ), r. Přední Sax	4,49	0,01	15	<i>N. alba</i>
63	Drahoj (JČ), r. Smíchov I	4,51	0,02	10	<i>N. alba</i>
64	Drahov (JČ), r. Hluboký Sax - SV	4,49	0,03	11	<i>N. alba</i>
65	Drahov (JČ), r. Hluboký Sax - J	4,53	0,01	10	<i>N. alba</i>

66 *	Kardašova Řečice (JČ), r. Fejmárek (Frajmárek)	4,47	0,06	46	<i>N. alba</i>
67 *	Kardašova Řečice (JČ), r. Skopaný	4,48	0,03	37	<i>N. alba</i>
68	Kardašova Řečice (JČ), Prostř. Ohrazice	4,47	0,03	14	<i>N. alba</i>
69 *	Kolence (JČ), r. Pohořelec	4,48	0,02	56	<i>N. alba</i>
70	Seč (Plz.), Mlýnský r.	4,34	0,00	9	<i>N. alba</i>
71	Stará Huť (Plz.), Huťský r.	4,34	0,05	10	<i>N. alba</i>
72	Břehyňský r. (Dokesko)	-	-	1	kultivar
73	Nymburk: P břeh Labe	6,54	0,00	3	<i>N. candida</i>
74	Kostomlátky: P břeh Labe	6,56	0,03	10	<i>N. candida</i>
75	Písečný r. u Milotic	4,47	0,01	10	<i>N. alba</i>
76	Slavonice (JČ), M. Spálený r.	6,50	0,02	11	<i>N. candida</i>
77	Senotín (JČ), r. Skalák	6,52	0,04	10	<i>N. candida</i>
78	Nová Bystřice (JČ), r. Panoš	6,51	0,03	10	<i>N. candida</i>
79	Stříbřec (Třeboňsko), r. Vyšehrad	3,42	0,00	1	kultivar
80	Na Primárně (JČ), slepé rameno Lužnice	6,50	0,02	11	<i>N. candida</i>
81	Šalmanovice (JČ), r. Xerr	6,51	0,02	12	<i>N. candida</i>
82	Jílovice, JČ	6,52	0,01	5	<i>N. candida</i>
83	Trhové Sviny (JČ), D. Machartův r.	6,47	0,01	11	<i>N. candida</i>
84	Nové Hrady (JČ), Přesličkový r.	6,50	0,02	10	<i>N. candida</i>
85	Malonty (JČ), V. Hodonický r.	6,51	0,02	12	<i>N. candida</i>
86	Tichá (JČ) - rybníček	6,51	0,02	14	<i>N. candida</i>
87	Trhová Kamenice (JČ), Velká Kamenice	3,39	0,10	10	kultivar
88	Labe u Mělic, P břeh	3,48	0,00	1	kultivar
89	slepé ram. V Mělic	6,44	0,03	2	<i>N. candida</i>
90	Mělice, rybníček	3,48	0,04	5	kultivar
Šv.	Švédsko	4,45	0,00	1	<i>N. alba</i>
UK10	Skotsko	4,48	0,04	2	<i>N. alba</i>
UK11	Skotsko	4,46	0,05	2	<i>N. alba</i>

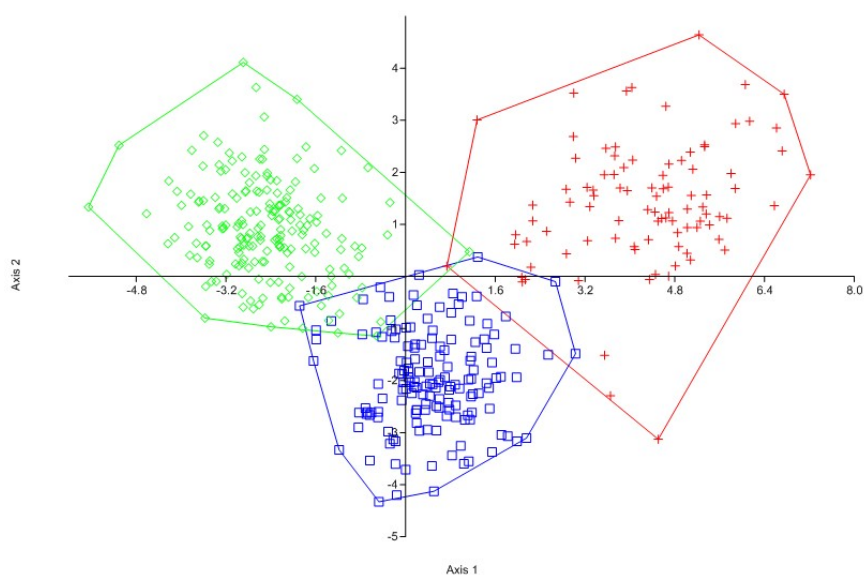
MORFOMETRIKA



Obrázek 20 – Pravá polovina listu. Překrytí 25 landmarků, popisujících obvod a tvar hlavní žilky v laloku, prokrustovskou metodou v programu PAST. Modrá, zelená a tyrkysová označují původní taxony a jejich hybridy, červená barva značí kultivary nasbírané převážně na přírodních stanovištích a růžově jsou prezentovány kultivary z botanické sbírky v Průhonicích, které byly i v PCA pro zajímavost barevně odlišeny. Modré čtverce – *N. alba*, zelené ležaté křížky – *N. candida*, tyrkysové trojúhelníky – hybridy, červené křížky a růžové plné čtverce – kultivary.



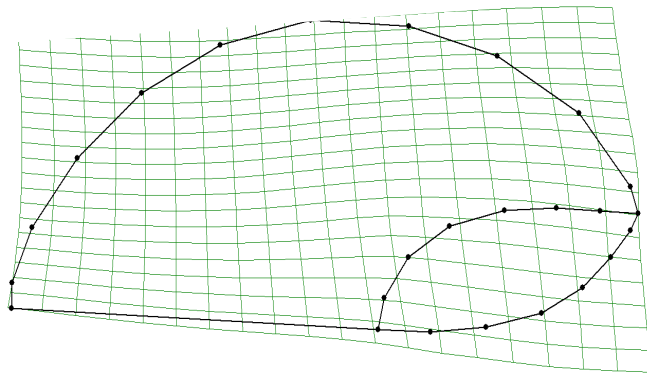
Obrázek 21 – Centrovaná PCA 25 významných bodů na listech. Modré čtverce – *N. alba*, zelené ležaté křížky – *N. candida*, tyrkysové trojúhelníky – hybridy, červené křížky a růžové plné čtverce – kultivary. První dvě osy vyjadřují 68,9 % celkové variability.



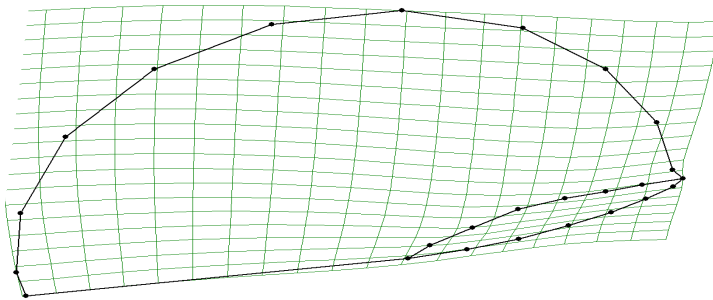
Obrázek 22 – Diskriminační analýza celkového tvaru listů, vyjádřeného pomocí landmarků. Modré čtverce – *N. alba*, zelené kosočtverce – *N. candida*, všechny kultivary již jednotně označeny červeně. První osa vyjadřuje 75,74 % variability, druhá 24,26 %.

Úspěšnost klasifikace analyzovaných jedinců na základě celkového tvaru listů (počet procent/ počet jedinců; 1 – kultivary, 2 – *N. alba*, 3 – *N. candida*)

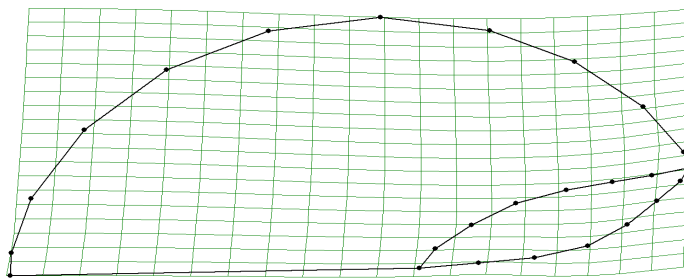
	1	2	3
1	93,6 /88	6,4/6	0
2	0,7/1	98/149	1,3/2
3	0	3,3/6	96,7/183



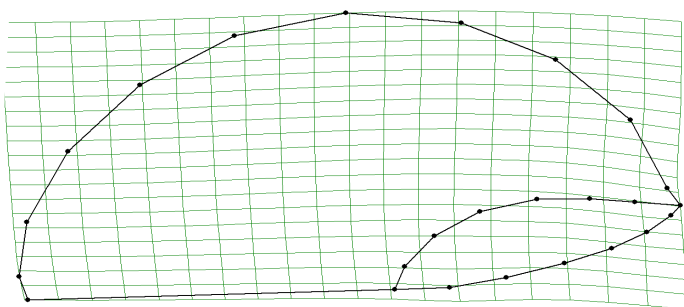
1-



1+

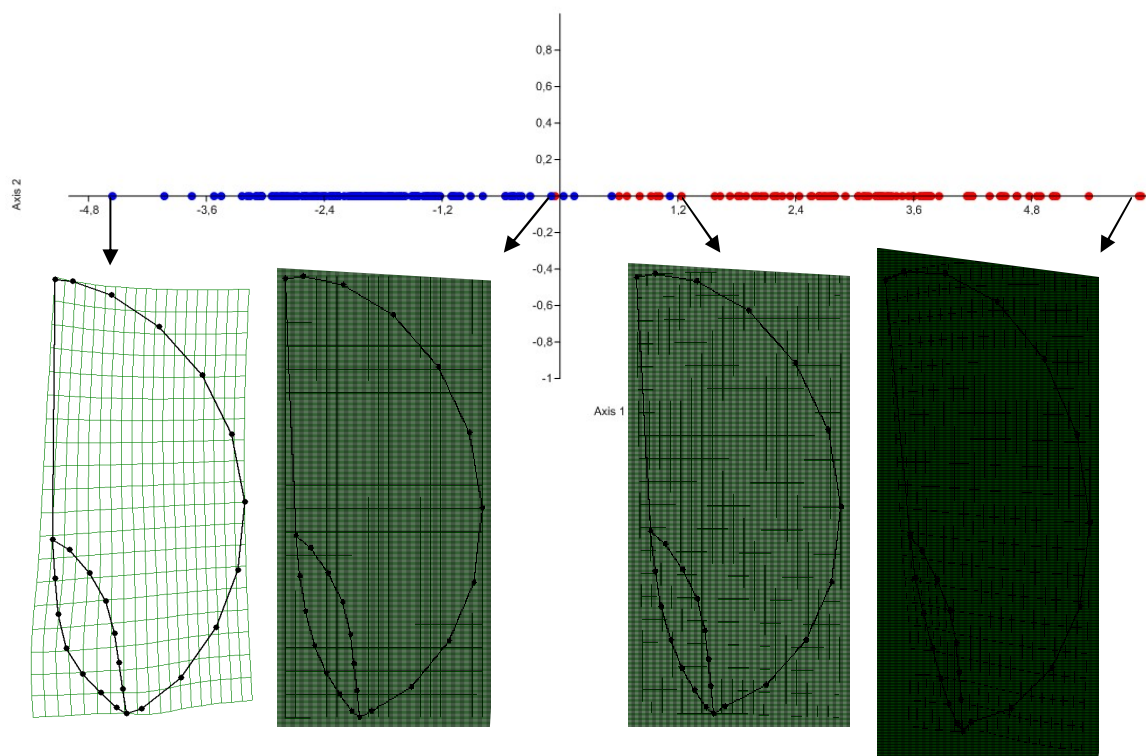


2-



2+

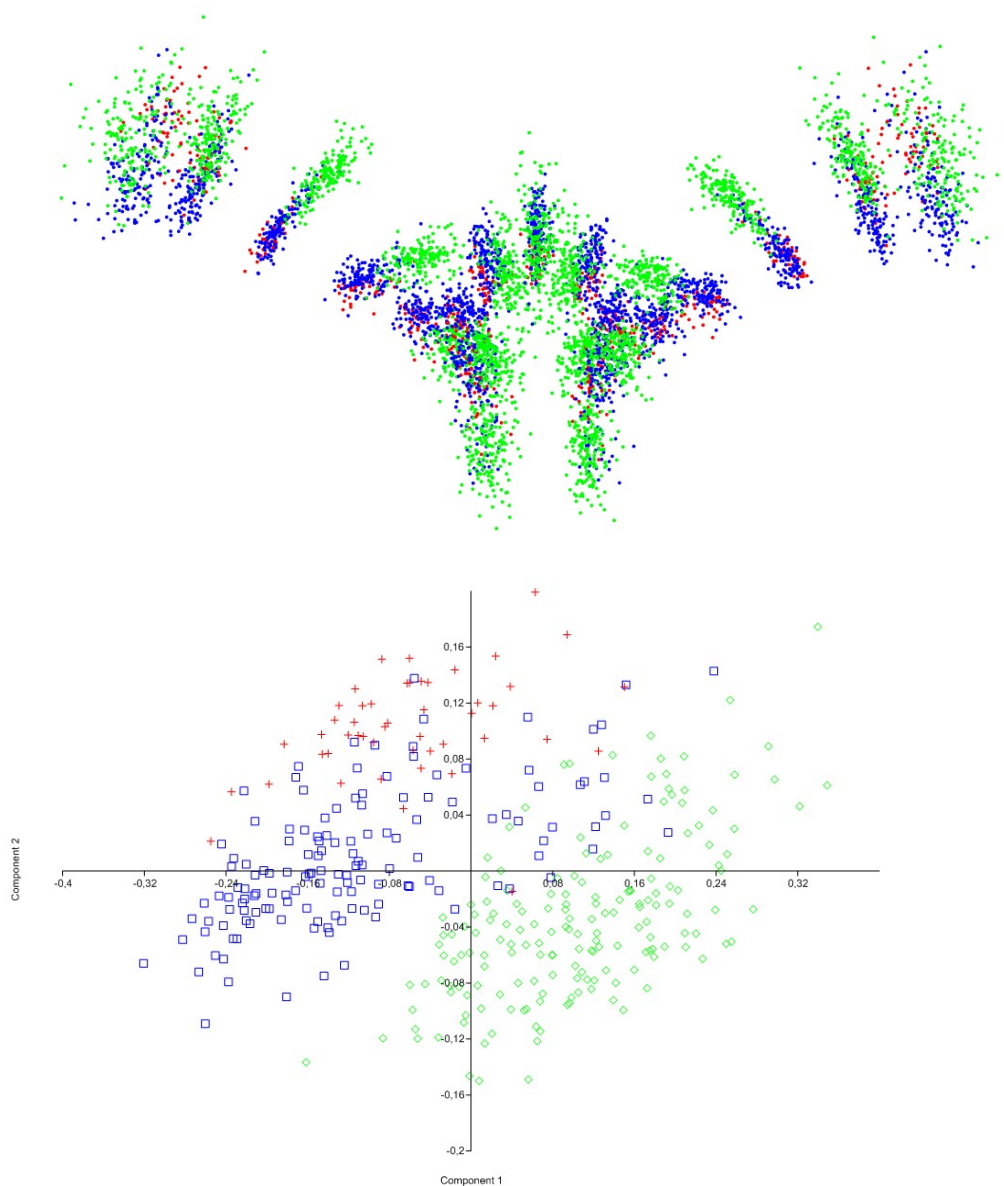
Obrázek 23 – tvarová variabilita listů příslušející ke kanonickými osám



Obrázek 24 – Kanonická diskriminační analýza tvaru listů *N. alba* (modrá) a kultivarů (červená). 97,4 % listů *N. alba* (148 ze 152) a 92,6 % listů kultivarů (87 z 94) se nachází v uvedeném morfologickém rozpětí.

Tab. 12 – Procentuální úspěšnost klasifikace kultivarů a l. bílého na základě celkového tvaru listů (1 – kultivary, 2 – *N. alba*):

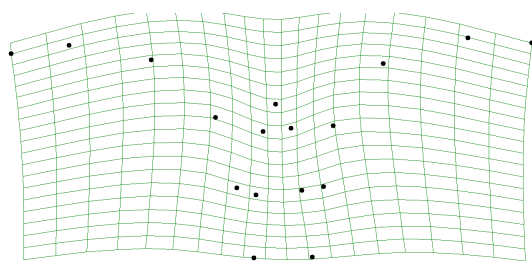
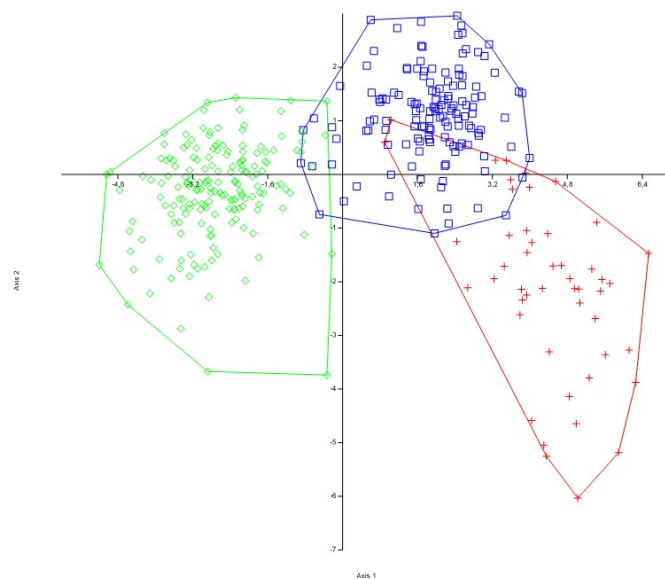
0	1	2
1	92,6	0,4
2	0,6	97,4



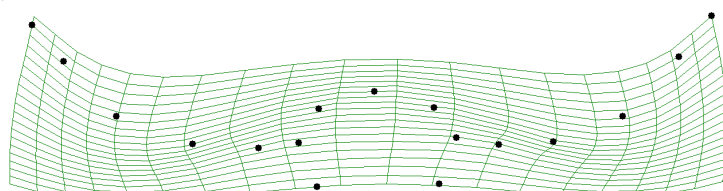
Obr. 30 – Tvarová variabilita blizny bez zahrnutí hybridů. Nahoře: Překrytí bodů názorněji popisuje rozdíly skupin. Dole: PCA, vyobrazeno 80,2% variability. Modré čtverce – *N. alba*, zelené kosočtverce – *N. candida*, červené křížky – kultivary.

