

**UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI**  
**PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA**  
**KATEDRA BOTANIKY**

Srovnávací morfologie cytotypů česneku planého  
(*Allium oleraceum*)

Comparative morphology of cytotypes of *Allium oleraceum*

**Diplomová práce**

Veronika Burešová

Studijní program: Biologie; Studijní obor: Botanika

Forma studia: Prezenční

Vedoucí práce: RNDr. Martin Duchoslav, Ph.D.

Olomouc 2012

**Čestné prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem předloženou diplomovou prací vypracovala samostatně a uvedla v ní předepsaným způsobem všechny použitou literaturu.

V Olomouci dne 13. srpna 2012

---

Veronika Burešová

**Poděkování:**

Ráda bych touto cestou poděkovala všem, kteří mi pomohli s přípravou mé diplomové práce. V první řadě bych chtěla poděkovat svému vedoucímu diplomové práce RNDr. Martinovi Duchoslavovi, Ph.D za jeho zkušené vedení a trpělivost. Dále děkuji Mgr. Michaele Jandové a Mgr. Martině Fialové, které mi po celou dobu vycházely vstříc a poskytovaly mi odborné informace. Velký dík patří také mé rodině a přátelům, za jejich podporu a toleranci.

## Bibliografická identifikace:

**Jméno a příjmení autora:** Veronika Burešová

**Název práce:** Srovnávací morfologie cytotypů česneku planého (*Allium oleraceum*)

**Typ práce:** Diplomová

**Pracoviště:** Katedra botaniky PŘF UP Olomouc, Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc – Holic

**Vedoucí práce:** RNDr. Martin Duchoslav, Ph.D.

**Rok obhajoby práce:** 2012

**Abstrakt:** Předložená práce je zaměřena na studium anatomicko-morfologických znaků u složitého polyploidního komplexu česneku planého (*Allium oleraceum* L.), u kterého je dosud známo šest cytotypů ( $2n = 3x, 4x, 5x, 6x, 7x, 8x$ ). Pro tuto srovnávací studii jsem využila vzorky zapěstovaných evropských a českých populací *A. oleraceum*. Všechny získané údaje z posledních let byly zkompletovány a následně zhodnoceny pomocí statistických metod jednorozměrných a mnohorozměrných analýz. Celkově bylo v této práci zanalyzováno kolem 600 jedinců ze 138 populací. V hodnocených anatomických a morfologických znacích byla zjištěna variabilita mezi cytotypy, populacemi i jedinci. Nejmenší průměrnou velikost průduchů měl 4x cytotyp. Nízký počet papil či absence byla zjištěna na horním listu všech cytotypů. Větší počet a delší listy jsem zjistila u rostlin 3x, 4x cytotypu. Nejméně květů pak vytvářel 6x cytotyp, zatímco ostatní cytotypy často bohatě kvetly. 6x a 7x rostliny produkovaly nejvíce pacibulek. Nejvyšší rostliny byly zpozorovány u 3x a 5x cytotypu. Pomocí mnohorozměrných analýz byly vybrány znaky nejvhodnější pro rozlišení jednotlivých ploidních úrovní. Získané výsledky i zkušenosti z terénu ukazují, že velmi dobře rozpoznatelní jsou jedinci 6x cytotypu, odlišení ostatních cytotypů je v terénu velmi problematické.

**Klíčová slova:** *Allium oleraceum*, polyploidie, cytotyp, morfologie

**Počet stran:** 67

**Počet příloh:** 8

**Jazyk:** Český

## **Bibliographical identification:**

**Author's first name and surname:** Veronika Burešová

**Title:** Comparative morphology of cytotypes of *Allium oleraceum*

**Type of thesis:** Master

**Department:** Department of Botany, Faculty of Science, Palacký University, Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc – Holic

**Supervisor:** RNDr. Martin Duchoslav, Ph.D.

**The year of presentation:** 2012

**Abstract:** The following thesis is aimed at examining anatomic-morphological signs of complicated polyploidy complex of field garlic (*Allium oleraceum* L.). So far, we know six kinds of cytotype ( $2n = 3x, 4x, 5x, 6x, 7x, 8x$ ). For this comparing examination I used samples of *A. oleraceum* imported from European and Czech populations. All of the obtained data from several last years have been completed and subsequently evaluated using statistical methods of one-dimensional and multi-dimensional analysis. Together there were about 600 specimens from 138 populations which were analyzed. There was a variability found in all of the evaluated anatomic-morphological signs among cytotypes, populations and specimens. The smallest average size of pores was found at 4x cytotype. Low amount of papillae or a complete absence of them was found on the top leaf of all cytotypes. Higher amount of papillae and longer leaves was discovered at plants of 3x, 4x cytotypes. The smallest amount of flowers was found at 6x cytotypes, while others were blooming very significantly. At the 6x and 7x plants was found the largest amount of bulbilluae. The highest plants were seen at 3x and 5 cytotypes. Using multi-dimensional analysis, the most suitable signs for distinguishing separate ploidal levels were chosen. Acquired results and experience from the field show, that very easily recognizable specimen, is 6x cytotype. Recognizing other cytotypes is complicated while in field.

**Keywords:** *Allium oleraceum*, polyploidy, cytotype, morphology

**Number of pages:** 67

**Number of appendices: 8**

**Language: Czech**

# OBSAH

<b>1. Úvod</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Polyploidie</b>	<b>1</b>
1.1.1 Typy polyploidie a polyploidů	2
1.1.2 Rozlišení polyploidie	3
1.1.3 Vlastnosti polyploidů	5
<b>2. METODIKA</b>	<b>9</b>
<b>2.1 Studovaný druh</b>	<b>9</b>
<b>2.2 Srovnání morfologických a anatomických znaků cytotypů <i>Allium oleraceum</i>: studovaný materiál</b>	<b>10</b>
<b>2.3 Stanovení DNA ploidní úrovně vzorků pomocí průtokové cytometrie</b>	<b>12</b>
<b>2.4 Statistická analýza</b>	<b>16</b>
<b>2.5 Seznam použitých zkratk ve statistických analýzách</b>	<b>18</b>
<b>3. VÝSLEDKY</b>	<b>19</b>
<b>3.1 Srovnání anatomických a morfologických znaků pěti cytotypů <i>Allium oleraceum</i>: jednorozměrné analýzy</b>	<b>19</b>
<b>3.2 Srovnání anatomických a morfologických znaků pěti cytotypů <i>Allium oleraceum</i>: mnohorozměrné analýzy</b>	<b>36</b>
3.2.1 PCA analýza anatomických a morfologických znaků	36
3.2.2 Diskriminační analýza anatomických a morfologických znaků	45
3.2.2.1 Analýza A (průměrné hodnoty anatomických a morfologických znaků bez znaků na květech pro jedince z 3x, 4x, 5x, 6x a 7x cytotypu)	45
3.2.2.2 Analýza B (průměrné populační hodnoty anatomických a morfologických znaků bez znaků na květech pro populace 3x, 4x, 5x, 6x a 7x cytotypů)	47
3.2.2.3 Analýza C (průměrné hodnoty anatomických a morfologických znaků pro jedince z 3x, 4x, 5x, 6x a 7x cytotypu)	49
3.2.2.4 Analýza D (průměrné populační hodnoty anatomických a morfologických znaků pro populace 3x, 4x, 5x, 6x a 7x cytotypů)	51