Tab. 14 – Procentuální úspěšnost klasifikace analyzovaných jedinců na základě tvaru blizny (1 – kultivary, 2 – *N. alba*, 3 – *N. candida*)

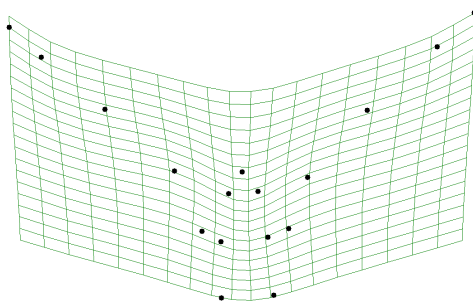
0	1	2	3
1	89,6	10,4	0
2	1,5	95	3,5
3	0	1,1	98,9



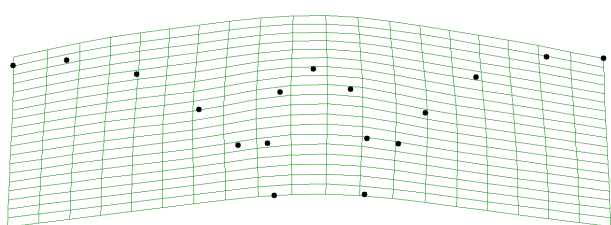
[1-] (*N. candida*)



[1+] (cultivary)

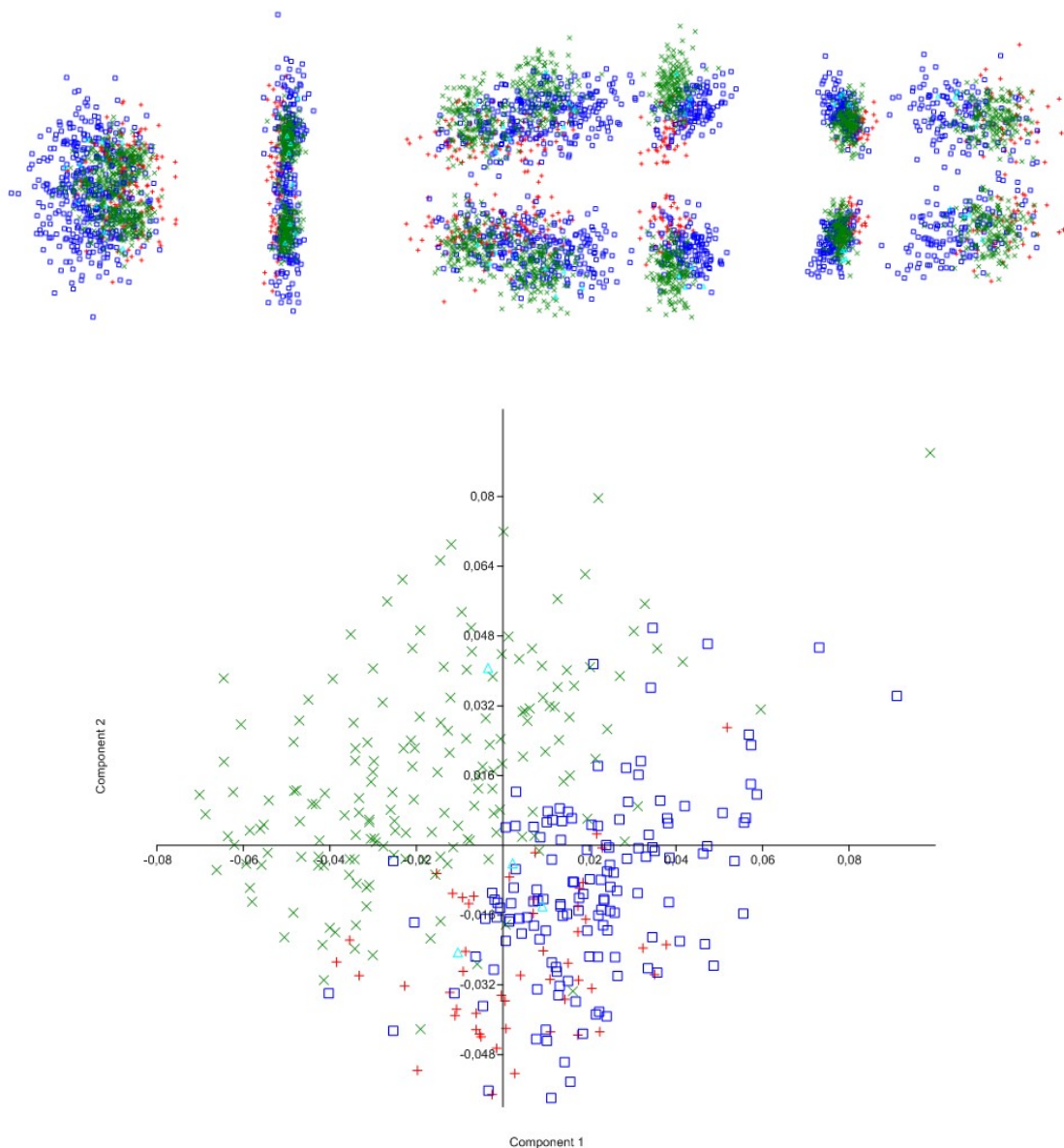


[2-] (cultivary)

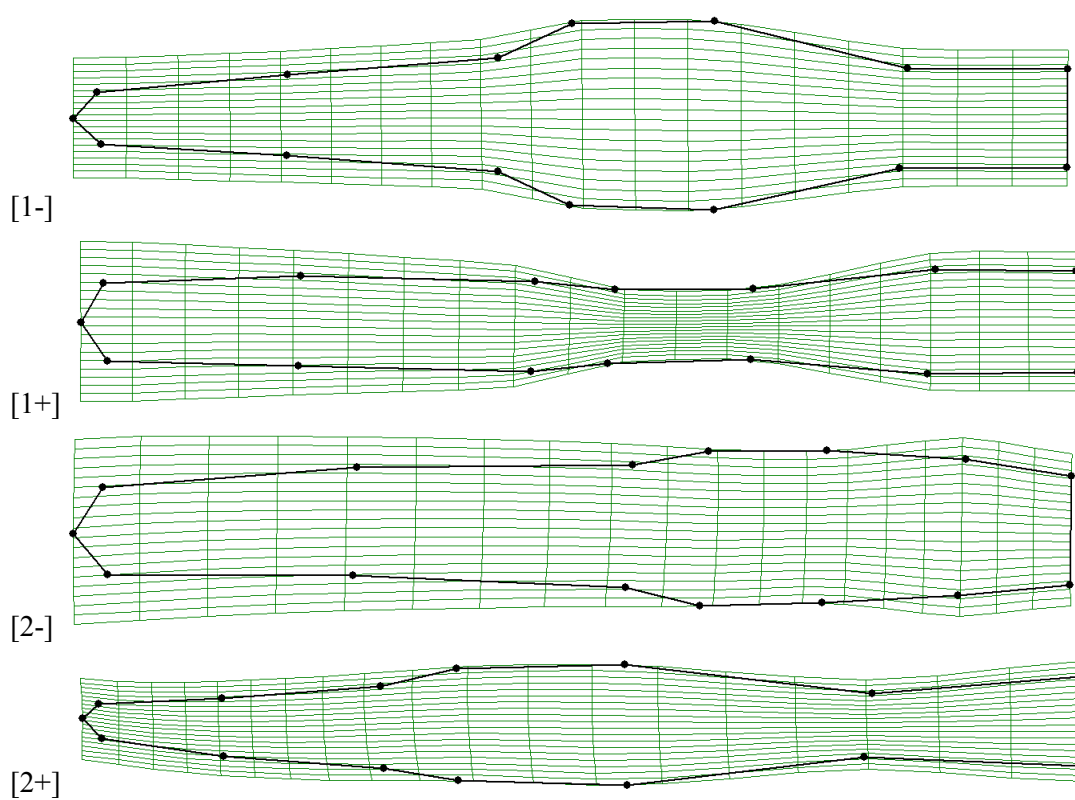
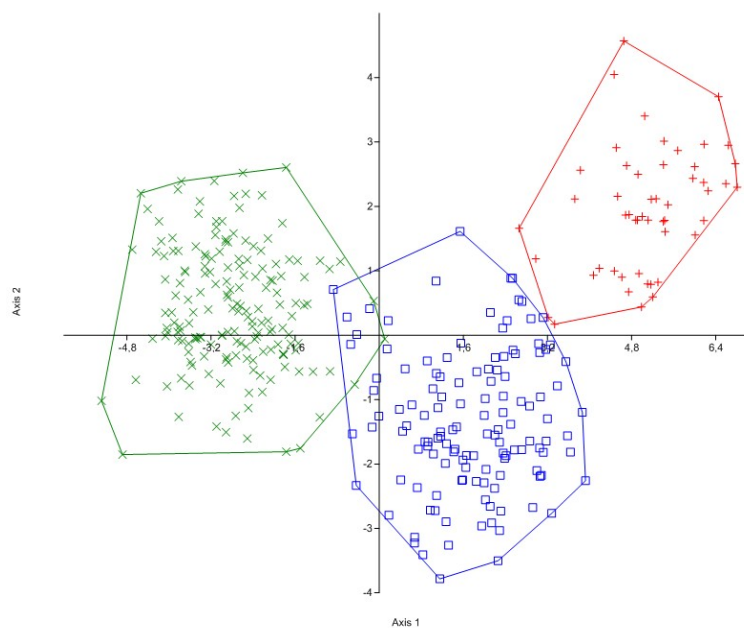


[2+] (*N. alba*)

Obr. 31 – CDA tvaru blizny s příslušnými tvarovými rozdíly, náležejícími ke koncům kanonických os (zelené kosočtverce – *N. candida*, modré čtverce – *N. alba*, červené křížky – kultivary).



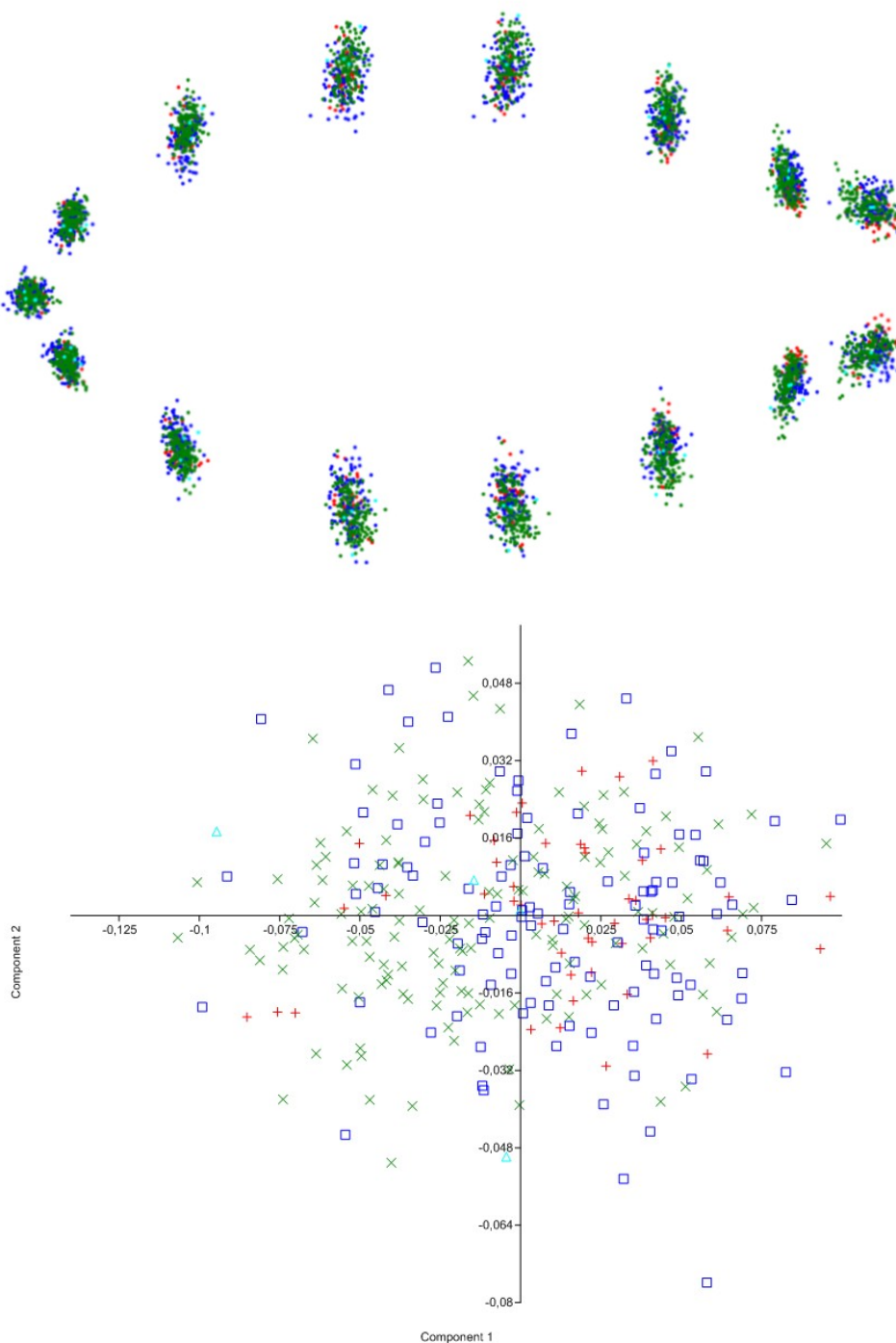
Obr. 32 – Prokrustovské překrytí 15 bodů (vlevo prašník, vpravo báze) a PCA tvaru tyčinek. Zobrazeno 50,7 % variability. Modré čtverce – *N. alba*, zelená x – *N. candida*, tyrkysové trojúhelníky – hybridy, červené křížky – kultivary. První dvě osy vyjadřují 68,9 % celkové variability.



Obr. 33 – CVA tvaru tyčinek a zobrazení jeho variability podle kanonických os. Modré čtverce – *N. alba*, zelená x – *N. candida*, červené křížky – kultivary.

Tab. 15 – Úspěšnost klasifikace analyzovaných jedinců na základě tvaru tyčinek (počet procent/počet jedinců; 1 – kultivary, 2 – *N. alba*, 3 – *N. candida*)

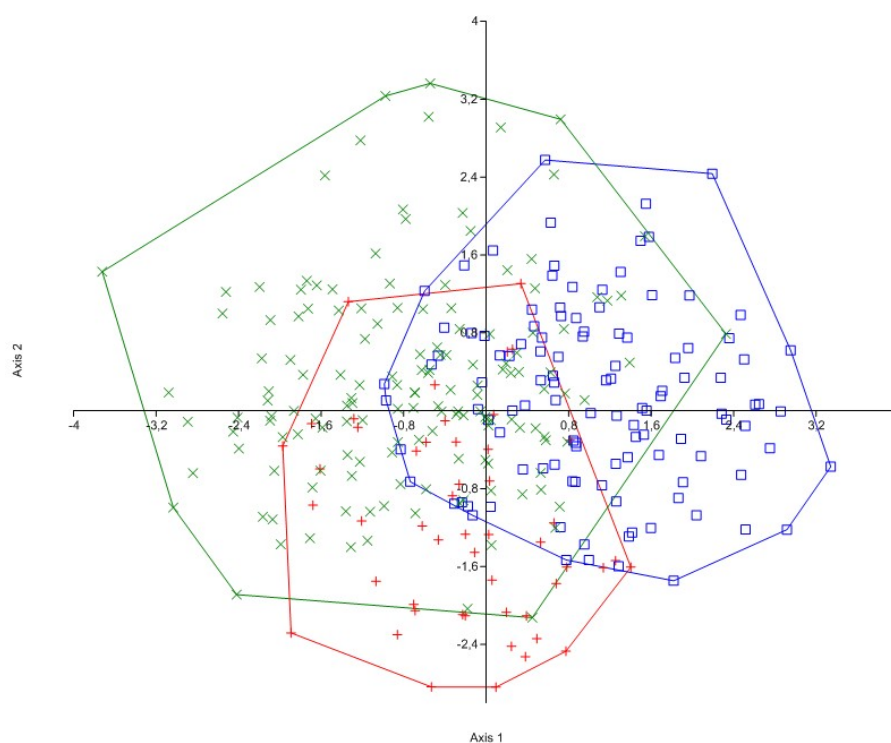
0	1	2	3
1	96,1/49	3,9/2	0
2	2,3/3	93,1/121	4,6/6
3	0	1,1/2	98,9/172



Obr. 35 – Překrytí význačných bodů na korunních lístcích a analýza hlavních komponent téhož, zobrazující 73,7 % variability (zelená x – *N. candida*, tyrkysové trojúhelníky – hybridy, modré čtverce – *N. alba*, červené křížky – kultivary).

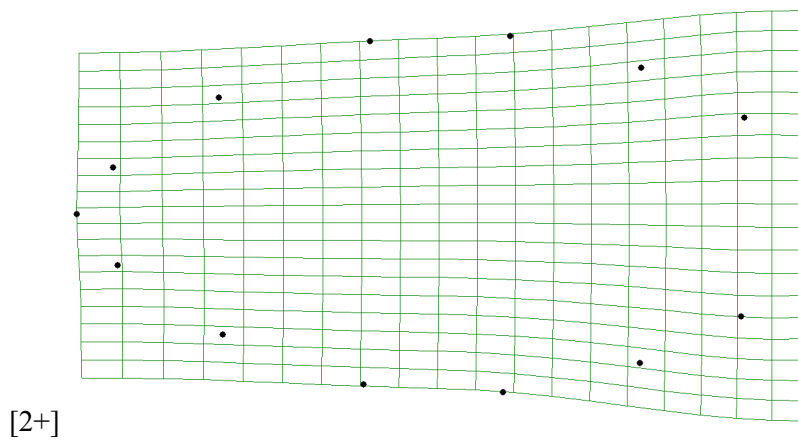
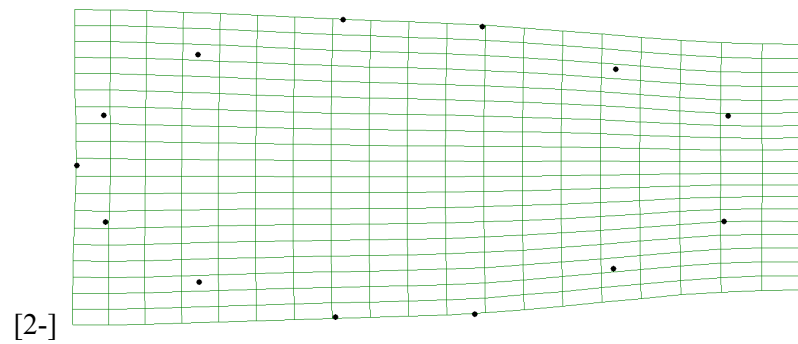
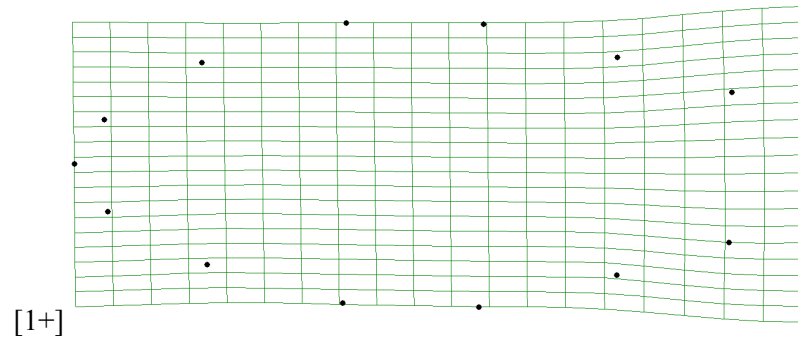
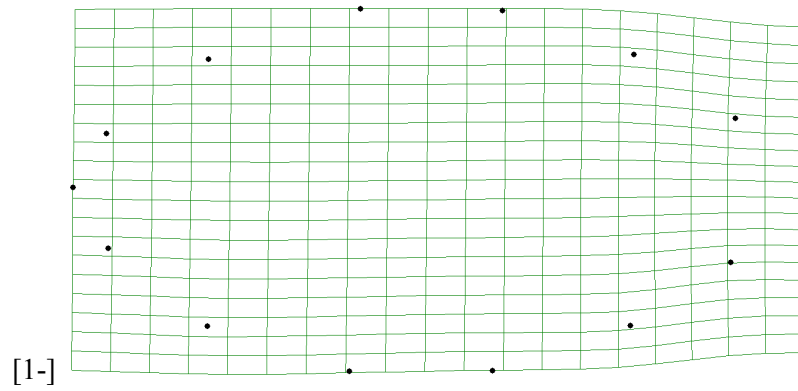
Tab. 16 – Procentuální úspěšnost klasifikace analyzovaných jedinců na základě tvaru korunních plátků; 1 – kultivary, 2 – *N. alba*, 3 – *N. candida*):

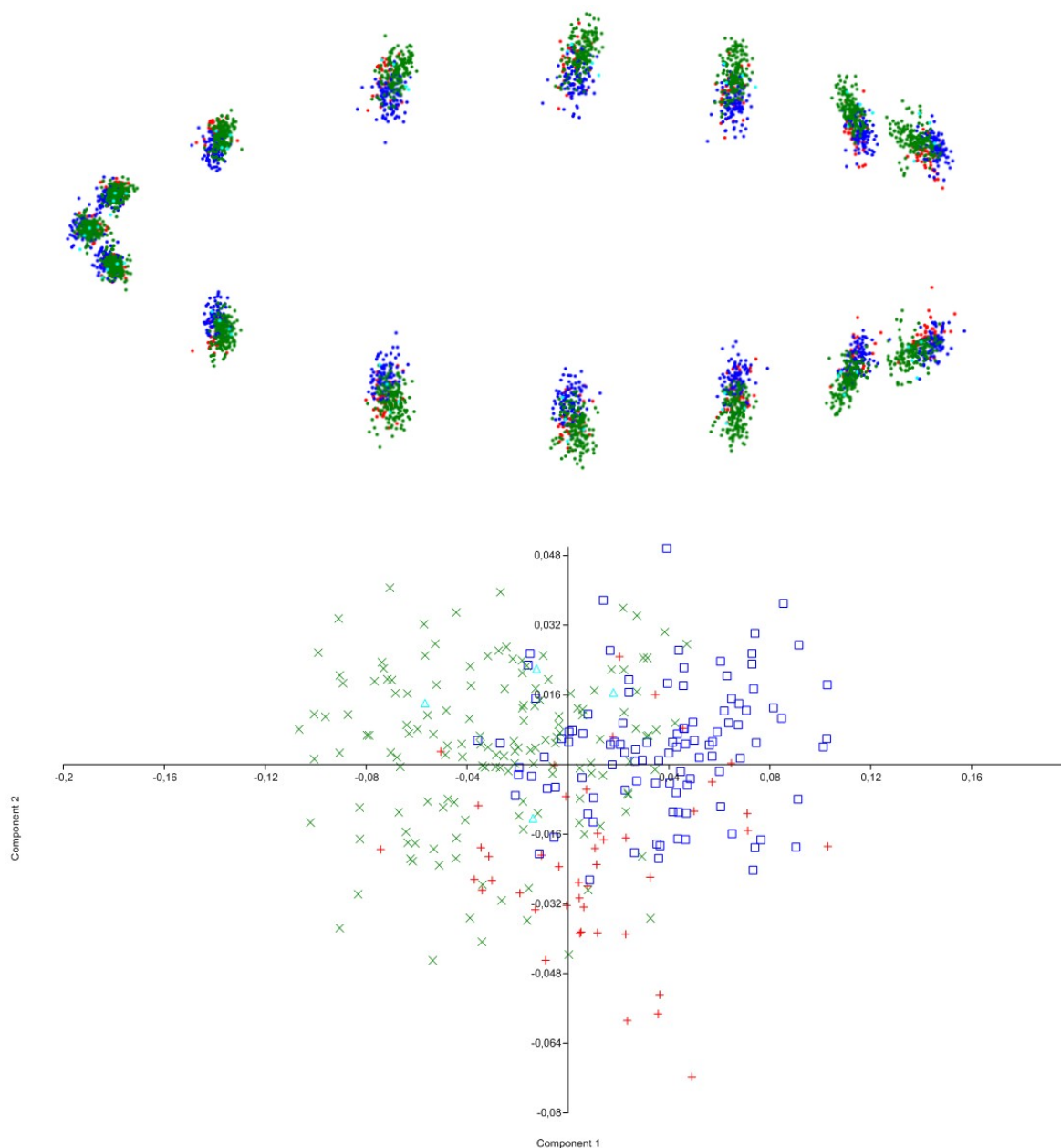
0	1	2	3
1	68/36	8/3	24/11
2	11,4/18	75,4/79	13,2/19
3	17,9/28	17,2/25	64,9/98



Obr. 36 – Nahoře: CVA tvaru 315 korunních plátků bez hybridů a dvou vyřazených nahnilých. (Zelená x – *N. candida*, modré čtverce – *N. alba*, červené křížky – kultivary).

Na další straně: Variabilita tvaru korunních plátků podle kanonických os.

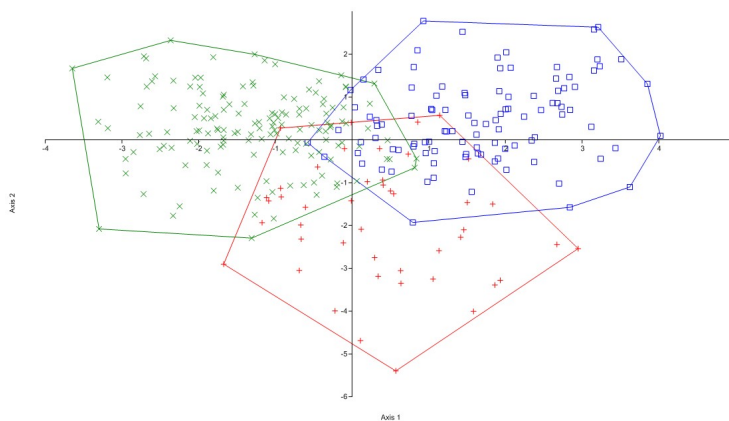




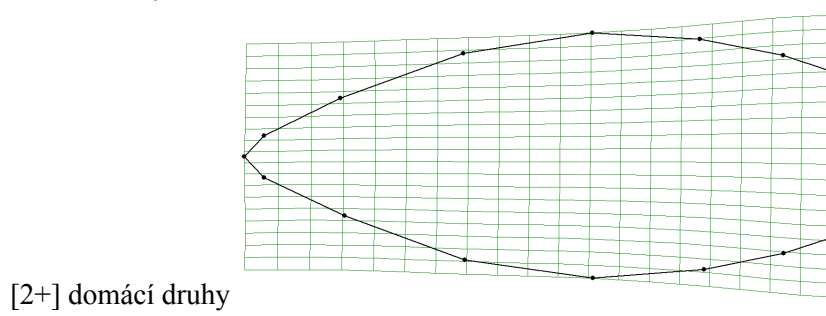
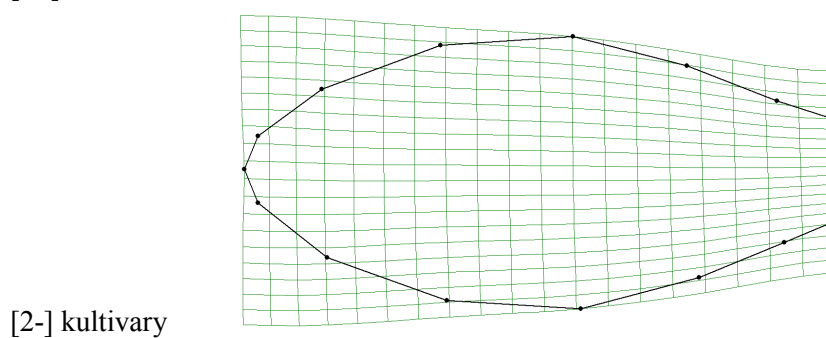
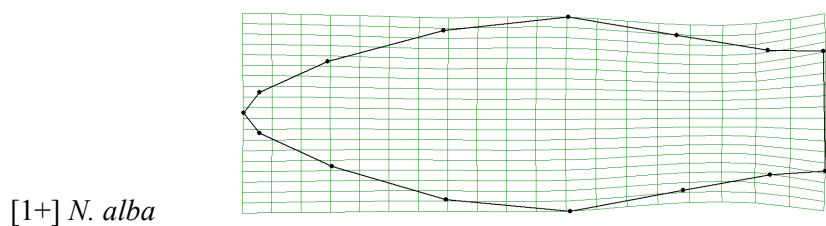
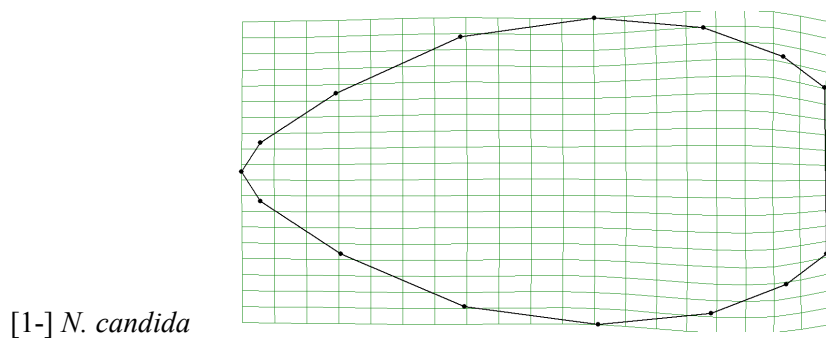
Obr. 37 – Překrytí a PCA tvaru kališních lístků. První dvě osy zobrazují 77,8 % variability. (Zelená x – *N. candida*, tyrkysové trojúhelníky – hybridy, modré čtverce – *N. alba*, červené křížky – kultivary).

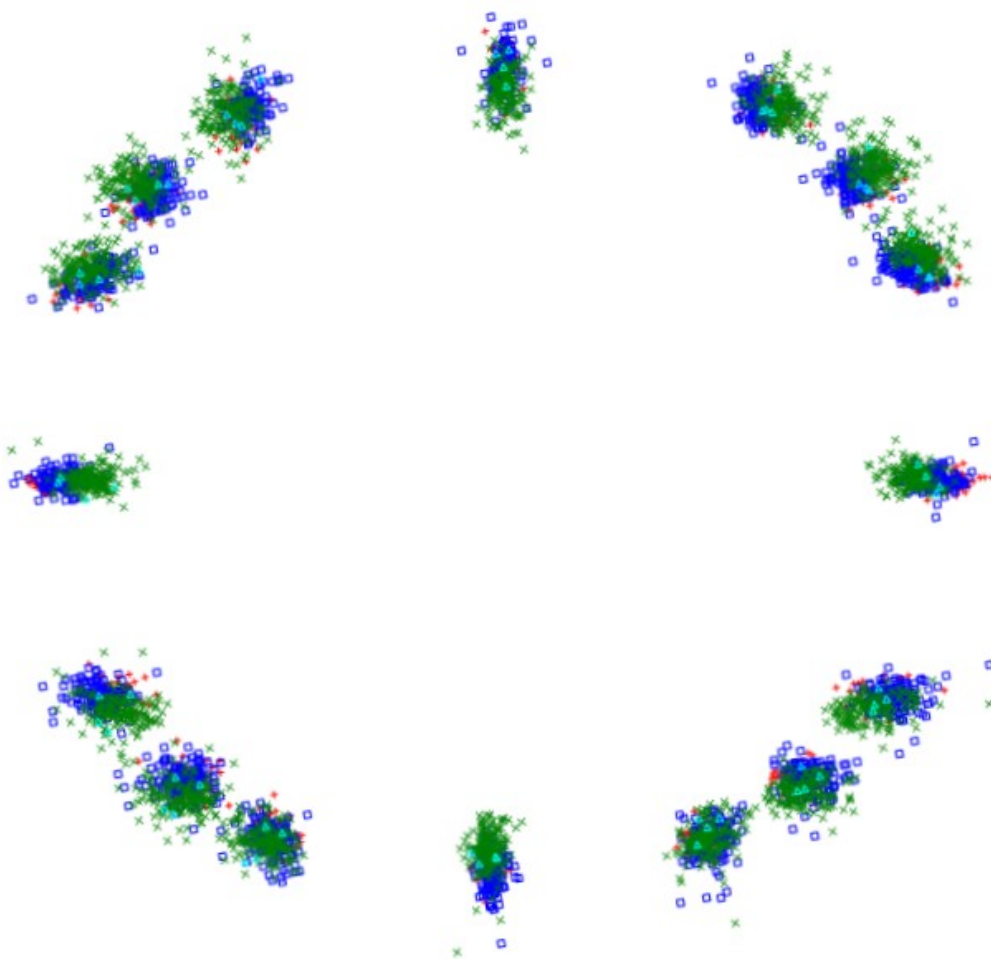
Tab. 17 – Úspěšnost klasifikace analyzovaných jedinců na základě tvaru kališních lístků (%/počet jedinců; 1 – kultivary, 2 – *N. alba*, 3 – *N. candida*)

0	1	2	3
1	77,8/35	11,1/5	11,1/5
2	6,7/7	86,6/90	6,7/7
3	8,8/13	3,4/5	87,9/139



Obr. 38 – Nechoře: CDA tvaru kališních lístků (zelená x – *N. candida*, modré čtverce – *N. alba*, červené křížky – kultivary). Na další straně: rozsh tvarové variability vajířené diskriminačními osami.