<b>4. DISKUSE</b>	<b>53</b>
<b>4.1 Zhodnocení variability anatomických a morfologických znaků pěti     cytotypů (2n = 3x, 4x, 5x, 6x a 7x) <i>A. oleraceum</i></b>	<b>53</b>
<b>4.2 PCA a diskriminační analýza anatomických a morfologických znaků pěti     cytotypů (2n = 3x, 4x, 5x, 6x a 7x) <i>A. oleraceum</i></b>	<b>57</b>
<b>5. ZÁVĚR</b>	<b>61</b>
<b>6. POUŽITÁ LITERATURA</b>	<b>64</b>
<b>PŘÍLOHY</b>	



# 1. ÚVOD

## 1.1 Polyploidie

Polyploidie nebo také genomová multiplikace je stav, kdy se v jádrech diploidních somatických buněk nacházejí více než dvě normální chromozomové sady (Kováčik 1983). Nejnižším stupněm polyploidie je triploidie. K tomuto jevu dochází v procesu tzv. polyploidizace, přičemž jedinec vznikající polyploidizací se nazývá polyploid. Polyploidii společně s haploidii a aneuploidii řadíme ke genomovým mutacím (Kučera 1979; Lewis 1980; Meyers & Levin 2006; Suda 2009).

Pojem polyploidní byl poprvé použit již na počátku 20. století. Zvýšený počet chromozomových sad v somatických buňkách rostlin někteří vědci zpočátku považovali za výsledek tzv. „gigas mutace“. Až ve 20. letech se podařilo uměle vytvořit a popsat polyploida u rajčete jedlého (*Lycopersicon esculentum*) a příbuzného lilku černého (*Solanum nigrum*) a tím dokázat, že ke změně počtu chromozomových sad došlo během polyploidního procesu (Briggs & Walters 2001).

Stupeň polyploidizace ve velké míře ovlivňuje nejen genetické, ale i morfologické, anatomické, fyziologické a ekologické vlastnosti rostliny, jež mají vliv na její růst, přežití, rozmnožování a šíření (Grant 1981; Otto & Whitton 2000). Polyploidizaci považujeme za jednu z hlavních sil v evoluci krytosemenných rostlin, jde o nejvýznamnější mechanismus sympatrické speciace, během které nový druh vzniká v prostředí druhu rodičovského ve velmi krátké době, neboli skokově (Grant 1981; Briggs & Walters 2001; Ramsey & Schemske 1998).

Celkový počet chromozomů odpovídá ve většině rostlinných rodů prostému násobku nejmenšího základního chromozomového čísla „x“, např. druhy z rodu lilek (*Solanum*) mají  $x = 12$ , přičemž  $2n = 24, 36, 48, 60, 72, 96, 120$  a  $144$ . V rodě *Solanum* se tedy vyskytují diploidní až 12ploidní rostliny. Nejvyšší počet chromozomů u dvouděložných rostlin byl zaznamenán v rodě *Sedum* (*S. suaveolens*), kde  $2n = 640$ , jde asi o 80ploidní druh, u rostlin jednoděložných u druhu *Voaniola guardii* ( $2n =$  asi 596, přibližně jde o 50ploidní druh). Vůbec největší počet chromozomů ( $2n = 1440$ ) je znám u tropické kapradiny *Ophioglossum reticulatum* (Suda 2009).

Polyploidní efekt lze experimentálně navodit tepelným šokem, častěji se ale používá alkaloid kolchicin. Tento mitotický jed, inhibitor dělicího vřeténka, brání

normálnímu rozchodu chromozomů při mitóze, tím může dojít k vytvoření polyploidní buňky, která se může následně podílet na tvorbě polyploidních semen. Uměle navozená polyploidizace má v současné době velký význam ve šlechtění rostlin (Grant 1981; Briggs & Walters 2001).

Už od počátku 20. století se vědci pokoušejí odhalit nejen původ polyploidů, ale také jejich proměnlivost a evoluční potenciál (Briggs & Walters 2001). V nejstarších studiích se k experimentálnímu výzkumu polyploidie používaly cytogenetické a chemické postupy, v současnosti mají v této problematice největší význam molekulárně-biologické metody, zejména FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) a její varianta GISH (Genome In Situ Hybridization) či techniky průtokové cytometrie.

### 1.1.1 Typy polyploidie a polyploidů

Podle počtu chromozomových sad v jádře buňky můžeme polyploidii rozdělit na tri- (3), tetra- (4), penta- (5), okta- (8), dekaploidii (10) apod. (kapitola 2.1). Pokud je v jádře lichý počet chromozomových sad (genomů) mluvíme o anortoploidii, při sudém počtu o ortoploidii. Polyploidy můžeme dále rozlišit dle toho, zda zmnožené chromozomové sady pochází pouze od jednoho nebo od dvou a více druhů, na 2 hlavní skupiny: (1) autopolyploidi vznikající zmnožením sad chromozomů v rámci jednoho a téhož druhu, kdy z diploidního jedince (AA) může být zdvojením počtu chromozomů vytvořen homologický autotetraploid (AAAA). Autopolyploidie bývá často provázena nepravidelnostmi v meiotickém dělení, dále značným výskytem aneuploidie; (2) allopolyploidi vznikající hybridizací mezi dvěma nebo postupně i více různými druhy, tím dochází ke kombinaci vlastností různých individuí, takoví kříženci bývají díky nehomologii genomů rodičů sterilní, k obnově fertility po hybridizaci je nutná polyploidizace, u evolučně ustálených allopolyploidů bývá meióza pravidelná. V rámci cévnatých rostlin bývala allopolyploidie považována za běžnější jev, poslední studie však stále více ukazují, že proces autopolyploidie je častější než se předpokládalo. Výzkumy poukazují především na skutečnost, že ve stresovém prostředí (herbivoři, mráz, nedostatek vody a živin) se pro duplikaci genetického materiálu uplatní spíše jednodušší autopolyploidní způsob (Grant 1981; Briggs & Walters 2001; Levin 2002; Skalická 2005; Parisod et al. 2010). Grant (1981) označuje toto dělení jako „základní“.

Uvedené členění přirozeně vzniklých polyploidů je některými autory odmítáno a považováno za sporné. Ti na základě genetických a cytogenetických kritérií rozlišují až 4 typy polyploidů. Jejich názory jsou namísto, ve skutečnosti se v procesu polyploidizace vyskytuje ještě několik dalších „mezistupňů“. Mezi auto- a allopolyploidy existují různé přechodné formy, např. autoalloplodie, amfiplodie, segmentovaná allopolyploidie apod. (Grant 1981; Kučera 1979). Pro lepší pochopení tohoto složitého jevu se nejvíce používá výše uvedené základní členění na vnitrodruhovou a mezidruhovou polyploidii (Grant 1981).

Polyploidi mohou tedy vznikat během mitotické, zygotické a meiotické cesty. K mitotické polyploidii dochází vlivem zdvojení počtu chromozomů somatické buňky, zygotická je způsobena zdvojením počtu chromozomů bez prvního dělení, k meiotické polyploidii při vynechání redukce během tvorbě gamet (Kováčik 1983).