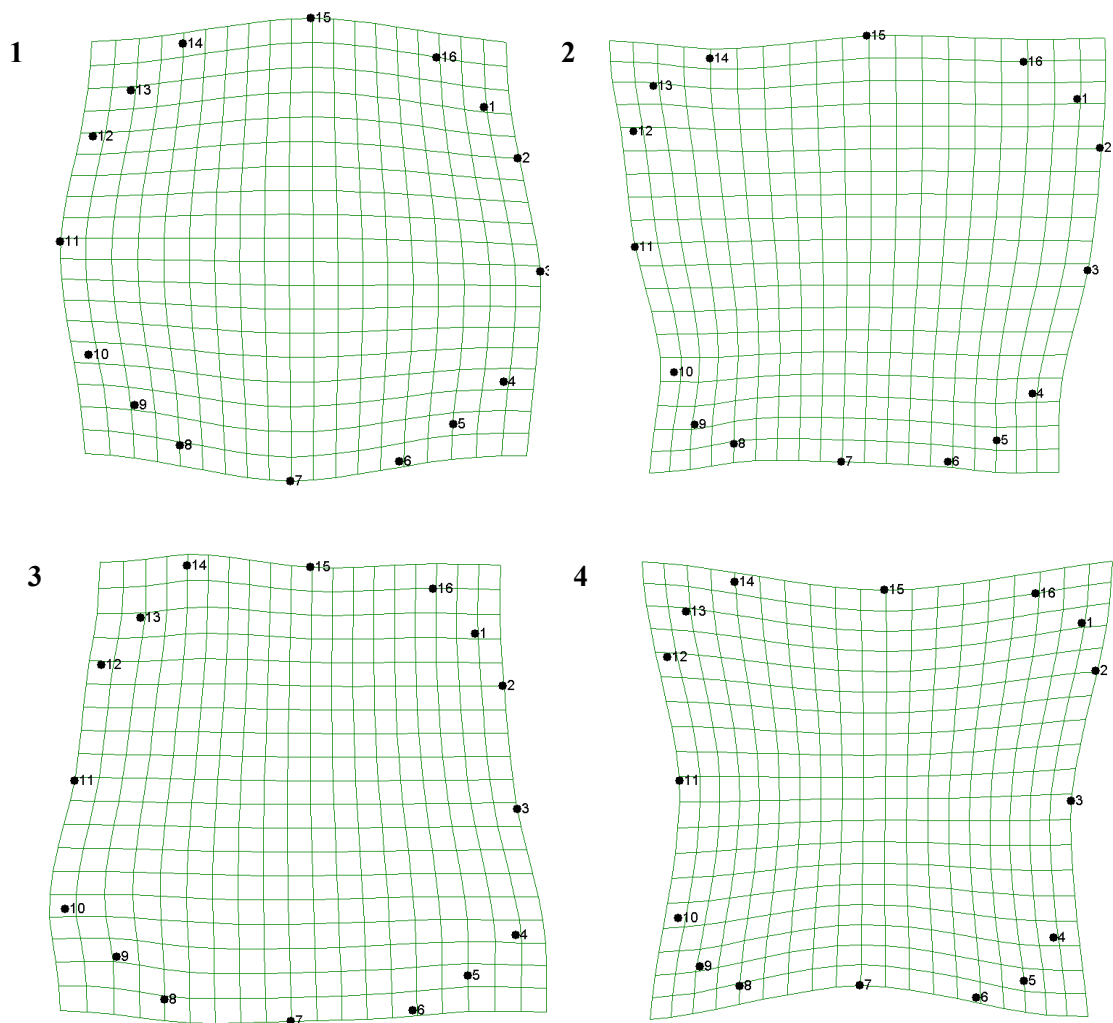
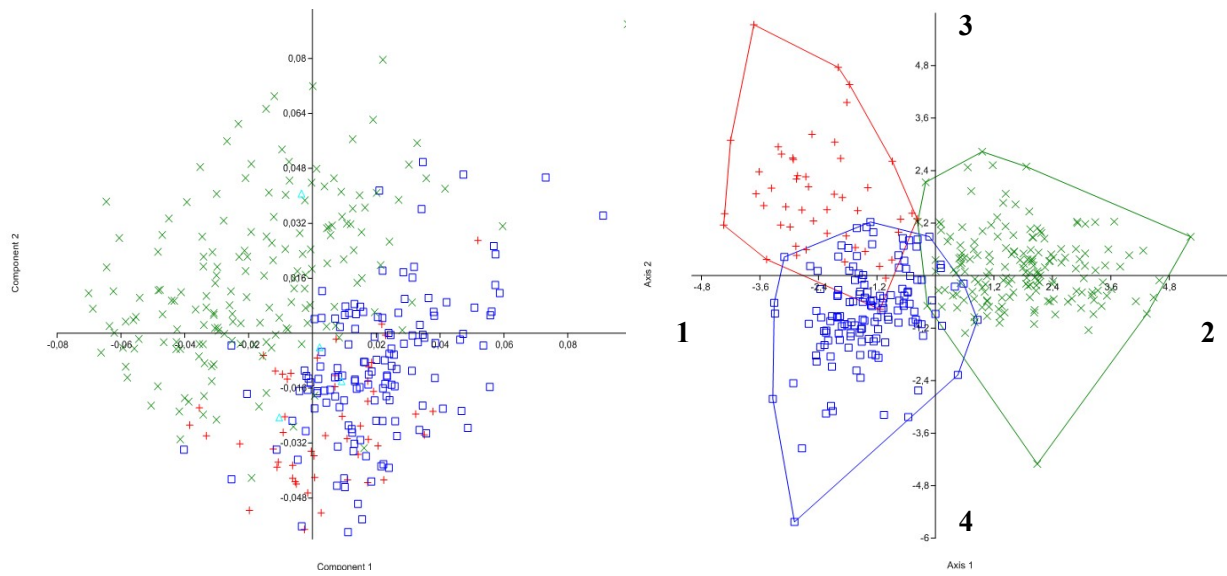




Obr. 39 - Grafické překrytí bází; zelená – *N. candida*, modrá – *N. alba*, červená – kultivary, tyrkysová – hybridy.

Tab. 18 – Úspěšnost klasifikace analyzovaných jedinců na základě tvaru květní báze (% / počet jedinců; 1 – kultivary, 2 – *N. alba*, 3 – *N. candida*)

0	1	2	3
1	78/39	22/11	0
2	8,6/12	84,9/118	6,4/9
3	4,1/7	9,9/17	86/148



Obr. 40 – PCA a CVA tvaru květní báze. PCA zobrazuje 50,7 % variability, CVA 100 %. (Zelená – *N. candida*, modrá – *N. alba*, červená – kultivary, tyrkysová – hybridy)

KLASICKÁ MORFOMETRIKA

Tab. 7 – Všechny znaky hodnocené na listech (tučná čísla odpovídají mírám znázorněným v metodice).

znak	Zkratka
Délka žebra [cm] (1)	L1
Délka listu [cm] (1+2)	L2
Šířka listu [cm] (2 × 3)	L3
Vzdálenost nejširšího místa od vrcholu [cm] (4)	L4
Úhel mezi laloky (2 × 5)	L5
Max. vzdálenost žilky od úhlu laloku [cm] (6)	L6
Max. vzdálenost hrany laloku od úhlu laloku [cm] (7)	L7
Šířka laloku [cm] (6+7)	L8
Délka zářezu [cm] (2)	L9
Poměr D/Š listu	L10
Poměr délky žebra a zářezu	L11
Poměr délky žebra a celkové délky listu	L12
Poměr nejširšího místa a délky listu	L13
Poměr nejširšího místa a žebra	L14
Poměr znaků 7/6 v laloku	L15
Poměr šířky laloku a délky zářezu	L16
Poměr vzdálenosti nejširšího místa a šířky laloku	L17
Poměr 7/2	L18
Poměr 6/2	L19
Ostrost špiček laloků (1–5)	L20
Oblost vrcholu listu (1–5)	L21
Červenost listu (0–1,5)	L22

Tab. 8 – Kódování kvalitativních znaků pozorovaných na pestících.

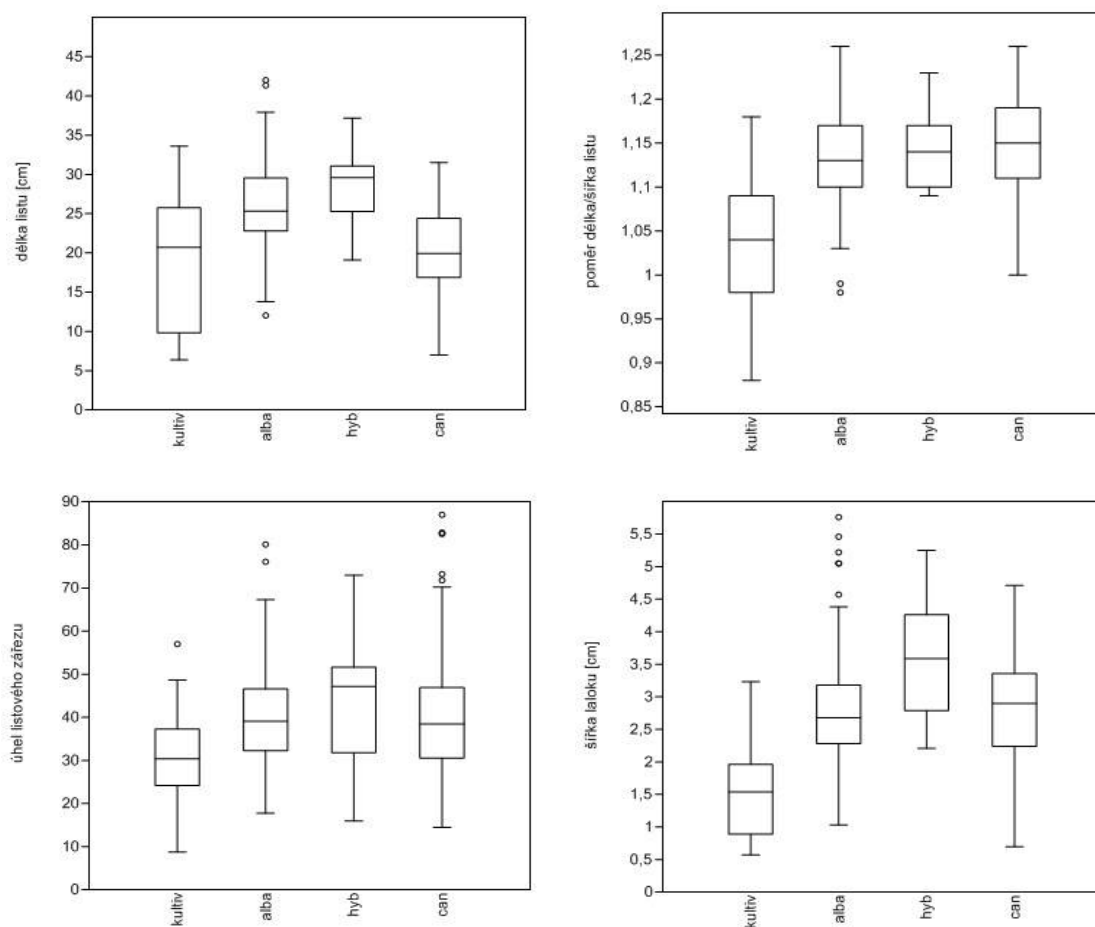
Fáze kvetení	1	prašníky zavřené, zuby otevřené, vajíčka malá, bílá.
	1,5	prašníky zavřené, zuby zavřené.
	2	přítomen pyl, zuby zavřené, vajíčka malá, bílá.
	3	pyl už není přítomen, zuby zavřené, některá vajíčka růžová.
	4	vyvíjí se semena, semeník zvenčí zelená.
Barva blizny	1	žlutá
	2	načervenalá
	3	červená

Barva bliznových zubů	1	světle žlutá
	2	tmavě žlutá
	3	oranžová
	4	načervenalá
	5	červená

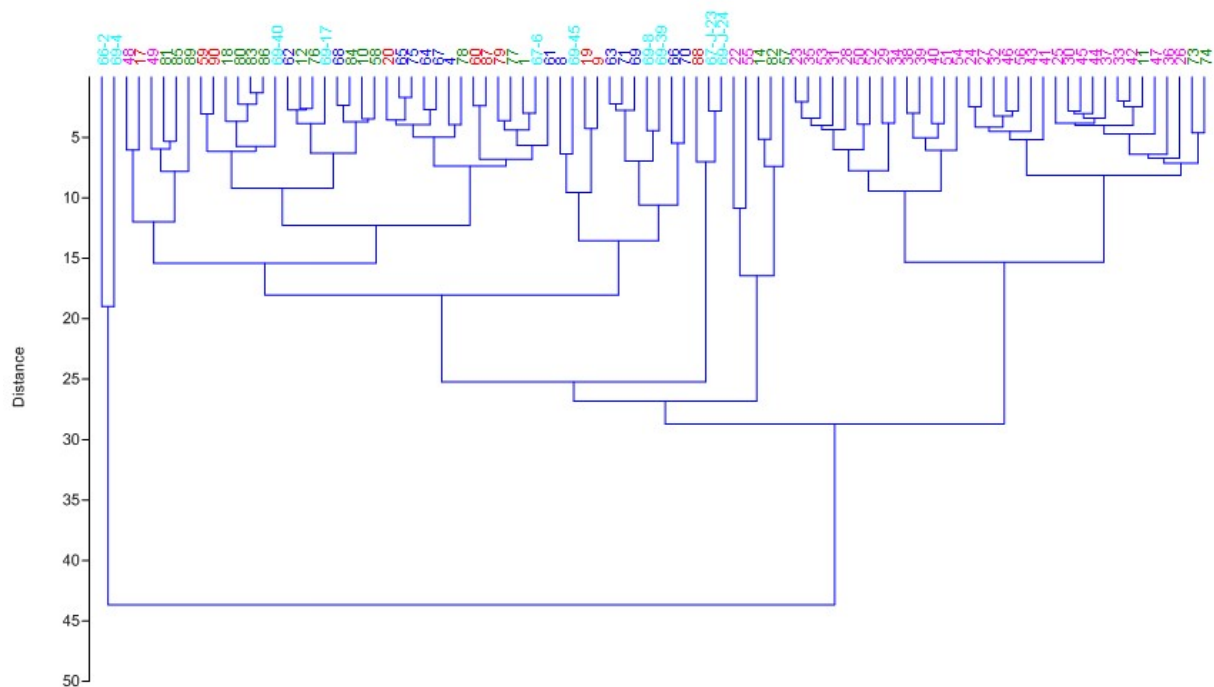
Tab. 9 – všechny hodnocené znaky na květech.

počet plodolistů	K1
barva blizny	K2
barva zubů	K3
mezera na semeníku	K4
úhel prašníku	K5
barva petalů	K6
barva sepalů	K7
žilky sepalů	K8
počet sepalů	K9
kanálky v řapíku	K10
šířka semeníku [cm]	K11
výška pestíku [cm]	K12
výška semeníku [cm]	K13
šířka blizny [cm]	K14
š/v semeníku	K15
š/v gyneccea	K16
šířka blizny/semeníku	K17
šířka výčnělku [cm]	K18
tvár výčnělku	K19
šířka výčnělku/blizny	K20
výška výčnělku [cm]	K21
v/š výčnělku	K22
výška blizny [cm]	K23
v výčnělku/ v blizny	K24
š/v blizny	K25
v semeníku/ v blizny	K26
délka petalů [cm]	K27
šířka petalů [cm]	K28
nejširší petal od báze [cm]	K29
poměr d/š petalů	K30
nejširší petal ku délce	K31
délka sepalu [cm]	K32
šířka sepalu [cm]	K33
sepal nejširší od báze [cm]	K34
d/š sepalu	K35
sepal nejširší ku délce [cm]	K36
šířka báze v cm [cm]	K37
šířka báze/délka sepalu	K38
š báze/sepalu	K39
d sepalu/ petalu	K40
výška nejširšího místa tyčinky	K41
poměr d/š nitky	K42
d nitky/ prašníku	K43

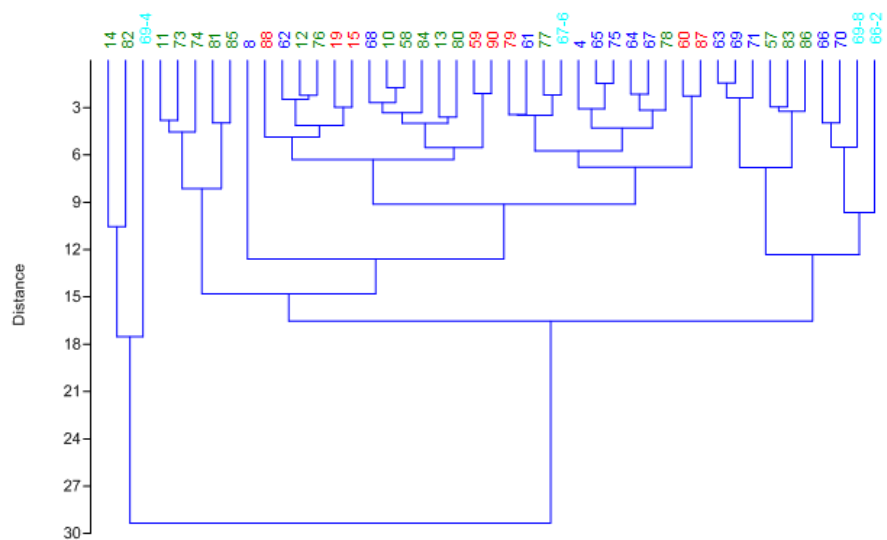
LISTY



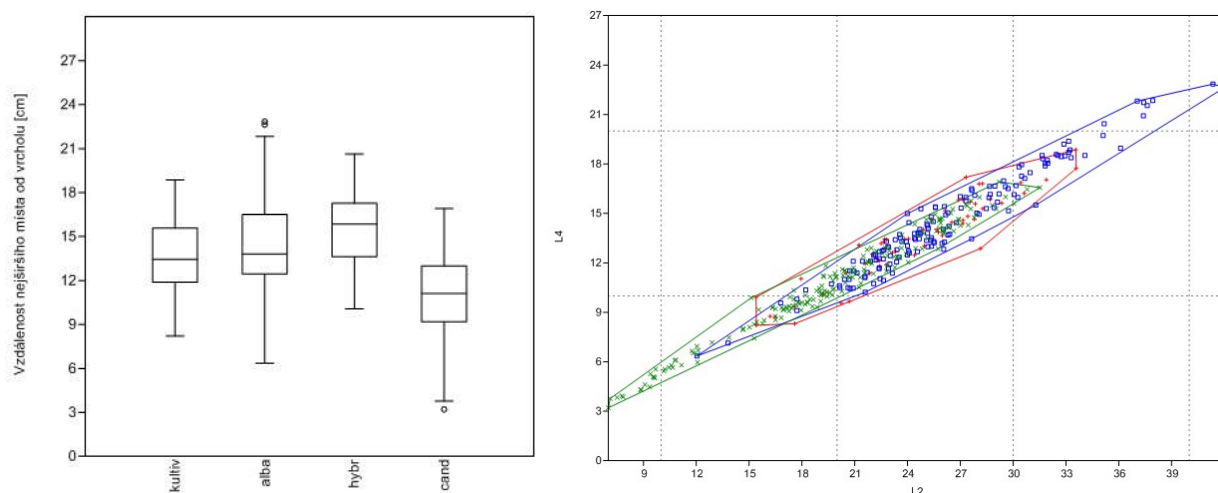
Obr. 41 – Rozsahy naměřených hodnot základních znaků na listech u 4 skupin. Délka listu, a její poměr se šířkou jsou nejnižší u kultivarů. Úhel laloku nejví téměř rozdíl mezi skupinami. Nový znak šířka laloku je orpoti tomu poměrně variabilní.



Obr. 43 – Shluková analýza (UPGMA) podle všech vegetativních znaků populací (modře *N. alba*, zeleně *N. candida*), hybridních jedinců (tyrkysově), zástupců jednotlivých kultivarů ze sbírky (růžově) a nalezených populací kultivarů (červeně).