Polyploidy můžeme klasifikovat i dle jejich stáří, a to na paleopolyploidy a neopolyploidy. V prvním případě jde o velmi starobylé taxony, které ve své evoluční historii sice prošly polyploidizací, dnes se ale svými vlastnostmi jeví jako diploidi, hovoříme o tzv. rediploidizaci, během níž dochází k přeorganizování a „umlčení“ duplikované DNA. Tento proces prodělala v minulosti většina organismů včetně člověka. Za neopolyploidy považujeme evolučně velmi mladé typy polyploidů, kteří se od svých předchůdců liší svými morfologickými, cytogenetickými a fenotypovými vlastnostmi (Hilu 1993; Ramsey & Schemske 2002).

### 1.1.2 Rozšíření polyploidie

Více než sto let vědci studují počty chromozomů u různých rostlinných druhů a vytváří tzv. chromozomové atlasy. Cytogeneticko-chemické postupy i dnešní molekulární metody bezesporu dokazují, že polyploidizace je v rostlinné říši velmi častý jev. I přes všechny dostupné možnosti bádání nejsme stále schopni přesně určit, kolik polyploidů se v rostlinné říši vyskytuje. Odpověď na tuto otázku, jak se čím dál více ukazuje, není vůbec jednoduchá (Grant 1981; Briggs & Walters 2001). Botanici využívali dostupné znalosti o počtu chromozomů, na základě toho se snažili najít hranici mezi diploidním a polyploidním stavem. Každý z nich měl pro určení této hranice různá kritéria, zastoupení polyploidů se tedy značně měnilo (Suda 2009).

Řada vědců již ve 40. letech minulého století spekovala o tom, že asi polovina všech krytosemenných rostlin vytváří polyploidní linie. Stebisův (1971) odhad byl nižší, za polyploidy považoval 30–35% rostlin, ve stejném roce Grant (1971) předpokládal existenci 47% polyploidních druhů. Mezi jednoděložnými se jednalo o 58% rostlin, mezi dvouděložnými 43% (Briggs & Walters 2001). Příčinou jejich neshody bylo, že oba počítali s jinou hodnotou nejvyššího základního chromozomového čísla (Goldblatt 1980). Masterson (1994) srovnával velikosti průduchů mezi fosilními a současnými taxony, na základě toho odhadl, že 70% všech krytosemenných rostlin prošlo během své evoluce minimálně jednou polyploidizací. V posledních desetiletích je za polyploidy považováno 70–80% rostlin, z toho je přibližně 80% allopolyploidních (Leitch & Bennet 1997). Rozdíly mezi původními 30% a současnými odhady představují asi 100 tisíc druhů (Suda 2009).

V přírodě tedy převládají polyploidní formy ze zástupců krytosemenných rostlin, zejména vytrvalé byliny a trávy, méně pak jednoleté druhy a stromy (Kučera 1979). Polyploidie je značně rozšířena i u kapraďorostů, Grant (1981) u této skupiny odhaduje až 95% výskyt. Naopak u nahosemenných rostlin (cykasů, jinanů, jehličnanů) je známa méně jak u 2% všech zástupců. Většinou jde o tetraploidní rostliny (např. Ephedraceae), nejvyšší hexaploidní stupeň byl zjištěn u sekvoje vždyzelené (Khoshoo 1959; Kučera 1979; Grant 1981; Briggs & Walters 2001). Vzácně se objevuje v říši hub (Briggs & Walters 2001). Dále byla prokázána u mechů, vzácněji pak u jätrovek a hlevíků. U nižších rostlin není stále pro nedostatek informací výskyt polyploidie ještě zcela objasněn, vysoké počty chromozomů byly zaznamenány u zelených řas, méně u červených a hnědých (Grant 1981).

Lze říci, že polyploidizace je u rostlin velmi častým a významným dějem, k němuž dochází opakovaně v různých populacích polyploidů i diploidů (Soltis & Soltis 1995; Soltis et al. 2004; Levin 2002). Na základě tohoto faktu si můžeme položit otázku o výskytu polyploidie v živočišné říši. Dřívější studie považovaly polyploidii u živočichů za vzácný a letální děj zjištěný jen u několika málo skupin (Leitch & Bennet 1997). Poslední výzkumy však ukazují, že polyploidie vykazuje častý výskyt i u živočichů, zejména u ryb a obojživelníků. Dále to potvrzuje i nedávný objev dvou polyploidních hlodavců v Argentině (Suda 2009). V evoluci živočichů, především vyšších obratlovců, se polyploidie neuplatnila především z důvodu způsobu rozmnožování, polyploidie by totiž poškodila způsob vzniku různých pohlaví. Velké změny v obsahu DNA v jádře by dále vedly

k narušení vyrovnaného systému selekcí díky ustáleným složitým biochemickým, fyziologickým, morfologickým vztahům mezi těmito složitými organismy (Kučera 1979).

### 1.1.3 Vlastnosti polyploidů

Polyploidi vznikají slučováním příbuzných i nepříbuzných genomů (kapitola 1.1.1), rozdíly mezi potencionálními „rodiči“ mohou být nepatrné až dosti veliké. Obecně platí, že polyploidní jedinci mají vyšší stupeň heterozygotnosti, větší rozmanitost alel a jsou méně náchylní na snižování genetické diverzity v důsledku příbuzenského křížení. Poskytnuté rodičovské genomy se největší měrou podílejí na vlastnostech nového polyploida. Polyploidie, jak bylo již z mnoha studií dokázáno, má přímý vliv na obsah buněčného jádra (genotyp) a následně i na celý organismus (fenotyp) vzniklé polyploidní rostliny (Levin 2002; Soltis et al. 2004, Suda 2009).

Zvyšování počtu chromozomových sad zákonitě vede ke zvětšování velikosti buněčných jader, objemu a průměru buněk a tím i ke snížení intenzity metabolických procesů. V závislosti na ploidní úrovni se mohou rostliny od sebe lišit např. průměrnou velikostí svěracích buněk průduchů a pylových zrn. Na základě této skutečnosti můžeme polyploidní rostliny rozlišovat. Obecně platí, že mají větší rozměry všech svých vegetativních a generativních částí, než jejich diploidní příbuzní (Levin 2002).

Bylo dokázáno, že duplikované genomy mohou zpomalovat rychlost růstu a ontogenetický vývoj polyploidní rostliny, to se následně projevilo změnou nástupu jednotlivých fenologických fází, např. pozdější a delší dobou kvetení. Tento proces způsobují duplikované geny FLC, které kvetení potlačují. Polyploidizace může vést až ke změně životní formy (Michaela & Amasinoa 1999; Levin 2002; Ramsey & Schemske 2002). Nedávný výzkum ukázal, že v genomech polyploidů může docházet k rychlým změnám struktury pomocí genetických a epigenetických změn (Levy & Feldman 2002; Chen 2007). Mezi ně patří především chromozomální přestavby (translokace, delecce, transpozice), odstranění sekvencí DNA a mutace. Epigenetické modifikace vedly ke změnám v genetické expresi, jež nejsou spojovány se změnami v DNA sekvencích (Chen et al. 2007). Polyploidie ovlivňuje aktivitu nejenom genů jaderných, ale i chloroplastových a mitochondriálních.

Polyploidi nesou několik kopií jednoho genomu, isoenzymové analýzy říkají, že v nich existuje velké množství nadbytečných kopií stejných genů, které mohou nahradit

v případě poškození aktivní gen, anebo časem zmutují a slouží jako základ pro tvorbu genů s jinou funkcí – tento jev má velký evoluční potenciál. Část zmíněných genů může být umlčena, jde o tzv. mlčící geny. To může vést k diploidizaci (*Pteridophyta*, *Zea*). Rostlina je sice polyploidní, ale v analýzách se díky neaktivním genům jeví jako diploidní. (Soltis & Soltis 2000, Briggs & Walters 2001).

Polyploidie dále působí i na fyziologické procesy rostlin. Duplikací genomů se snižuje obsahu fytohormonů. Bylo zjištěno, že množství auxinu u diploidních listů a stonků salátu bylo 2 až 3 krát větší než u tetraploidů. Ovlivněn je i vodní režim rostliny. Větší velikost a menší počet průduchových buněk na jednotku plochy listu a silnější kutikula, snižují rychlost transpirace. Polyploidní rostliny jsou pak odolnější vůči suchu a tím i konkurenčně zdatnější než rostliny diploidní. Polyploidie má vliv i na aktivitu fotosyntetického aparátu, polyploidní rostliny mají obecně nižší teplotní optimum a výměnu CO<sub>2</sub> na jednotku plochy listu. Rychlost fotosyntézy je snížena oproti diploidům. Naopak obsah sekundárních metabolitů, zejména alkaloidů, silic, terpenů, flavonoidů, množství enzymů a minerálních látek, bývá u polyploidů vyšší. Složení obsahových látek se může měnit. Produkce sekundárních metabolitů ovlivňuje vztah rostliny a jejího opylovače/herbivora/patogena. Bylo zjištěno, že na polyploidních rostlinách zanechává býložravý hmyz více vajíček než na rostlinách diploidních (Masterson 1994; Nuismer & Thompson 2001; Levin 2002, Thompson et al. 2004).

Polyploidie má také vliv na způsob reprodukce rostlin. Zmnožení chromozomů často vede k poškození procesů meiózy a následně k částečné či úplné sterilitě. Pokud se polyploidní rostliny nemohou či nemají podmínky pro rozmnožování klasickým pohlavním způsobem, reprodukují se nepohlavně - apomixií, během které nedochází k oplození. Potomci pak disponují stejným genotypem jako mateřská rostlina. Apomixie bývá některými autory vysvětlována jako „únik“ rostlin před neplodností. V kombinaci s polyploidii má velký adaptivní význam. Tyto mechanismy polyploidním rostlinám umožní osidlovat různě typy prostředí a tím je konkurenčně zvýhodní před rostlinami diploidními (Fowler & Levin 1984; Soltis & Soltis 2000; Briggs & Walters 2001; Levin 2002).

Souhrnně můžeme říct, že díky větší diverzitě alel jsou polyploidní jedinci odolnější vůči nepříznivým až extrémním vlivům prostředí (sucho, zima, vlhko, škůdci, patogeny), jsou schopni nepohlavně se rozmnožovat, jinak načasovat fenologické fáze, vytvářet větší semena, semenáčky a celkově mohou dorůstat větších rozměrů. Na základě těchto výhod

jsou konkurenčně zdatnější, schopnější osidlovat široké spektrum stanovišť či zaujímat jiné niky v porovnání s jejich diploidními předky. Duplikované genomy tedy zajišťují polyploidním liniím evoluční úspěch. Výzkumy potvrzují, že proces polyploidizace může druhovou diverzitu zvyšovat (Grant 1981; Levin 2002).

Za nevýhody polyploidie považujeme složitou a komplikacemi provázenou mitózu a meiozu, chromozomální přestavby, pomalejší klíčivost semen či možnost vzniku neplodného potomstva. Nově vzniklý polyploid se musí zpočátku potýkat s konkurencí více zastoupených diploidů (Ramsey & Schemske 2002; Levin 2002; Comai 2005).

Již ve 20. letech minulého století švédští cytologové zpozorovali zvýšený výskyt polyploidů na severní polokouli. Jev byl dále vysvětlován tím, že polyploidní rostliny dokážou díky značné rozmanitosti alel čelit extrémním podmínkám, dávají přednost vyšším zeměpisným šířkám a nadmořským výškám v porovnání s diploidními předky (Grant 1981). Na rozšíření polyploidů, jak bylo později dokázáno, měly vliv rozsáhlé geologické události (formování pohoří) probíhající od 2. poloviny pliocénu do pleistocénu spojené s nepřetržitými klimatickými změnami (Grant 1981; Stebbins 1985; Brochman et al. 2004). Mnoho rostlin na tyto zásahy reagovalo změnou svého rozšíření. V interglaciálech se taxony šířily do vyšších severských oblastí, v období glaciálu zpět do nižších jižních poloh. Často během tohoto „putování“ docházelo k hybridizaci a následnému vzniku polyploidních typů rostlin (Abbot & Brochmann 2003; Brochman et al. 2004).

Na základě výše uvedené problematiky se tato diplomová práce zabývá procesem polyploidizace a jeho přímým vlivem na anatomické a morfologické znaky rostlin. Pro výzkum byl vybrán polyploidní komplex evropských a českých populací česneku planého (*Allium oleraceum* L.).

V tomto výzkumu byly stanoveny tyto cíle práce:

1. Pomocí studia vybraných morfologických a anatomických znaků na zapěstovaných evropských populacích v podmínkách pokusné zahrady prozkoumat variabilitu cytotypů *Allium oleraceum* ( $2n = 3x, 4x, 5x, 6x, 7x$ ), která by měla odrážet genetické rozdíly mezi populacemi anebo cytotypy.
2. Provést diskriminační analýzu morfologických a anatomických znaků a zjistit, zdali je možné cytotypy rozlišit, a zdali je možné případné morfologické rozdíly taxonomicky hodnotit.



## 2. METODIKA

### 2.1 Studovaný druh

Česnek planý (*Allium oleraceum* L.), je řazen do sekce *Codonoprasum* REICHENB., podrodu *Allium*, rodu *Allium* L., čeledi *Alliaceae* J. AGARDH (Krahulec & Duchoslav 2010). Taxonomické zařazení rodu *Allium* a jeho příbuzným skupinám bylo po dlouhou dobu tématem řady diskuzí (Fritsch & Friesen 2002). S rozvojem molekulárních metod stále dochází k upřesnění systematické hodnoty a fylogenetických vztahů u řady taxonů. Dle Hanelta et al. (1992) můžeme v rodě rozlišit 6 podrodů (*Rhizirideum*, *Ameralium*, *Melanocrommyum*, *Allium*, *Bromatorrhiza* a *Caloscordum*) a 50 sekcí.