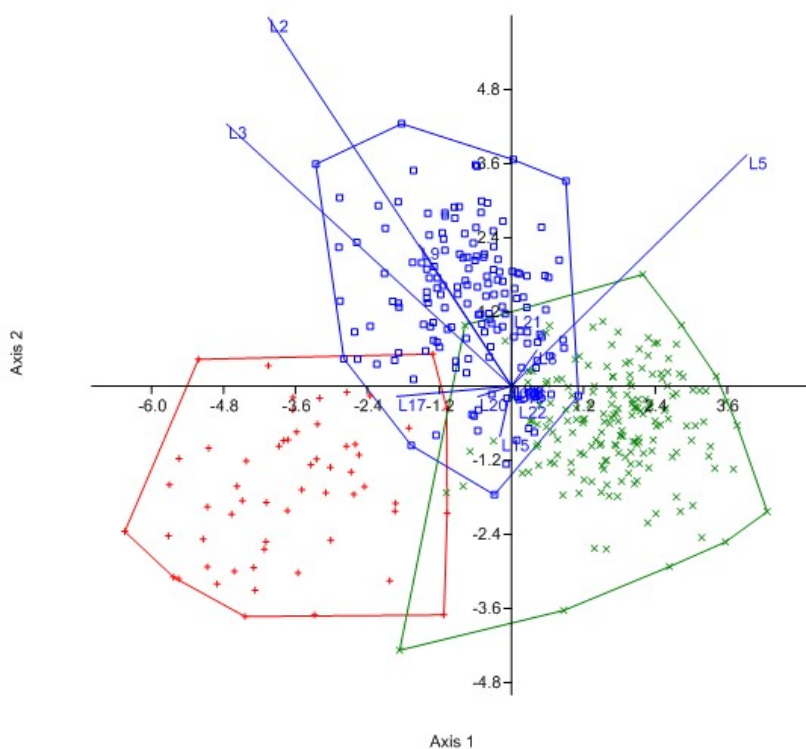


Obr. 44 – Shluková analýza (UPGMA) populací (modře *N. alba*, zeleně *N. candida*), hybridních jedinců (tyrkysově) a kultivarů (červeně). Rostliny z kultury nejsou zahrnuty.



Obr. 45 – Vzdálenost nejširšího místa čepele od vrcholu je nejkratší u *N. candida*, vidíme však, že silně koreluje s celkovou délkou čepele (0,98).

Obr 46 – Diskriminační analýza 395 listů a 18 znaků . Zobrazeno 100% variability. Červené křížky – kultivary, modré čtverce – *N. alba*, zelená x – *N. candida*.



Tab. 19 – Úspěšnost klasifikace analyzovaných jedinců na základě 18 znaků listů

	0	1	2	3
0				
1		96,5	3,5	0,0
2		1,3	92,1	6,6
3		1,1	4,3	94,7

(1 – kultivary, 2 – *N. alba*, 3 – *N. candida*)

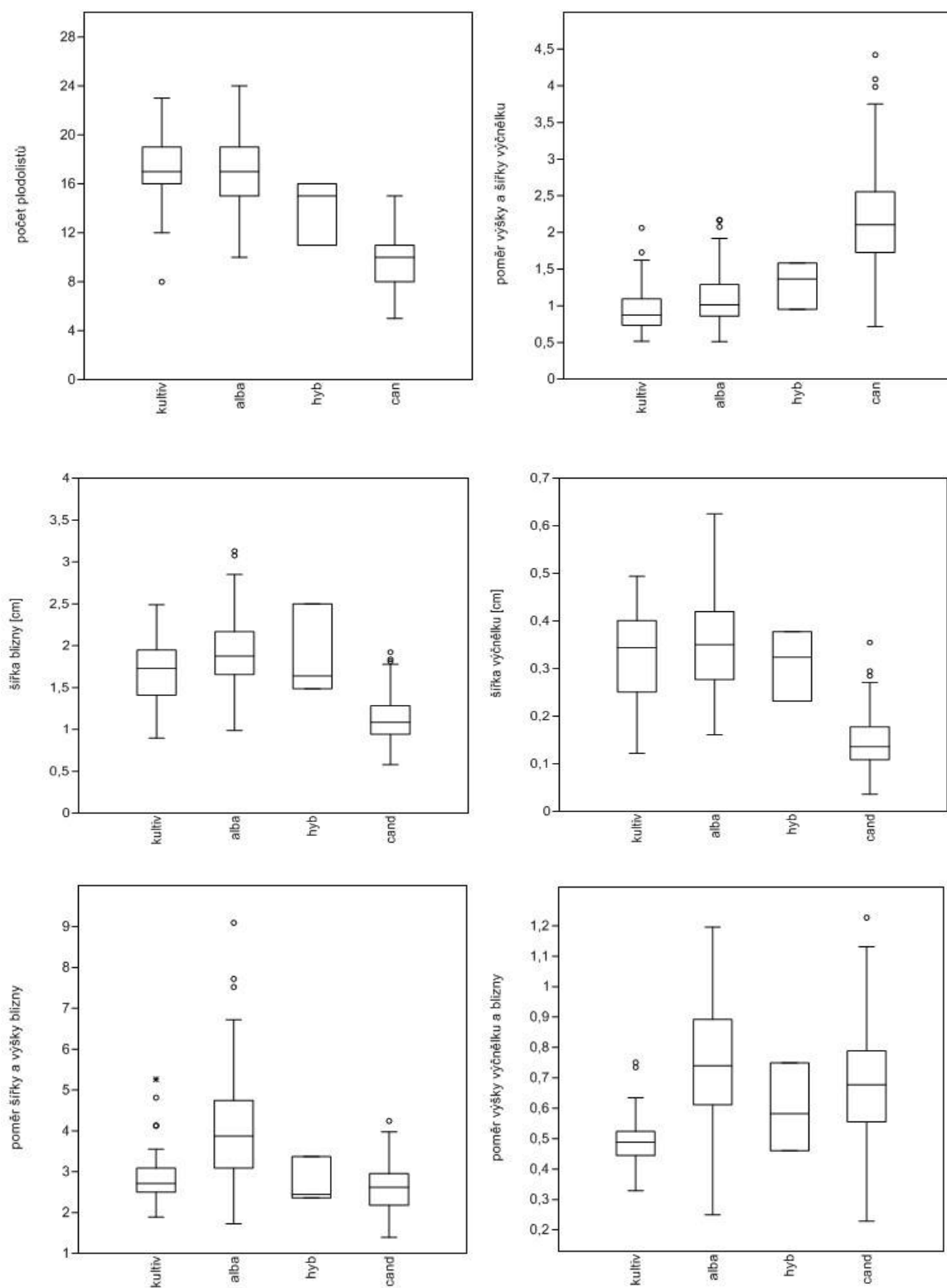
Takulka 20 – Celková kanonická struktura přínosu 18 vegetativních znaků k oddělení všech 3 skupin. Nejvýznamnější znaky jsou označeny.

Znak	Zkratka	Can1	Can2
D listu	L2	0,049314	-0,62621
Š listu	L3	-0,07138	-0,56375
Úhel mezi laloky	L5	0,338805	-0,15548
Š laloku	L8	0,566081	-0,33963
D zářezu	L9	0,052578	-0,60364
D/Š listu	L10	0,669759	-0,26713
D žebra/zářezu	L11	0,08912	-0,29333
D žebra/listu	L12	0,109118	-0,30319
D nejširšího místa/listu	L13	-0,13689	-0,1016
D nejširšího místa/žebra	L14	-0,24233	0,151151
7/6 v laloku	L15	-0,23874	0,454548
Š laloku/D zářezu	L16	0,680786	0,195873
D nejširšího místa/Š laloku	L17	-0,83654	-0,10491
7/2	L18	0,595042	-0,11616
6/2	L19	0,624938	0,417012
Špičatost laloků	L20	-0,49175	0,057892
Oblost vrcholu čepele	L21	0,182762	-0,53592
Červenost čepele	L22	0,121035	0,346252

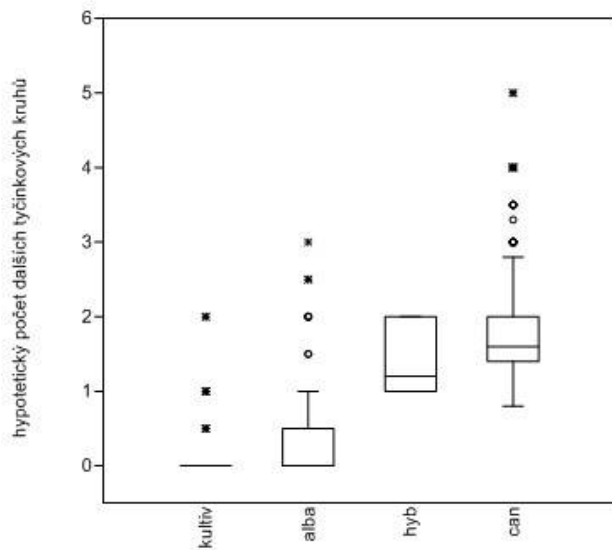
Tab. 21 – Úspěšnost klasifikace analyzovaných jedinců na základě 5 vybraných znaků (1 – kultivary, 2 – *N. alba*, 3 – *N. candida*): 84,6%

0	1	2	3
1	82,5	10,5	8
2	8	82,7	9,3
3	2,7	8,6	88,6

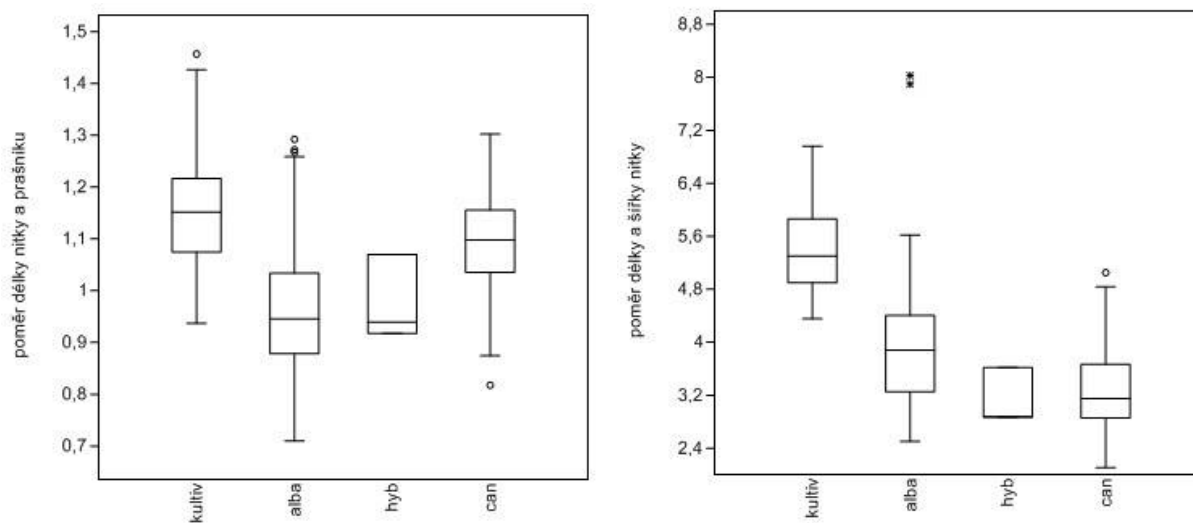
KVĚTY



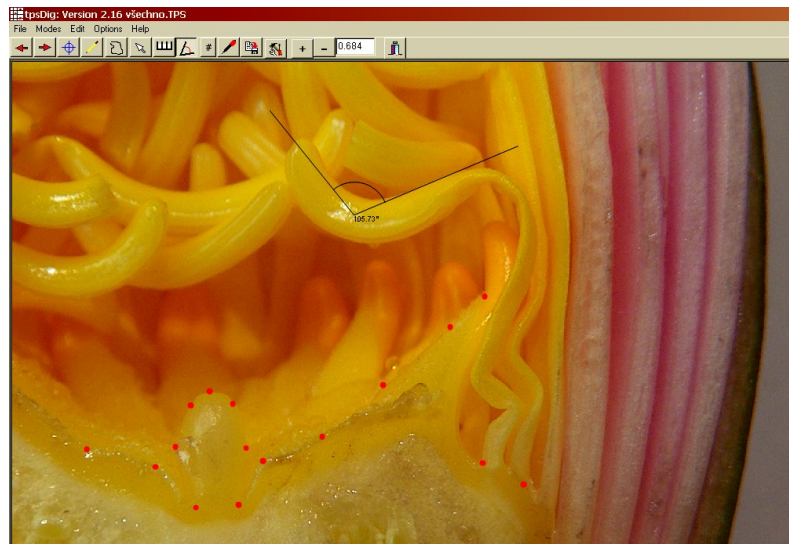
Obr 48 – Významné znaky na pestíku. Počet plodolistů, poměr výšky a šířky výčnělku, šířka blizny a výčnělku a další poměry.



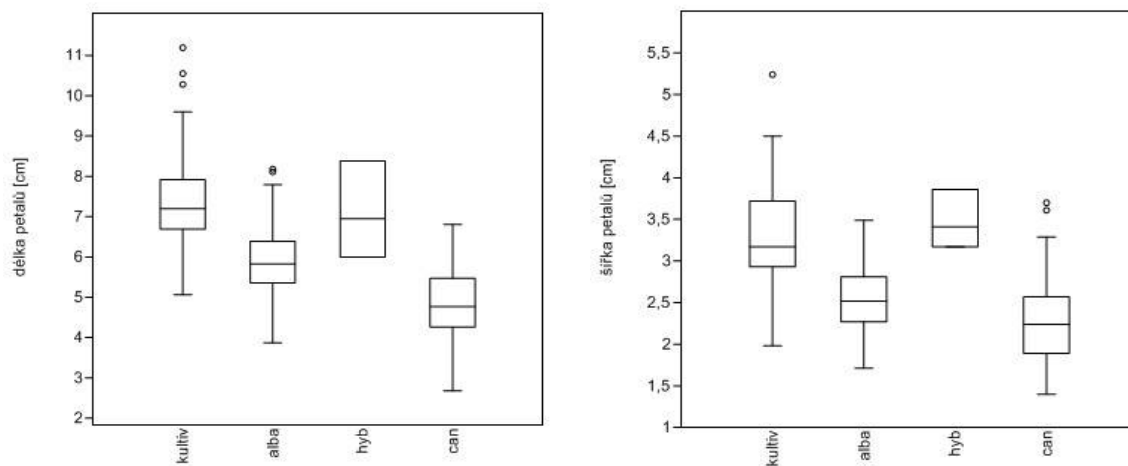
Obr. 49 – Absence tyčinek na vrchní části semeníku, kvantifikovaná jako počet dalších tyčinkových kruhů, které by se vešly na semeník pod bliznou.



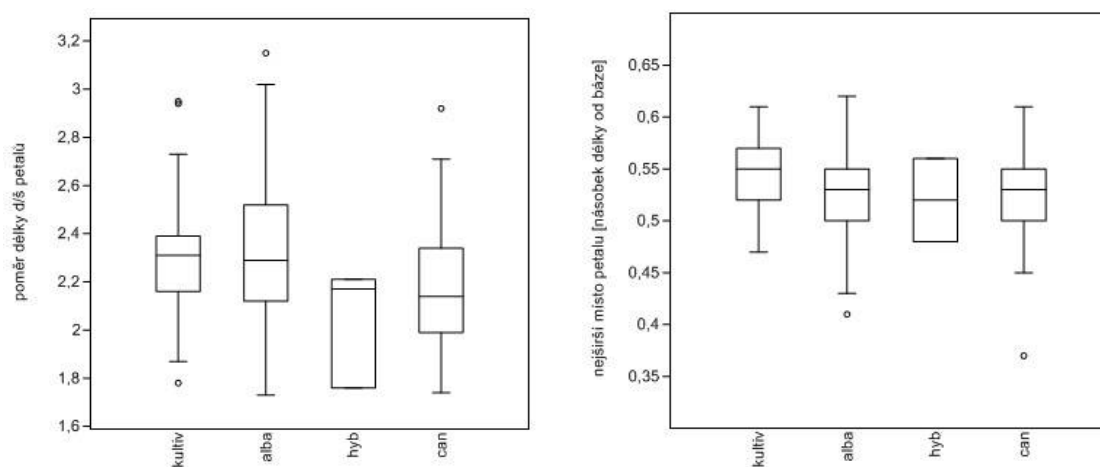
Obr. 50 – Poměr délky nitky a prašníku a délky a šířky samotné nitky.



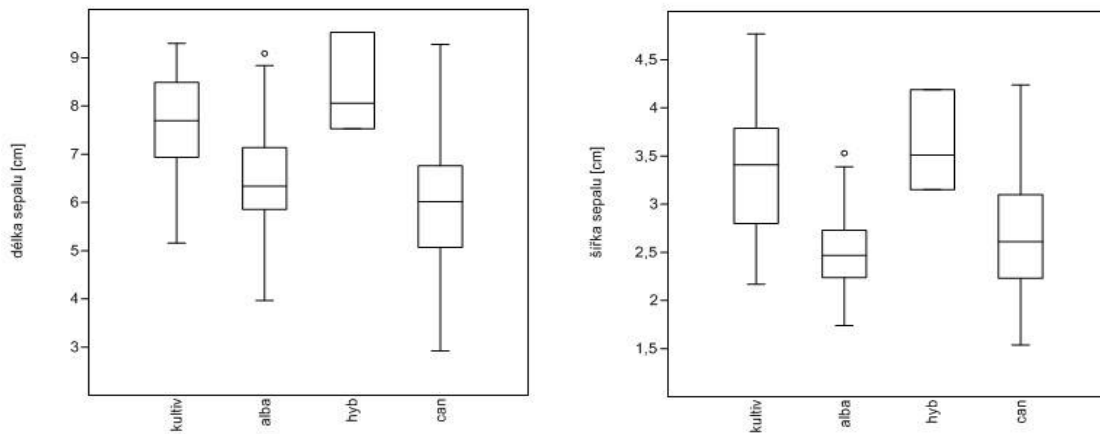
Obr. 54 – Měření úhlu prašníku u kultivaru v programu tpsDig2.