Jde o vytrvalý 25–100 cm vysoký geofyt vonící po česneku mdlé chuti s podzemní blanitou cibulí kulovitěho tvaru o průměrné velikosti 10–15 mm s nepravidelně se tvořícími asi 10 mm dceřinými cibulkami v nažloutlé šupině. Na rostlině obvykle vyrůstá 2–5 čárkovitých či nitkovitých listů, plochých či mírně zaoblených, dosahují až 30 cm délky a 0,5 m šířky. Lodyha může být do poloviny zahalena listovými pochvami (Krahulec 2002, Krahulec & Duchoslav 2010).

Květenstvím je polokulatý až kulatý lichookolík před rozkvetem uzavřený v dvoucípém dlouze protaženém vytrvávajícím toulci, tvořený květy v počtu 0–50, s pacibulkami vřetenovitěho tvaru. Pacibulky převažují nad květy. Květní stopky zakončené různě barevnými zvonkovitými květy (bělavé, růžové, hnědé, nazelenavé) jsou 15–60 mm nestejně dlouhé na okraji převislé, ve středu vzpřímené. Vnější okvětní lístky jsou úzce vejčité a tmavší, vnitřní eliptické světlejší barvy vždy s výrazněji zbarvenou středovou žilkou. Tyčinky jsou kratší nebo stejně dlouhé jako okvěti, nitky o délce 4,5–5,5 mm prašníky žluté i červené. Kveté od počátku července do září. Plodem je zřídka se tvořící tobolka (Dostál et al. 1989, Krahulec & Duchoslav 2010).

Někteří jedinci druhu *Allium oleraceum* mohou v době kvetení postrádat květy, to společně se zaschnutými listy komplikuje případné určení. Rozlišení druhu v nekvetoucím stavu se pak opírá o jiné znaky jako je tvar pacibulek, barva dceřiných cibulí či ztloustnutí báze stonku. Určení druhu v přírodě na základě makroskopických znaků bývá často problematické, u velké části populace se musíme opírat o znaky na epidermis listu, jako je např. přítomnost či nepřítomnost papil, ponoření průduchů. Pro *A. oleraceum* jsou charakteristické vnější epidermální buňky s papilami a ponořené průduchy. Tyto znaky

odlišují *A. oleraceum* od často zaměnitelných druhů *A. vineale* a *A. carinatum* (Krahulec 1977). Vnitrodruhová variabilita je velmi nízká, projevuje se v odlišném tvaru epidermálních buněk. Stejný typ epidermis byl pozorován u blízce příbuzných druhů (Krahulec 1980).

Druh je rozšířen od Skandinávie po oblast Středomoří, hojný výskyt vykazuje především ve střední, východní a západní Evropě. Nejčastěji osidluje různé typy listnatých lesů, křoviny, suché trávníky, mezofilní louky, příkopy cest a okraje polí, kde je za posledních 100 let značně ustupujícím taxonem, naopak se mu daří v antropicky podmíněných společenstvech (akátiny). Roste na písčitohlinitých až jílovitých, vlhkých až suchých minerálně středně zásobených půdách. Vytváří často rozvolněné porosty (Duchoslav 2001; Krahulec & Duchoslav 2010).

Pro rod *Allium* je velmi častý polyploidizační proces, díky němuž bývá mnoho druhů přechodných či není jasné, do které sekce náleží, takové druhy se často obtížně určují (Hanelt 1996). U *Allium oleraceum* byly rozlišeny cytotypy od triploidní po oktoploidní úroveň se základním chromozomovým číslem  $x = 8$  (Duchoslav et al. 2010; M. Duchoslav et al., osobní sdělení). V Evropě převažují populace tetra-, penta- a hexaploidů, triploidní rostliny byly zaznamenány pouze ve východní části Evropy, konkrétně na území Maďarska, Ukrajiny a Ruska. Nejmenší výskyt vykazují populace hepta- a oktoploidní (Šafařová 2011).

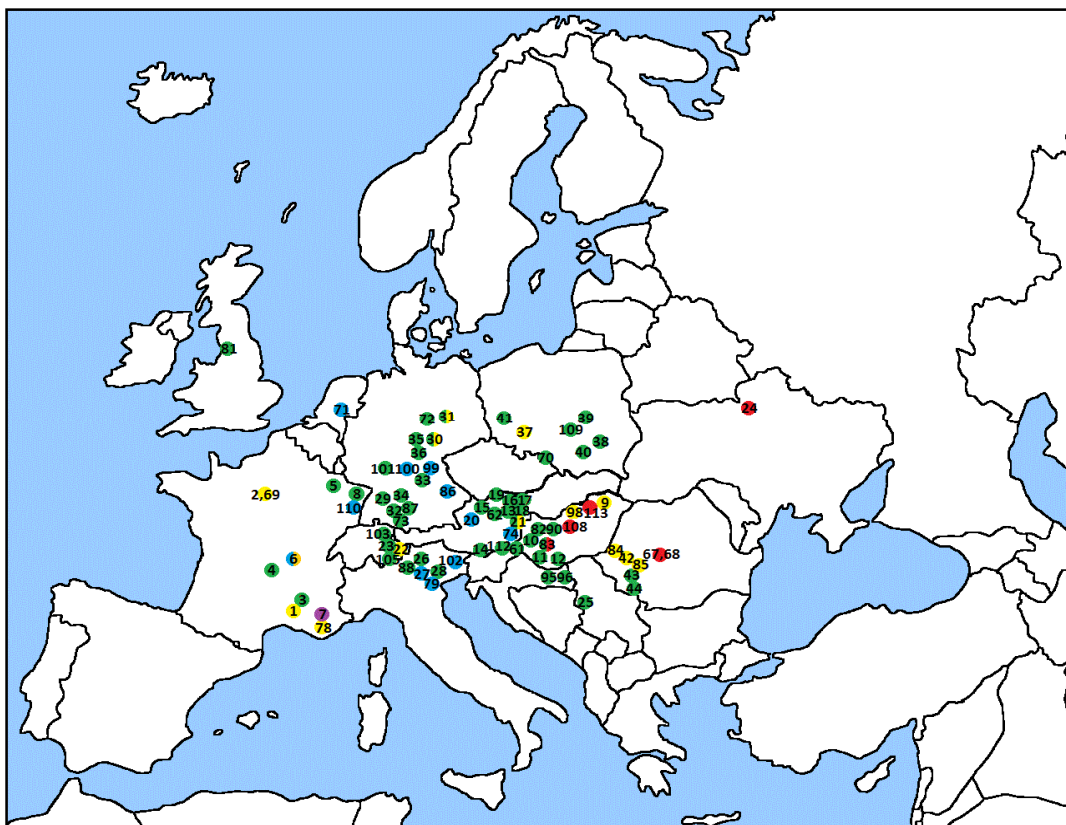
## **2.2 Srovnání morfologických a anatomických znaků cytotypů *Allium oleraceum*: studovaný materiál**

Tato práce vychází z metodiky prací Ohryzka (Ohryzek 2007) a M. Fialové (nepublikováno), kteří se v předešlých letech rovněž zabývali srovnávací morfologií a anatomií polyploidního komplexu *Allium oleraceum*. Ohryzek v letech 2003 a 2004 studoval 120 rostlin z 25 českých populací, Fialová se v letech 2007, 2008 a 2009 zabývala 52 evropskými populacemi (220 vzorků). Já jsem v roce 2011 hodnotila kolem 270 rostlin z 61 evropských populací. Celkově bylo v této práci tedy zanalyzováno kolem 600 jedinců ze 138 populací *Allium oleraceum* (obrázky 1, 2).

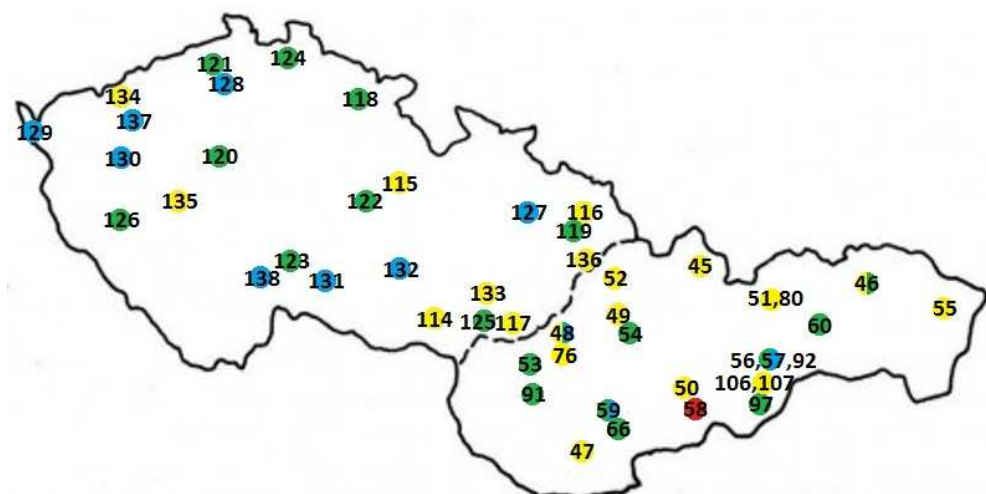
Pro srovnání morfologicko-anatomických znaků vybraných cytotypů česneku planého jsem využila zahraniční vzorky populací zapěstované za standardizovaných podmínek na pokusné zahradě katedry botaniky PŘF UP v Olomouci – Holici. Šlo

o evropské populace *Allium oleraceum* dovezené z různých míst Evropy v průběhu let 2004–2010. Z tohoto souboru vzorků byly vybrány populace zastupující různé cytotypy daného druhu tak, aby byla maximálně pokryta geografická variabilita.

**Obrázek 1.** Mapa Evropy znázorňující jednotlivé lokality odběru populací *Allium oleraceum* analyzovaných v této práci. Kolečka na mapách znázorňují populace, jejich barva příslušný cytotyp pro populaci (červeně- 3x; žlutě- 4x; zeleně- 5x; modře- 6x; fialově- 7x), čísla pak označení populací. Podrobnosti o lokalitách jsou uvedeny v přehledových tabulkách (příloha 1-3). Populace odebrané na území České a Slovenské republiky jsou z důvodu přehlednosti znázorněny v obrázku 2.



**Obrázek 2.** Mapa České a Slovenské republiky znázorňující jednotlivé lokality odběru použitých populací *Allium oleraceum*, barva kolečka znázorňuje ploidii populace (červeně- 3x; žlutě- 4x; zeleně- 5x; modře- 6x; fialově- 7x). Přehledová mapa Evropy pouze s vyznačenými místy odběru všech populací a barevně znázorněnými ploidii je uvedena v příloze 4.



## 2.3 Stanovení DNA ploidní úrovně vzorků pomocí průtokové cytometrie

Zahraniční populace rodu *Allium* byly na pokusnou zahradu dováženy a vysazovány od roku 2004, přičemž jim následně byla pomocí průtokové cytometrie stanovena ploidní úroveň. V této práci bylo nutné, vzhledem k rozmnožovacím způsobům vybraného druhu, opětovně ověřit ploidii všech zkoumaných rostlin. Postup stanovení DNA ploidní úrovně vzorků pomocí průtokové cytometrie vycházel z metodiky Šafářové (Šafářová 2011).

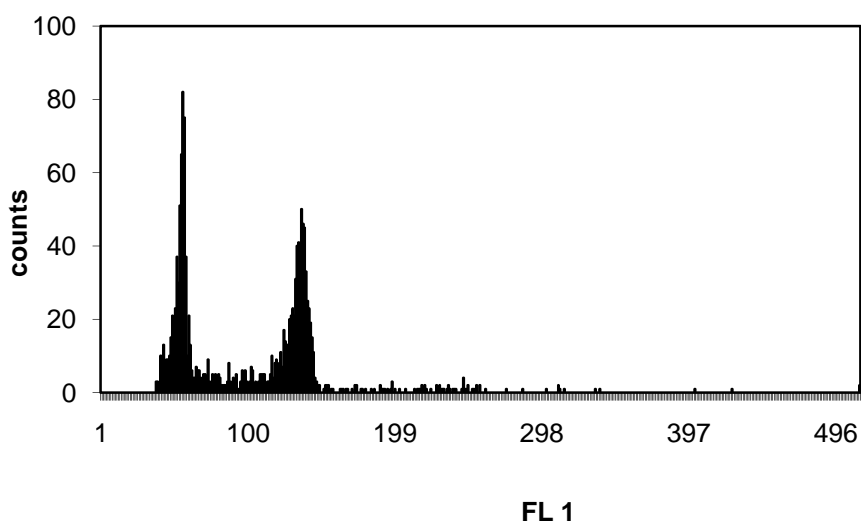
Jako genetický materiál pro stanovení ploidní úrovně jsem použila pacibulky odebrané z každé mateřské rostliny koncem léta 2011 (kapitola 2.1). Ploidie těchto propagulí se shoduje s ploidií mateřské rostliny. Díky přítomnosti meristému uvnitř pacibulek bylo možné samotné ověření provést v průběhu celého následujícího období.

Samotné měření probíhalo tak, že z vybrané větší pacibulky dané mateřské rostliny se nejprve odstranila povrchová ochranná šupina. Pacibulku umístěnou na Petriho misce jsem pomocí žiletky podélně přepůlila a za pomoci hrany žiletky z jejího středu odebrala pletivo o velikosti asi 0,5cm<sup>2</sup>. K tomu rostlinnému byl přidán stejný díl standardu o známé velikosti jaderného genomu a 1ml vychlazeného hypotonického pufru (pufr LB01). Směs jsem ostrou žiletkou nadrobno nasekala a zhomogenizovala, tím došlo k uvolnění pro měření potřebných jader z rostlinného pletiva. Získanou suspenzi jsem odpipetovala a přefiltrovala do připravené popsané kyvety s 300μl uvedeného pufru. Filtrační tkanina zachytila nepotřebné buněčné části a na dně kyvety zůstala požadovaná suspenze jader. Do zkumavky jsem přidala 50μl fluorescenčního barviva (roztok propidium jodidu). Směs jsem krátce zcentrifugovala, kyvetu jsem pak umístila na stojan, přikryla alobalem, aby nedošlo ke kontaminaci a následnému obarvení nežádoucích částic (prach), a během několik minut došlo k navázání barviva na DNA. Tímto způsobem jsem získala obarvená buněčná jádra připravena pro měření v průtokovém cytometru.