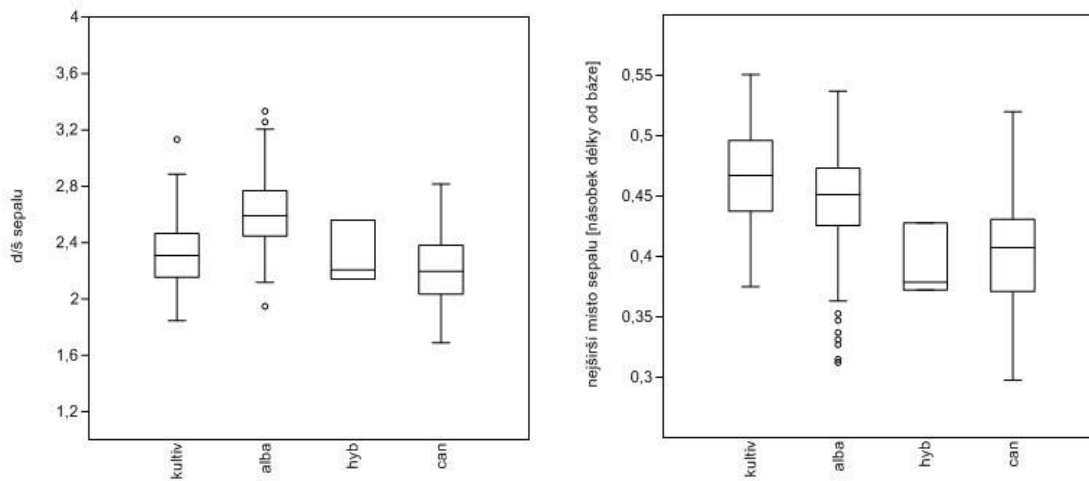
Obr. 56 - Délka a šířka korunních plátků korelují (0,84).



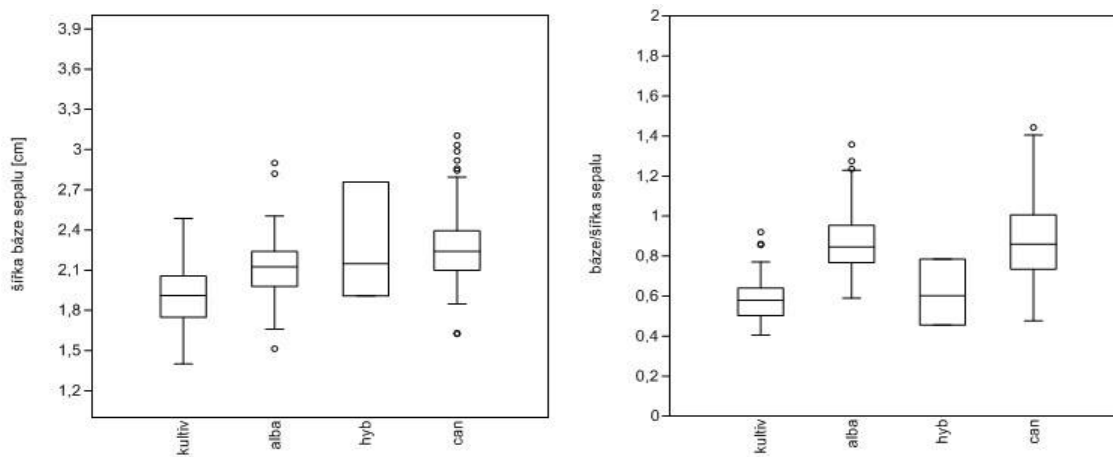
Obr. 57 – Poměr délky a šířky korunních plátků a relativní vzdálenost nejšíšíšího místa korunního plátku od jeho báze.



Obr. 58 – Délka a šířka kališních lístků.



Obr. 59 – Poměr délky a šířky kališního lístku a relativní vzdálenost nejširšího místa od báze.



Obr. 60 – Šířka báze korunního lístku a její poměr k šířce v nejširším místě.

Tab. 21 – Celková kanonická struktura 42 znaků na květech s vyznačenými znaky, které jsou nejvýznamnější pro oddělení všech 3 skupin.

Znak				Can 1	Can 2	Součet
počet plodolistů	K1		v3	0,84	0,00	0,85
barva blizny	K2		v4	-0,81	0,11	0,92
barva zubů	K3		v5	-0,84	0,17	1,01
mezera na semeníku	K4		v6	-0,76	-0,06	0,82
úhel prašníku	K5		v7	-0,90	0,01	0,90
barva petalů	K6		v8	0,23	0,73	0,96
barva sepalů	K7		v9	0,03	0,57	0,60
žilky sepalů	K8		v10	0,08	0,39	0,47
počet sepalů	K9		v11	0,31	-0,10	0,42
kanálky v řapíku	K10		v12	0,27	0,22	0,49
šířka semeníku [cm]	K11		v13	0,59	0,00	0,59
výška pestíku [cm]	K12		v14	0,38	0,16	0,54
výška semeníku [cm]	K13		v15	0,33	0,08	0,42
šířka blizny [cm]	K14		v16	0,74	-0,14	0,88
š/v semeníku	K15		v17	0,64	-0,12	0,76
š/v gynecea	K16		v18	0,65	-0,23	0,88
šířka blizny/semeníku	K17		v19	0,71	-0,30	1,00
šířka výčnělku [cm]	K18		v20	0,79	-0,07	0,86
tvar výčnělku	K19		v21	-0,73	0,03	0,76
šířka výčnělku/blizny	K20		v22	0,71	0,06	0,77
výška výčnělku [cm]	K21		v23	0,21	-0,24	0,45
v/š výčnělku	K22		v24	-0,76	-0,05	0,81
výška blizny [cm]	K23		v25	0,30	0,22	0,52
v výčnělku/ v blizny	K24		v26	-0,03	-0,48	0,51
š/v blizny	K25		v27	0,49	-0,35	0,84
v semeníku/ v blizny	K26		v28	-0,11	-0,20	0,32
délka petalů [cm]	K27		v29	0,61	0,43	1,04
šířka petalů [cm]	K28		v30	0,47	0,44	0,91
poměr d/š petalů	K30		v31	0,25	-0,07	0,31
nejširší petal ku délce	K31		v32	0,12	0,21	0,33
délka sepalu [cm]	K32		v33	0,38	0,37	0,75
šířka sepalu [cm]	K33		v34	0,03	0,54	0,57
sepal nejširší od báze [cm]	K34		v35	0,52	0,36	0,88
d/š sepalu	K35		v36	0,54	-0,32	0,86
sepal nejširší ku délce [cm]	K36		v37	0,49	0,13	0,61
šířka báze v cm [cm]	K37		v38	-0,39	-0,27	0,67
šířka báze/délka sepalu	K38		v39	-0,55	0,03	0,58
š báze/sepalu	K39		v40	-0,23	-0,51	0,74

d sepalu/ petalu	K40		v41	-0,55	-0,11	0,66
výška nejširšího místa tyčinky	K41		v42	-0,26	-0,45	0,71
poměr d/š nitky	K42		v43	0,53	0,52	1,05
d nitky/ prašníku	K43		v44	-0,34	0,54	0,88

Tab. 23 – Shrnující tabulka s 90% rozpětím všech měřených znaků na listech i květech

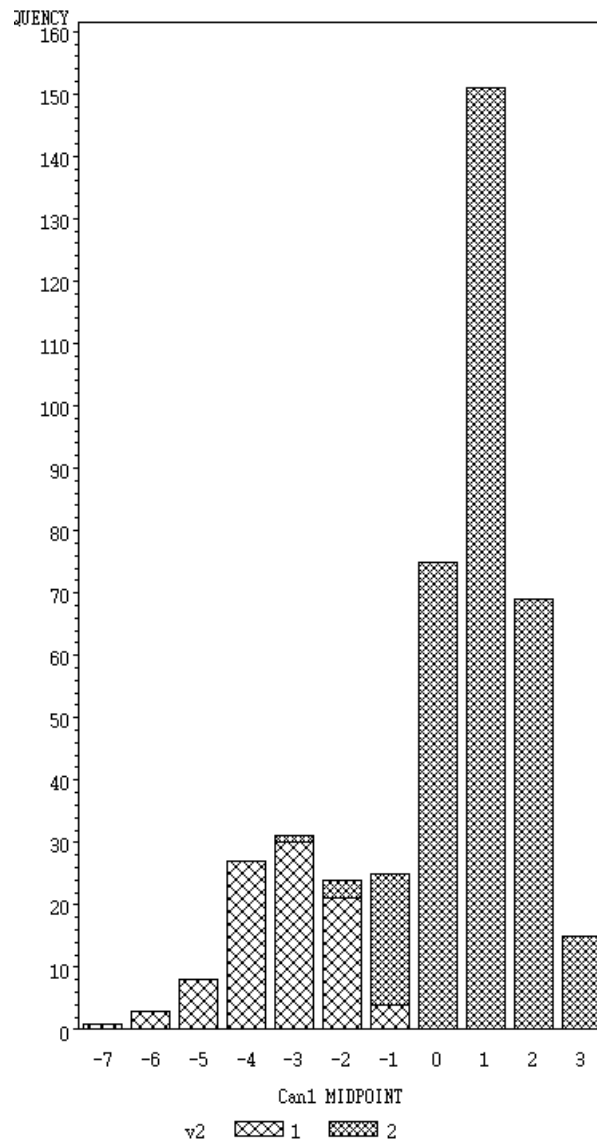
		kultivary				<i>N. alba</i>				hybridy				<i>N. candida</i>			
		min	5%	95%	max	min	5%	95%	max	min	5%	95%	max	min	5%	95%	max
pestík	počet plodolistů	12,0	13,0	22,0	23,0	10,0	12,0	22,0	24,0	11,0	11,6	16,0	16,0	5,0	7,0	13,0	15,0
	barva blizny	1,0	1,0	2,1	3,0	1,0	1,0	1,0	1,0	-	-	-	-	1,0	1,0	3,0	3,0
	barva zubů	2,0	2,0	3,0	3,0	1,0	1,0	2,0	2,0	2,0	2,2	3,9	4,0	1,0	2,0	5,0	5,0
	mezera nad tyčinkami	0,0	0,0	1,0	2,0	0,0	0,0	1,5	3,0	1,0	1,0	1,9	2,0	0,8	1,0	3,5	5,0
	šířka semeníku [cm]	1,6	1,7	3,0	3,4	1,3	1,6	3,2	3,6	2,4	2,4	3,4	3,4	0,9	1,1	2,4	2,8
	výška pestíku [cm]	1,5	1,6	2,5	2,7	1,3	1,4	2,4	2,6	2,2	2,2	2,7	2,7	1,0	1,2	2,2	2,6
	výška semeníku [cm]	1,0	1,0	1,7	2,0	0,8	1,0	1,8	2,0	1,6	1,6	2,0	2,0	0,7	0,8	1,5	2,1
	šířka blizny [cm]	1,1	1,2	2,2	2,5	1,0	1,3	2,7	3,1	1,5	1,5	2,5	2,5	0,6	0,7	1,6	1,9
	š/v semeníku	1,4	1,5	1,8	1,9	1,3	1,5	2,0	2,4	1,5	1,5	1,9	1,9	1,0	1,1	1,8	2,0
	š/v pestíku	0,9	1,0	1,3	1,4	0,9	1,0	1,4	1,5	1,1	1,1	1,3	1,3	0,7	0,9	1,2	1,3
	šířka blizny / semeníku	0,6	0,7	0,8	0,9	0,6	0,7	0,9	1,0	0,6	0,6	0,8	0,8	0,4	0,5	0,8	0,9
	šířka výčnělku [mm]	1,7	2	4,6	4,9	1,6	2	5,2	6,3	2,3	2,5	3,7	3,8	0,4	0,6	2,5	3,5
	šířka výčnělku / blizny	1,8	2,2	3,8	4,3	1,7	2,2	5,1	6,0	3,1	3,2	5,1	5,2	0,6	1,3	4,9	5,9
	výška výčnělku [mm]	41	44	75	83	19	33	77	110	63	64	78	79	21	26	74	105
	v/š výčnělku	0,5	0,7	1,6	2,1	0,5	0,7	1,7	2,2	1,0	1,0	1,6	1,6	0,7	1,4	3,3	4,4
	výška blizny [mm]	4,1	4,4	7,5	8,3	1,9	3,3	7,7	11,0	6,3	6,4	7,8	7,9	2,1	2,6	7,4	10,5
	v výčnělku/ v blizny	0,3	0,4	0,6	0,8	0,2	0,5	1,0	1,2	0,5	0,5	0,7	0,7	0,2	0,4	1,0	1,2
	š/v blizny	1,9	2,0	4,1	5,3	1,7	2,0	5,8	9,1	2,4	2,4	3,3	3,4	1,4	1,7	3,4	4,2
v semeníku/ v blizny	1,6	1,7	3,0	3,4	1,0	1,5	4,0	7,2	2,1	2,2	2,9	2,9	1,2	1,8	4,3	5,5	
tyčinky	úhel prašníku [°]	90	92	131	139	44	89	134	144	139	139	144	144	133	141	166	180
	nejširší místo - úroveň	1,0	1,0	5,0	5,0	1,0	2,0	4,0	5,0	2,0	2,2	3,9	4,0	3,0	3,0	4,0	4,0
	poměr d/š nitky	4,4	4,6	6,6	7,0	2,5	2,8	5,1	8,0	2,9	2,9	3,5	3,6	2,1	2,4	4,5	5,1
	d nitky/ prašníku	0,9	1,0	1,3	1,5	0,7	0,8	1,2	1,3	0,9	0,9	1,1	1,1	0,8	1,0	1,2	1,3
korunní plátky	délka [cm]	5,3	5,8	10,0	11,2	3,9	4,9	7,1	8,2	6,0	6,1	8,3	8,4	2,7	3,5	6,3	6,8
	šířka [cm]	2,2	2,4	4,4	5,2	1,7	2,0	3,3	3,5	3,2	3,2	3,8	3,9	1,4	1,5	3,1	3,7
	nejširší místo od báze [cm]	2,8	3,1	5,7	6,4	1,9	2,5	3,9	4,5	2,9	3,0	4,5	4,5	1,4	1,7	3,4	3,8
	poměr d/š petalů	1,8	1,9	2,7	2,9	1,7	1,9	2,8	3,2	1,8	1,8	2,2	2,2	1,7	1,9	2,6	2,9
	nejširší místo ku délce	0,5	0,5	0,6	0,6	0,4	0,5	0,6	0,6	0,5	0,5	0,6	0,6	0,4	0,5	0,6	0,6
	barva	0,0	0,0	2,0	2,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	2,0
sní líst	počet	4,0	4,0	4,5	5,3	4,0	4,0	4,8	5,5	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,2	4,7

	délka [cm]	5,8	6,2	9,2	9,3	4,0	4,9	7,9	9,1	7,5	7,6	9,5	9,5	2,9	3,9	7,9	9,3
	šířka [cm]	2,2	2,5	4,2	4,5	1,7	2,0	3,0	3,5	3,1	3,2	4,2	4,2	1,5	1,8	3,6	4,2
	nejširší místo od báze [cm]	2,5	2,8	4,5	4,7	1,4	2,1	3,7	4,7	3,1	3,1	3,9	4,0	1,2	1,5	3,4	3,8
	délka / šířka sepalu	1,8	2,0	2,8	3,1	1,9	2,2	3,1	3,3	2,1	2,2	2,5	2,6	1,7	1,9	2,6	2,8
	nejširší místo ku délce	0,4	0,4	0,5	0,6	0,3	0,4	0,5	0,5	0,4	0,4	0,4	0,4	0,3	0,3	0,5	0,5
	šířka báze [cm]	1,4	1,5	2,4	2,5	1,5	1,7	2,4	2,9	1,9	1,9	2,7	2,8	1,6	1,9	2,7	3,1
	šířka báze / délka	0,5	0,6	1,1	1,3	0,5	0,6	1,1	1,2	0,8	0,8	1,3	1,3	0,6	0,8	1,4	1,5
	šířka báze / max. šířka	0,4	0,5	0,8	0,9	0,6	0,7	1,1	1,4	0,5	0,5	0,8	0,8	0,5	0,6	1,2	1,4
	barva	0,0	0,0	3,0	3,0	0,0	0,0	1,4	2,0	0,0	0,2	1,9	2,0	0,0	0,0	1,9	2,6
	počet žilek	5,0	7,0	11,0	11,0	5,0	7,0	9,0	11,0	7,0	7,3	9,0	9,0	5,0	7,0	9,0	10,0
	délka sepalu / petalu [cm]	0,8	0,8	1,2	1,4	0,8	1,0	1,2	1,5	1,1	1,1	1,3	1,3	0,9	1,1	1,4	1,7
listy	délka [cm] (1+2)	15,4	16,9	30,0	33,6	16,8	20,6	36,0	42,0	26,1	26,8	36,3	37,2	7,1	9,2	27,9	31,5
	šířka [cm]	14,9	16,6	31,2	32,6	13,8	18,0	32,4	38,8	23,8	24,4	32,1	32,9	6,3	8,2	24,9	26,9
	délka / šířka	0,9	0,9	1,1	1,1	1,0	1,1	1,2	1,2	1,1	1,1	1,1	1,1	1,0	1,0	1,2	1,3
	délka žebra [cm] (1)	8,7	9,8	17,6	19,4	9,9	11,8	21,6	25,1	14,9	15,3	22,2	22,6	3,9	5,0	16,3	19,1
	délka zářezu [cm] (2)	6,6	7,1	12,5	14,2	6,9	8,5	14,5	17,0	11,3	11,3	14,3	14,6	3,2	4,1	11,7	13,1
	žebro/ zářez	1,3	1,3	1,8	1,9	1,2	1,3	1,6	1,9	1,3	1,3	1,7	1,8	1,1	1,2	1,6	1,8
	žebro / délka	0,6	0,6	0,6	0,7	0,5	0,6	0,6	0,7	0,6	0,6	0,6	0,6	0,5	0,5	0,6	0,6
	nejširší místo od vrcholu [cm]	8,2	9,8	16,8	18,9	9,1	10,5	20,4	22,9	13,6	14,0	20,4	20,6	3,8	4,6	15,4	16,9
	nejširší místo / délka	0,5	0,5	0,6	0,6	0,5	0,5	0,6	0,6	0,5	0,5	0,6	0,6	0,5	0,5	0,6	0,6
	nejširší místo / žebro	0,8	0,8	1,0	1,1	0,8	0,9	1,0	1,0	0,9	0,9	1,0	1,0	0,8	0,9	1,0	1,0
	úhel mezi laloky [°]	10	22	45	48	18	22	58	80	32	35	71	73	15	25	63	73
	max. vyklenutí hlavní žilky od úhlu [mm] (znak 6)	5,2	6,7	16,7	17,5	8,0	9,2	22,0	26,4	17,1	17,6	25,1	25,2	6,2	7,2	22,3	25,6
	max. vyklenutí laloku od úhlu [mm] (znak 7)	3,1	3,9	11,4	16,4	6,0	7,8	23,5	38,4	15,1	15,6	26,7	27,3	2,0	3,4	18,7	26,7
	šířka laloku [mm] (6+7)	13,2	14,1	19,4	29,6	15,8	18,6	43,3	57,6	32,2	33,8	51,2	52,5	8,4	10,6	39,0	47,1
	poměr 7/6 v laloku	0,5	0,7	3,8	4,4	0,5	0,6	2,0	3,5	0,9	0,9	1,3	1,3	0,7	1,0	2,3	3,5
	šířka laloku / délka žebra	0,15	0,16	0,22	0,25	0,18	0,20	0,34	0,39	0,29	0,29	0,38	0,39	0,16	0,23	0,65	0,74
	nejširší místo listu / šířka laloku	4,9	5,4	9,0	9,3	3,4	3,9	6,8	7,5	3,8	3,8	4,4	4,4	1,7	2,0	5,4	8,6
	7/2	0,0	0,0	0,1	0,1	0,0	0,1	0,2	0,3	0,1	0,1	0,2	0,2	0,0	0,1	0,3	0,3
	6/2	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,4	0,5
	špičatost laloků	1,5	1,7	4,6	5,0	1,0	1,5	4,0	4,0	2,0	2,0	2,9	3,0	1,0	1,0	3,5	5,0
	oblost vrchol	1,0	1,4	4,5	5,0	2,0	3,0	5,5	6,0	4,0	4,2	5,9	6,0	1,0	3,0	5,0	5,5
	barva	0,5	0,5	1,5	1,5	0,5	0,5	1,5	1,5	1,0	1,0	1,4	1,5	0,5	0,5	1,5	1,5
počet kanálků v řapíku	4,0	4,0	5,0	6,0	4,0	4,0	5,0	5,5	4,0	4,0	4,9	5,0	4,0	4,0	4,5	5,0	

Tabulka 31 – Celková kanonická struktura 48 znaků vybraných pro diskriminační analýzu se zvýrazněním znaků, které nejvíce přispívají k oddělení skupin.