Úroveň ploidie byla stanovena na lineární škále na základě poměrů polohy (mean) mezi píky, tzn. mezi vzdáleností píku standardu a vzorku (obrázek 3). Výsledný index určil příslušnou DNA-ploidní úroveň vzorku. Jednotlivé vzorky jsem třídila na základě klasifikace vytvořené Šafářovou (Šafářová & Duchoslav 2010; Šafářová 2011). Triploidní rostliny byly zaznamenány v rozsahu indexu od 1,1 – 1,3; tetraploidní 1,4 – 1,6; pentaploidní 1,8 – 1,9; hexaploidní 2,1 – 2,3, heptaploidní 2,5 – 2,8 a oktoploidní jedinci se pohybovali v hodnotách cca 2,9. Velký význam pro třídění rostlin měl údaj CV (hodnota kvality měření). Pokud mělo CV nežádoucí hodnotu, bylo nutné vzorek znovu proměřit.

V některých případech bylo možné provést gating (ořez) špatného píku. Měl-li naopak pík standardu a vzorku úzký, rovný a nepřerušovaný tvar naznačovalo to tomu, že vzorek byl dobře připraven tudíž i hodnoty měření byly pozitivní. Ve většině případů bylo u každého analyzovaného vzorku změřeno 1500 jader. Jako standard pro měření byla použita část mladého pletiva z *Triticum aestivum* cv. 'Saxana'  $2C = 34,24$  pg. Pracovala jsem s průtokovým cytometrem značky CyFlow ML (Partec GmbH, Münster, Germany). Přístroj byl vždy před začátkem měření kalibrován s *Hordeum vulgare*  $2C = 10,43$  pg (Doležel et al. 1989).

**Obrázek 3.** Grafický výstup z měření průtokového cytometru CyFlow ML (Germany). Na ose y je počet analyzovaných částic, na ose x pak kanálková škála, dle které jsou hodnoceny jednotlivé polohy píků. Vlevo je zobrazen pík standardu (*Triticum aestivum*), vpravo pík 7x cytotypu *Allium oleraceum*. Výsledkové grafy pro ostatní cytotypy jsou uvedeny v příloze (příloha 8).



Morfologické a anatomické znaky populací jsem sledovala v průběhu vegetační sezóny 2011. Z každé zapěstované populace *Allium oleraceum* jsem náhodně vybírala, pokud to bylo možné, vždy pět rostlin. Na každém jedinci jsem pak hodnotila všechny níže uvedené znaky, které se z větší části shodovaly se znaky měřenými Ohryzkem a Fialovou (viz tabulka 1). Kvůli typické fenologii rodu *Allium* nemohlo být morfologické a anatomické pozorování realizováno ani v terénu ani najednou, bylo tudíž rozděleno do několika časově oddělených etap. První měření se uskutečnilo v průběhu června a poslední (tzn. odběr celé rostliny v době květu a zrání pacibulek) na konci srpna 2011. Vybraným rostlinám byl pro možná další hodnocení a jejich zpětnou identifikaci přidělen specifický kód. Všechny rostliny byly měřeny ve stejné vývojové fázi.

**Tabulka 1.** Přehledová tabulka znázorňující všechny měřené morfologické a anatomické znaky na každém sledovaném jedinci. Barevně jsou zvýrazněny ty znaky, které nebyly v dalších letech dále měřeny. Třídění pacibulek do tří skupin dle velikosti se později ukázal jako nepřesný znak pro analýzu. Průměr průduchů a hustota papil na apexu byly měřeny pouze Ohryzkem ve vřbec prvním morfologicko-anatomickém hodnocení a vzhledem k velké variabilitě bylo v dalších měřeních od zjišťování těchto znaků ustoupeno.

	<b>Měřené znaky</b>	<b>Jednotka</b>	<b>Ohryzek</b>	<b>Fialová</b>	<b>Burešová</b>
Měřené morfologické znaky	Výška rostlin bez toulce	cm	ano	ano	ano
	Výška rostlin s toulcem	cm	ano	ano	ano
	Počet zelených listů	ks	ano	ano	ano
	Poměr délky toulce: výšce rostliny		ano	ano	ano
	Počet všech list	ks	ano	ano	ano
	Délka listu	mm	ano	ano	ano
	Šířka listu	mm	ano	ano	ano
	Poměr šířky: délce listu		ano	ano	ano
	Plocha listu	mm <sup>2</sup>	ano	ano	ano
	Délka vnějších okvětních lístků	mm	ano	ano	ano
	Délka vnitřních okvětních lístků	mm	ano	ano	ano
	Šířka vnějších okvětních lístků	mm	ano	ano	ano
	Šířka vnitřních okvětních lístků	mm	ano	ano	ano
	Poměr šířky: délce vnějších OL		ano	ano	ano
	Poměr šířky: délce vnitřních OL		ano	ano	ano
	Délka čnělky	mm	ano	ano	ano
	Délka semeníku	mm	ano	ano	ano
	Počet pacibulek malých	ks	ano	NE	NE
	Počet pacibulek středních	ks	ano	NE	NE
	Počet pacibulek velkých	ks	ano	NE	NE
	Celkový počet pacibulek	ks	ano	ano	ano
	Počet květů	ks	ano	ano	ano
	Počet semen	ks	ano	ano	NE
Průměrný počet semen	ks	ano	NE	NE	
Poměr počtu květů: počtu pacibulek		ano	ano	ano	
Měřené anatomické parametry	Průměr průduchů na apexu	μm	ano	NE	NE
	Průměr průduchů ve střední části listu	μm	ano	ano	ano
	Průměr průduchů na bázi listu	μm	ano	ano	ano
	Hustota papil na apexu	ks/2mm	ano	NE	NE
	Hustota papil ve střední části listu	ks/2mm	ano	ano	ano
	Hustota papil na bázi listu	ks/2mm	ano	ano	ano

S výzkumem jsem začala první týden v červnu 2011. Každou označenou rostlinu jsem nejprve dvojím způsobem změřila (výška celé rostliny po vrchol toulce, výška rostliny po bázi toulce), následně jsem na ní spočítala všechny přítomné listy (živé, mrtvé, poškozené) a zvláště ty živé. Z každého jedince jsem následně za pomoci nůžek odebírala dva vitální listy. Odejmut byl vždy list nejhornější, který byl označen písmenem H (horní list), a druhý nejhornější list pojmenovaný jako D(dolní list). Listy jsem vložila do předem popsaného papírového sáčku. Čerstvým listům byla změřena délka a v nejširším místě

šířka. Listem je pro účely této práce myšlena plochá až oblá část čepele od ústí pochvy po špičku čepele.

Dalšími znaky, které jsem na listech sledovala, byl typ papilnatosti a hustota papil na hraně listu. K tomuto zhodnocení byla použita binokulární lupa. Na pracovní pole lupy jsem si položila čistý bílý papír a těsně nad ním jsem pak držela list natočený spodní stranou dolů. Tímto způsobem byla zajištěna dobrá viditelnost papil. Pro zhodnocení způsobu rozmístění papil na délce listu jsem využila pěti stupňové škály papilnatosti (příloha 5) vytvořené Ohryzkem (Ohryzek 2007). K listu jsem dále přiložila milimetrové měřítko a počítala jsem počet papil na 2mm měřítko. Papily byly počítány na deseti náhodně vybraných místech na hraně listu a to jak na bázi, tak i ve středu obou listů (H, D).