Znak		Can 1	Can 2	Součet
počet plodolistů	v3	0,838369	-0,026128	0,864497
barva blizny	v4	-0,805545	0,129071	0,934616
barva CA	v5	-0,835868	0,188555	1,024423
mezera AG	v6	-0,755233	-0,038003	0,793236
úhel prašníku	v7	-0,892861	0,032073	0,924934
barva petalů	v8	0,248129	0,705222	0,953351
barva sepalů	v9	0,040273	0,55677	0,597043
kanálky v řapíku	v10	0,276181	0,206545	0,482726
šířka semeníku	v11	0,590092	-0,017731	0,607823
šířka blizny cm	v12	0,732082	-0,155286	0,887368
sem š/v	v13	0,630601	-0,13369	0,764291
š/v gynecea	v14	0,642205	-0,244614	0,886819
šířka bliz/sem	v15	0,69748	-0,306098	1,003578
šířka výčnělku cm	v16	0,790518	-0,08502	0,875538
výčnělek	v17	-0,726028	0,046475	0,772503
šířka výč/bliz	v18	0,708562	0,042173	0,750735
výška výč. cm	v19	0,204055	-0,235283	0,439338
v/š výčnělku	v20	-0,762878	-0,023489	0,786367
š/v blizny	v21	0,477687	-0,357539	0,835226
délka petalů	v22	0,615581	0,404773	1,020354
šířka petalů	v23	0,477917	0,419697	0,897614
délka sepalu	v24	0,386285	0,349975	0,73626
šířka sepalu	v25	0,042991	0,523773	0,566764
sepal nejširší od báze	v26	0,528645	0,338709	0,867354
d/š sepalu	v27	0,531733	-0,329453	0,861186
sepal nejširší ku délce	v28	0,488848	0,10965	0,598498
báze v cm	v29	-0,398231	-0,254992	0,653223
báze/délka	v30	-0,548733	0,040107	0,58884
báze/ nejširší	v31	-0,242341	-0,492116	0,734457
d sepalu/ petalu	v32	-0,551491	-0,095627	0,647118
nejširší tyčinky	v33	-0,267195	-0,431671	0,698866
poměr d/š nitky	v34	0,544528	0,491542	1,03607
d nitky/ prašníku	v35	-0,327029	0,537633	0,864662
d listu	v36	0,528066	-0,135805	0,663871

úhel laloků	v37	-0,086477	-0,172188	0,258665
lalok (6+7)	v38	-0,088926	-0,393073	0,481999
zářez	v39	0,49797	-0,140545	0,638515
d/š listu	v40	-0,347552	-0,538313	0,885865
d žebra/zářezu	v41	0,263673	0,023165	0,286838
nejširší místo/d žebra	v42	0,053975	0,037455	0,09143
7/6 v laloku	v43	-0,112001	0,485681	0,597682
š/d laloku	v44	-0,528764	-0,225895	0,754659
nejširší místo/š laloku	v45	0,643227	0,456677	1,099904
7 ku 2	v46	-0,311608	-0,394556	0,706164
6 ku2	v47	-0,612561	-0,04805	0,660611
špičatost laloků	v48	0,214088	0,226502	0,44059
vrchol listu	v49	0,178234	-0,442482	0,620716
barva čepele	v50	-0,280171	0,290318	0,570489



Obr. 67 – Kanonická diskriminační analýza s použitím pouze vegetativních znaků. Původní taxony – 2, nepůvodní – 1.

Tab. 32 – Celková kanonická struktura 18 znaků na listech, různou měrou odlišujících původní a nepůvodní taxony.

Znak	Zkratka	Proměnná č.	Can. 1
Délka listu	L2	v3	0.278426
Šířka listu	L3	v4	0.143165
Úhel mezi laloky	L5	v5	0.372318
Šířka laloku	L8	v6	0.651741
Délka zářezu	L9	v7	0.273072
D/Š listu	L10	v8	0.721064
D žebra/zářezu	L11	v9	0.191717
D žebra/listu	L12	v10	0.213944

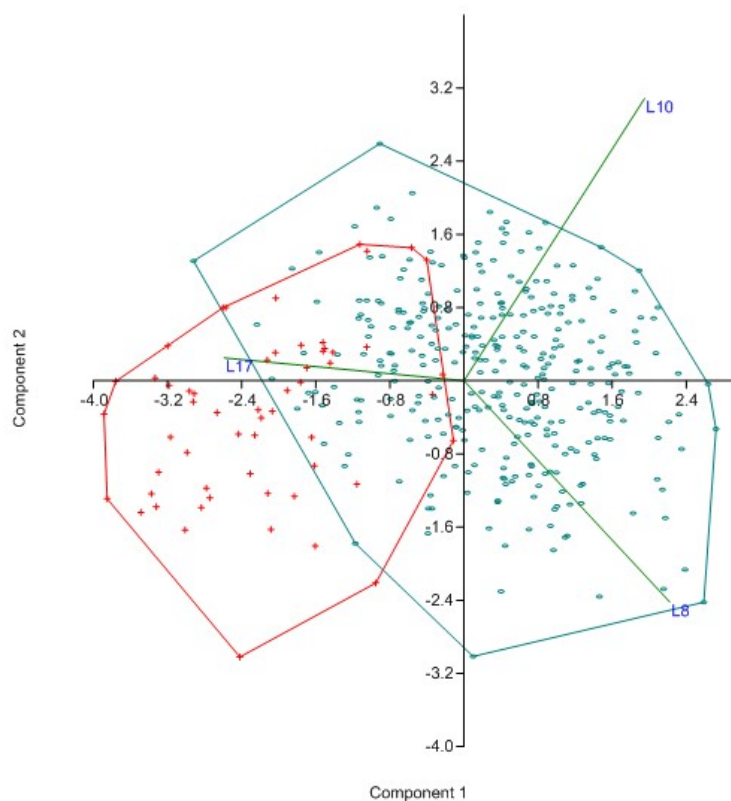
Vzdálenost nejširšího místa/D listu	L13	v11	-0.089348
Vzdálenost nejširšího místa/D žebra	L14	v12	-0.281139
Poměr znaků 6/7 v laloku	L15	v13	-0.390523
Š laloku/D zářezu	L16	v14	0.559293
Vzdálenost nejširšího místa/Š laloku	L17	v15	-0.737692
7/D zářezu	L18	v16	0.595608
6/D zářezu	L19	v17	0.425288
Ostrost laloků	L20	v18	-0.478065
Oblost vrcholu čepele	L21	v19	0.368782
Červenost čepele	L22	v20	-0.016263

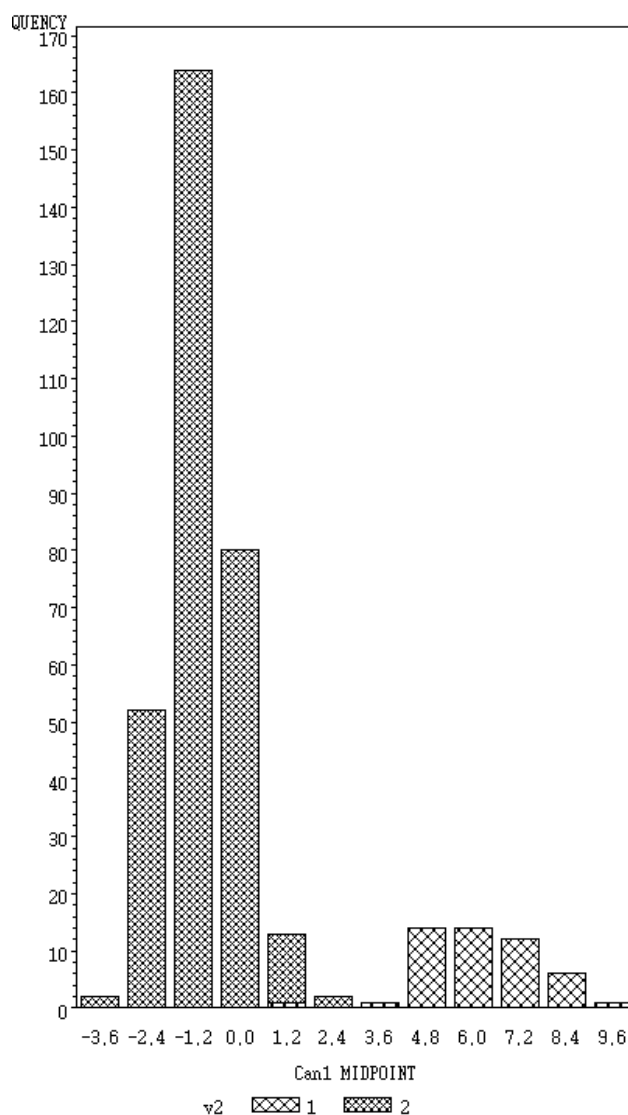
Obr. 68 – Standardizovaná PCA 3 vybraných znaků na listech, nejlépe odlišujících původní a nepůvodní taxony. Zobrazeno 99,8% variability.

Červené křížky – kultivary, zelené ovály – původní druhy.

Tab. 32 – Úspěšnost klasifikace analyzovaných jedinců na základě 3 znaků na listech (1 – kultivary, 2 – původní druhy):

0	1	2	Total	%
1	49	8	57	86
2	29	306	335	91,3
Total	78	314	392	88,7



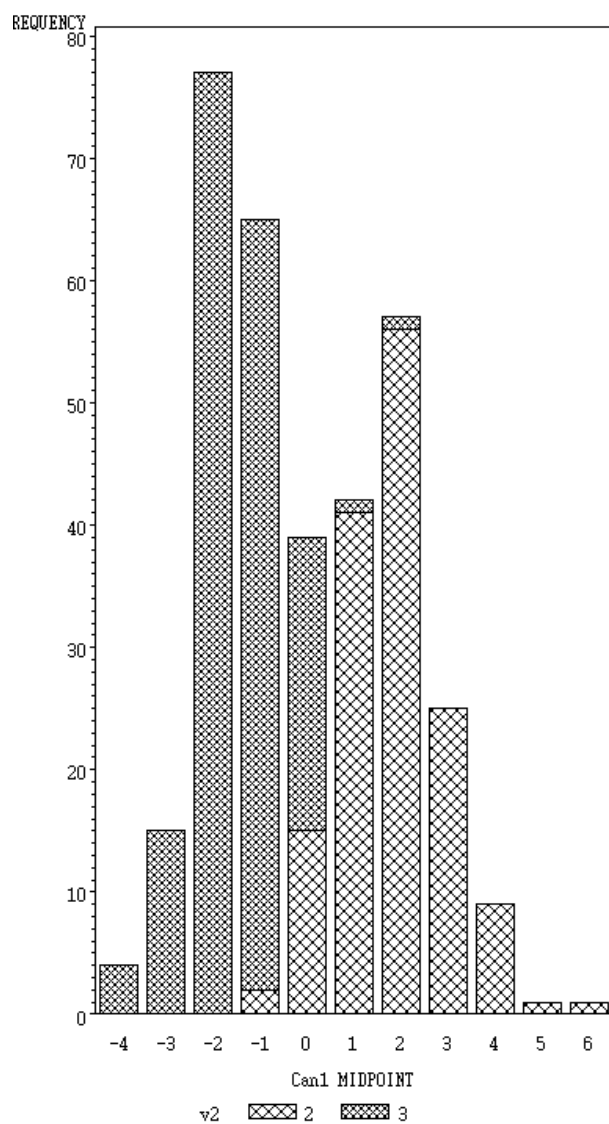


Obr. 69 – Kanonická diskriminační analýza s použitím vegetativních i generativních znaků nedokázala oddělit pouze nepůvodní rostlinu z lokality č. 79 od skupiny nativních druhů. 1 – kultivary, 2 – původní druhy.

Tabulka 33 – Celková kanonická struktura všech znaků, použitých k oddělení původních a nepůvodních taxonů.

Znak	Kód	Can 1
počet plodolistů	v3	0.345855
barva blizny	v4	-0.238979
barva zubů	v5	-0.198936
mezera na semeníku	v6	-0.366806
úhel prašníku	v7	-0.364522
barva petalů	v8	0.742415
barva sepalů	v9	0.517579
kanálky v řapíku	v10	0.307086

šířka semeníku	v11	0.244024
šířka blizny cm	v12	0.183083
sem š/v	v13	0.157767
š/v gynecea	v14	0.063298
šířka bliz/sem	v15	0.032450
šířka výčnělku cm	v16	0.271906
výčnělek	v17	-0.278101
šířka výč/bliz	v18	0.349990
výška výč. cm	v19	-0.121336
v/š výčnělku	v20	-0.357144
š/v blizny	v21	-0.110553
délka petalů	v22	0.634555
šířka petalů	v23	0.587310
délka sepalu	v24	0.484352
šířka sepalu	v25	0.489154
sepal nejširší od báze	v26	0.536950
d/š sepalu	v27	-0.061530
sepal nejširší ku délce	v28	0.313781
báze v cm	v29	-0.404344
báze/délka	v30	-0.205717
báze/ nejširší	v31	-0.548549
d sepalu/ petalu	v32	-0.328787
nejširší tyčinky	v33	-0.505234
poměr d/š nitky	v34	0.681151
d nitky/ prašníku	v35	0.338598
d listu	v36	0.110701
úhel laloků	v37	-0.192675
lalok (6+7)	v38	-0.392053
zářez	v39	0.093188
d/š listu	v40	-0.636369
d žebra/zářezu	v41	0.136947
nejširší místo/d žebra	v42	0.057402
7/6 v laloku	v43	0.386680
š/d laloku	v44	-0.435724
nejširší místo/š laloku	v45	0.693329
7 ku 2	v46	-0.491478
6 ku2	v47	-0.312977
špičatost laloků	v48	0.297650
vrchol listu	v49	-0.318722
barva čepele	v50	0.137214

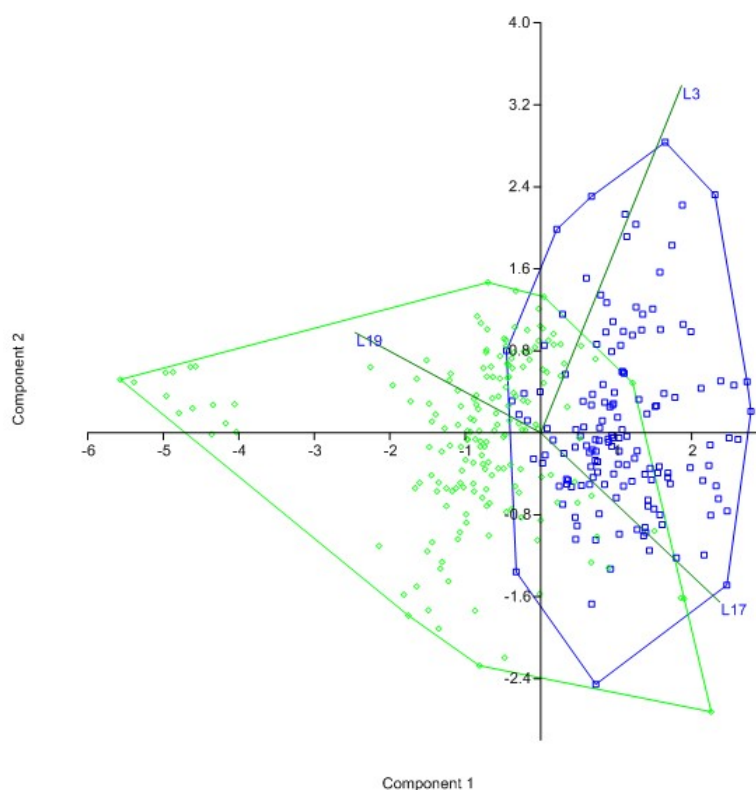


Obr. 71 – Jednorozměrný diagram kanonické diskriminační analýzy 18 znaků na listech u dvou původních druhů: 2 – *N. alba*, 6 – *N. candida*.

Tab. 35 – Celková kanonická struktura vegetativních znaků při rozlišování původních druhů

Znak	Zkratka	Kód DA	Can 1
D listu	L2	v3	0.598149
Š listu	L3	v4	0.603675
Úhel mezi laloky	L5	v5	-0.027917
Š laloku	L8	v6	0.030922
D zářezu	L9	v7	0.568408
D/Š listu	L10	v8	-0.124923
D žebra/zářezu	L11	v9	0.246318
D žebra/listu	L12	v10	0.249414
D nejširšího místa/listu	L13	v11	0.176430

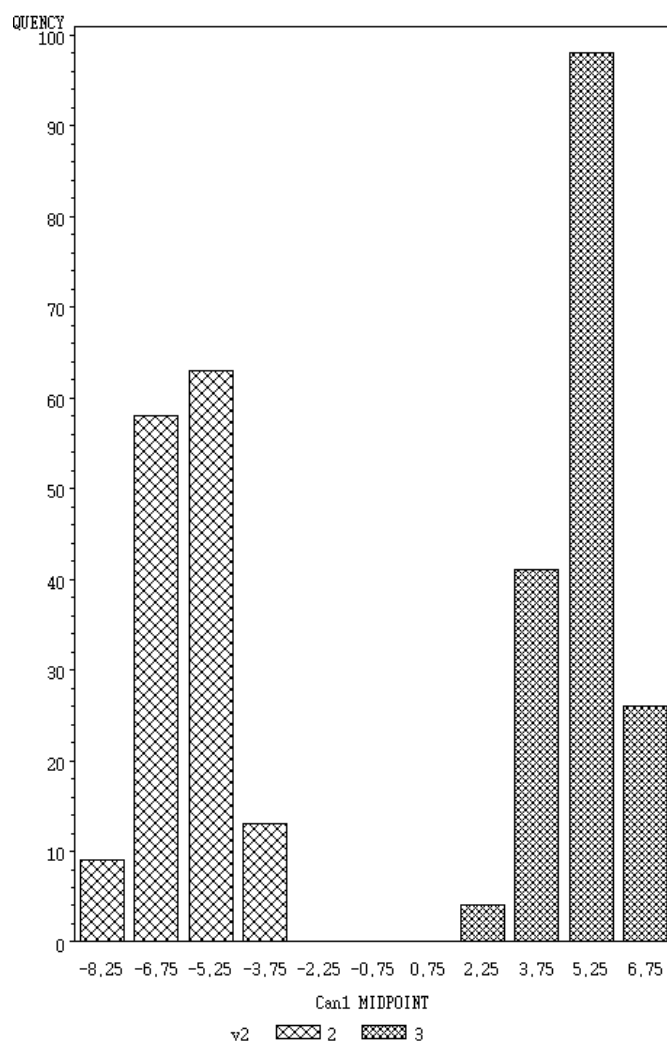
D nejširšího místa/žebra	L14	v12	-0.020402
7/6 v laloku	L15	v13	-0.413466
Š laloku/D zářezu	L16	v14	-0.530653
D nejširšího místa/Š laloku	L17	v15	0.693053
7/2	L18	v16	-0.205957
6/2	L19	v17	-0.679115
Špičatost laloků	L20	v18	0.222041
Oblost vrcholu čepele	L21	v19	0.434245
Červenost čepele	L22	v20	-0.389070



Obr. 72 – Standardizovaná PCA 3 vybraných znaků na listech pro rozlišení *N. alba* (modré čtverce) a *N. candida* (zelené kosočtverce). Pozn. extrémní skupina jedinců v záporné části 1. komponenty jsou rostliny z populací č. 73 a 74. Zobrazeno je 92,5% variability.

Tab. 36 – Klasifikační diskriminační analýza 3 vybraných znaků na listech; počty jedinců (1 – *N. alba*, 2 – *N. candida*): průměrně zařazeno 88,4%

0	1	2	Celkem	%
1	137	13	150	91,3
2	27	158	185	85,4

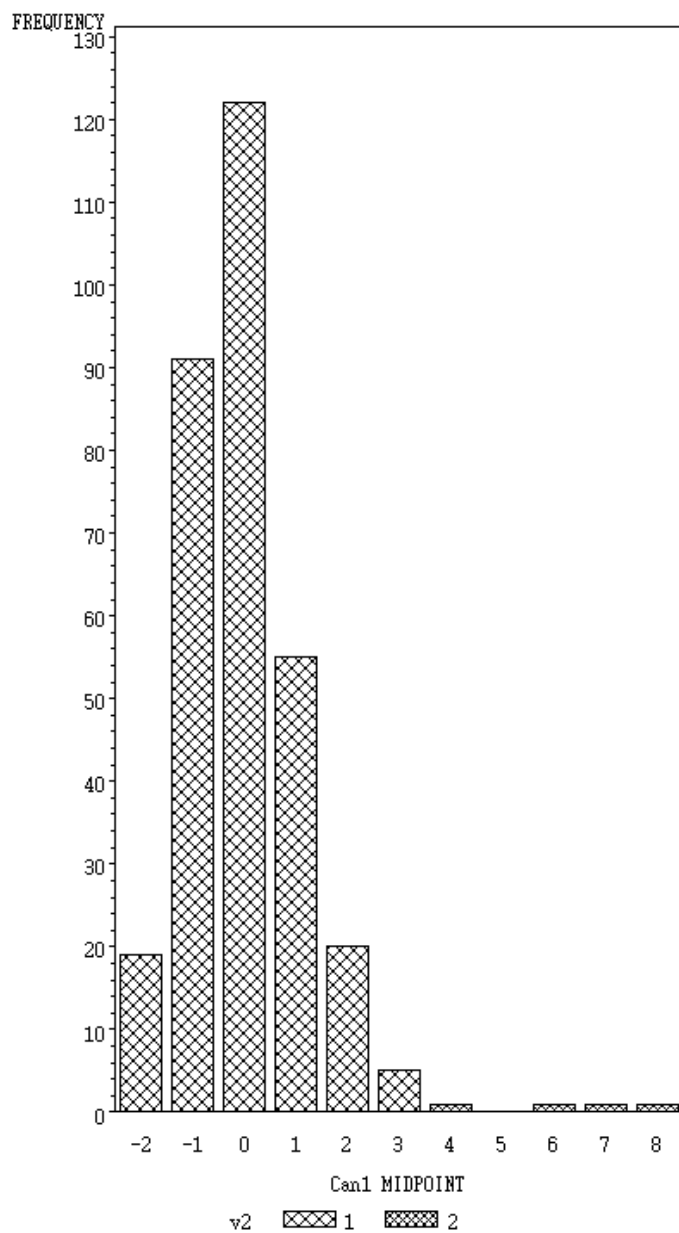


Obr. 73 – Kanonická diskriminační analýza s použitím všech 48 znaků úspěšně oddělila dva původní druhy.

Tab. 37 – Celková kanonická struktura diskriminační analýzy ukazuje, že druhy *N. alba* a *N. candida* se nejlépe rozpoznávají podle květů.

Znak	Kód DA	Can 1
počet plodolistů	v3	-0.837076
barva blizny	v4	0.831573
barva zubů	v5	0.854820
mezera AG	v6	0.721756
úhel prašníku	v7	0.893344
barva petalů	v8	0.131445
barva sepalů	v9	0.242918
kanálky v řápiku	v10	-0.215343

šířka semeníku	v11	-0.580492
šířka blizny cm	v12	-0.755471
sem š/v	v13	-0.638716
š/v gynecea	v14	-0.697212
šířka bliz/sem	v15	-0.768301
šířka výčnělku cm	v16	-0.801072
výčnělek	v17	0.713252
šířka výč/bliz	v18	-0.700328
výška výč. cm	v19	-0.283269
v/š výčnělku	v20	0.734381
š/v blizny	v21	-0.590261
délka petalů	v22	-0.560163
šířka petalů	v23	-0.368992
délka sepalu	v24	-0.253493
šířka sepalu	v25	0.200343
sepal nejširší od báze	v26	-0.426519
d/š sepalu	v27	-0.644768
sepal nejširší ku délce	v28	-0.437964
š báze sepalu v cm	v29	0.304548
š báze sepalu/délka sepalu	v30	0.552824
š báze/ nejširší místo sepau	v31	0.034949
d sepalu/ petalu	v32	0.515342
nejširší místo tyčinky	v33	0.113750
poměr d/š nitky	v34	-0.409990
d nitky/ prašníku	v35	0.566680
d listu	v36	-0.549568
úhel laloků	v37	0.012265
š laloku (6+7)	v38	-0.078331
d zářezu	v39	-0.525135
d/š listu	v40	0.146251
d žebra/zářezu	v41	-0.255932
nejširší místo/d žebra	v42	-0.040855
7/6 v laloku	v43	0.383627
š/d laloku	v44	0.430380
nejširší místo/š laloku	v45	-0.569570
7 / 2	v46	0.148170
6 / 2	v47	0.569876
špičatost laloků	v48	-0.120189
vrchol listu	v49	-0.378424
barva čepele	v50	0.393744



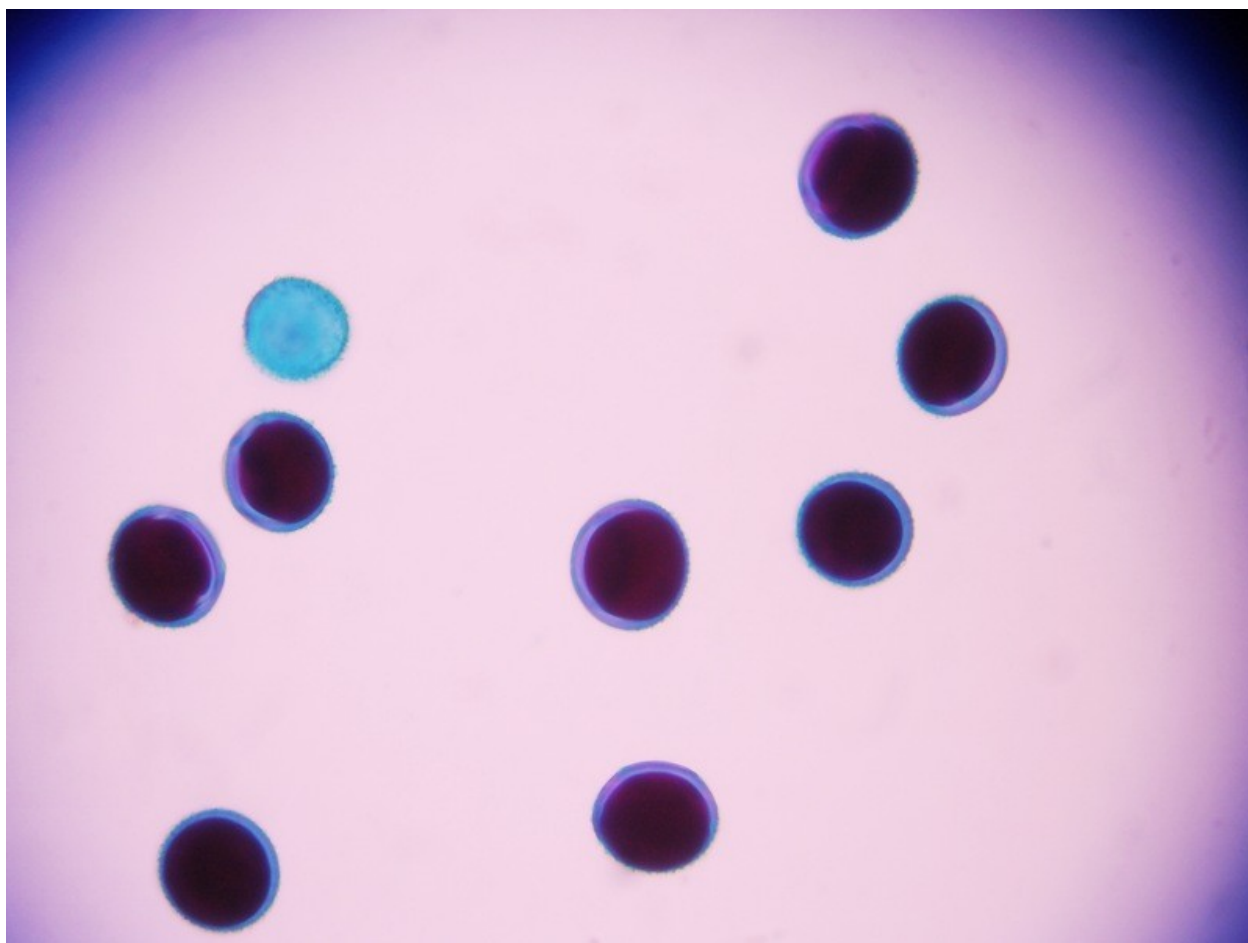
Obr. 77 – Diskriminační analýza hybridních jedinců (2) a původních taxonů (1).

Tab. 39 – Celková kanonická struktura diskriminační analýzy 40 znaků na hybridech a původních druzích

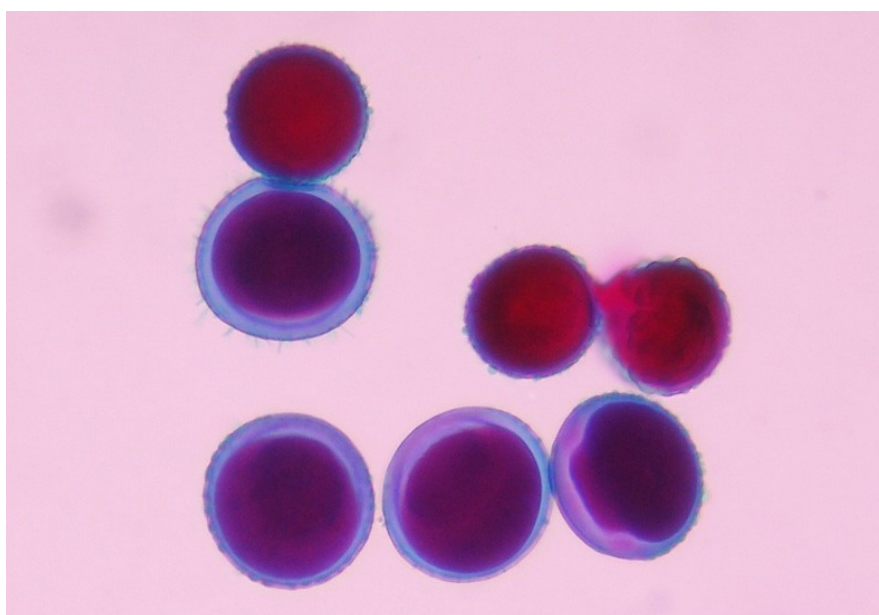
Znak	Kód DA	Can 1
počet plodolistů	v3	0.057560
barva blizny	v4	-0.018347
barva CA	v5	0.025640
mezera AG	v6	0.048537

úhel prašníku	v7	0.062198
šířka semeníku	v8	0.340353
šířka blizny cm	v9	0.186978
sem š/v	v10	0.088689
š/v gynecea	v11	0.087852
šířka bliz/sem	v12	-0.109634
šířka výčnělku cm	v13	0.123133
výčnělek	v14	-0.171814
šířka výč/bliz	v15	0.055144
výška výč. cm	v16	0.149931
v/š výčnělku	v17	-0.100364
š/v blizny	v18	-0.059764
délka petalů	v19	0.379997
šířka petalů	v20	0.449596
délka sepalu	v21	0.432983
šířka sepalu	v22	0.458168
sepal nejširší od báze	v23	0.272742
d/š sepalu	v24	-0.067251
sepal nejširší ku délce	v25	-0.093958
báze v cm	v26	0.114358
báze/délka	v27	0.091693
báze/ nejširší	v28	-0.277840
d sepalu/ petalu	v29	0.046779
nejširší tyčinky	v30	-0.088632
poměr d/š nitky	v31	-0.126016
d nitky/ prašníku	v32	-0.090464
delka_listu	v33	0.263959
uhel_laloku	v34	0.232600
zilka od uhlu (6)	v35	0.304083
zářez	v36	0.236653
pomer_delka/sirka	v37	-0.094503
poměr žebro/ zářez	v38	0.161622
pomer_nejsirsi_místo/zebro	v39	-0.037916
pomer_7/6_v_laloku	v40	-0.104490
nejširší/lalok	v41	-0.089993
spicky laloku	v42	-0.009581

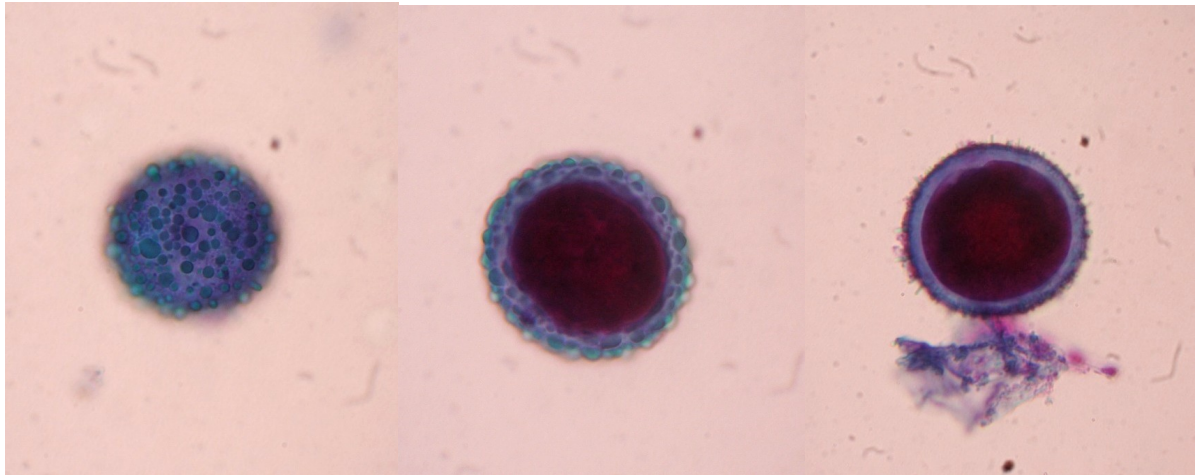
PYL



Obr. 99 – Barvený pyl *Nymphaea candida* z populace č. 74, , 40× zvětšeno



Obr. 100 – Barvený pyl populace č. 75 (Písečný rybník u Milotic).



Obr. 101 – Barvený pyl *Nymphaea* × *borealis* z populace č. 62, 100× zvětšeno.