Následně byl proveden otisk průduchů listu, dle metodiky otiskových preparátů (Pazourek 1963). Na rub listu jsem nanesla tenkou vrstvičku bezbarvého rychleschnoucího laku, ta se nechala dostatečně zaschnout. Nalakovaná část listu se přilepila bezbarvou lepicí izolepou, která se i s lakem sloupnula z listu a nalepila se na připravené a označené podložní sklíčko. Otisk jsem udělala u báze i středu horního a dolního listu. Získané otisky průduchových buněk byly dále pozorovány pod mikroskopem při zvětšení 400x, průduchy byly zdokumentovány pomocí mikrografického systému Olympus DP70 zabudovaného do mikroskopu (příloha 6). Z každého otisku bylo vyfotografováno 4–5 snímků. Cílem bylo získat 20 dobře zřetelných a nepoškozených průduchů. Tímto způsobem zdokumentované průduchy jsem následně zpracovala v programu Image J, ve kterém jsem měřila největší možnou délku průduchů.

Od poloviny července až do půlky srpna 2011 byly z rostlin odebírány pro další morfologická hodnocení květy. Z každého jedince bylo zapotřebí získat 5 květů. U všech rostlin to ale nebylo možné, některé populace měly velmi málo anebo dokonce žádné květy, v květenství byly často pouze pacibulky. Květy byly odebírány ve fázi největší délky čnělky, kdy čnělka přesahovala délku okvětních lístků a byla kyjovitě zakončena. Postupně nakvétající květy byly v té nejvhodnější fázi z jedince odstřiženy a za pomocí pinzety vloženy do skleněných uzávěrem opatřených a označených epruвет. Zkumavky jsem ukládala, z důvodu zabránit nežádoucímu vadnutí květů, do polystyrenového boxu s ledem. Po přenesení květů do laboratoře byly opět uloženy do chladových podmínek (do lednice). V laboratoři došlo, za pomocí pinzety, k jejich postupnému rozebrání, a to

tak, že jednotlivé okvětní lístky jsem nanášela na čistý bílý papír předem potřeny lepidlem. Lístky na něj bylo nutné dobře zafixovat a důkladně je narovnat. V jedné řadě jsem lepila okvětní lístky vnější, pod ní lístky vnitřní. Čnělka a semeník byly také nalepeny, pro lepší viditelnost na černou skvrnu předem vytvořenou lihovým fixem (příloha 7). Tímto způsobem rozebraný a nalepený květ byl opět popsán konkrétním kódem, který byl rostlině přidělen. Archy papíru jsem ihned po nalepení skenovala a ukládala do formátu jpg, při zvětšení 400 dpi. K okraji skenovaného papíru byl vždy přiložen milimetrový papír, který posloužil jako měřítko. U okvětních lístků jsem v uvedeném programu měřila délku i šířku, u semeníku a čnělky délku.

Po získání potřebného či možného množství květů z každého pozorovaného jedince byla každá rostlina z pozemku za pomoci kancelářských nůžek odebrána. Odběr musel být prováděn velmi opatrně, tak aby opad pacibulek byl co nejmenší. Tyto rostliny byly ukládány do označených papírových sáčků a následně do papírové krabice, kde jsem je skladovala v suchých podmínkách. Sběr probíhal na konci srpna 2011. V závěrečné fázi byly spočítány všechny pacibulky a květy.

## 2.4 Statistická analýza

Pro zhodnocení získaných dat byly využity jednorozměrné a vícerozměrné analýzy v programech Statistica 10, NCSS 2001 a Canoco for Windows 4.5.

Jednorozměrné analýzy byly prováděny ve třech odlišných designech v závislosti na způsobu získávání hodnot jednotlivých znaků. V případě pouze jednoho údaje na rostlinu (např. výška) byla provedena hierarchická ANOVA, kde nejvyšší faktor (ploidie) byl s pevným efektem a podřazený faktor (ID populace) byl s náhodným efektem. V případě více měření na jedince (např. délka průduchů) byl model doplněn o další podřazený faktor (ID jedinec) s náhodným efektem. V případě signifikantního výsledku na úrovni faktoru ploidie byl použit mnohonásobný srovnávací test pro zjištění rozdílů mezi jednotlivými ploidními stupni (Tukey test).

V mnohorozměrných statistických analýzách anatomicko-morfologických údajů byla použita ordinační technika PCA (principal components analysis). Ordinační diagramy PCA zobrazují celkové rozložení dat v prostoru vymezeném prvními dvěma osami, ty vyjadřují směr největší variability v datovém souboru (Herben & Münzbergová 2002). Znaky byly před analýzou standardizovány k nulovému průměru a jednotkové varianci.



Ve výsledných diagramech jsou barevně rozlišeny příslušné ploidní úrovně a dále jsou zobrazeny vektory zeměpisné délky a šířky, reprezentující korelaci těchto geografických proměnných s příslušnými ordinačními osami.

V dalším kroku byla použita kanonická diskriminační analýza (canonical discriminant analysis, CDA) zjišťující, do jaké míry je možné od sebe odlišit jednotlivé cytotypy ( $2n = 3x, 4x, 5x, 6x, 7x$ ) na základě dostupných znaků a které ze znaků k tomuto odlišení přispívají největší měrou (Marhold & Suda 2002).

Obě tyto metody byly využity pro analýzu 4 souborů dat podle obsažených znaků u měřených jedinců. Byly provedeny analýzy, jak na úrovni jedinců, tak na úrovni populací (zde byly použity průměry znaku na populaci), ve kterých byly hodnoceny všechny měřené vegetativní a generativní znaky (viz tabulka 1). Celkově bylo analyzováno 30 znaků. V samostatných analýzách byly dále hodnoceny i všechny znaky bez znaků na květních částech pro populace i jedince, protože velká část hexaploidních rostlin neprodukovala květy - 21 znaků.

## 2.5 Seznam použitých zkratk ve statistických analýzách

Zkratka	Měřený znak	Jednotka
VBT	Výška rostliny bez toulce	cm
PL	Počet všech listů	ks
DL_H	Délka horního listu	mm
SR_H	Šířka horního listu	mm
P_SDHL	Poměr šířky: délce horního listu	
PP_SH	Průměr průduchů ve střední části horního listu	μm
PP_BH	Průměr průduchů na bázi horního listu	μm
HP_SH	Hustota papil ve střední části horního listu	ks/2mm
HP_BH	Hustota papil na bázi horního listu	ks/2mm
DVP	Délka vnějších okvětních lístků	mm
DVNIP	Délka vnitřních okvětních lístků	mm
SVP	Šířka vnějších okvětních lístku	mm
SVNIP	Šířka vnitřních okvětních lístků	mm
P_SD_VP	Poměr šířky: délce vnějších OL	
P_SD_VNIP	Poměr šířky: délce vnitřních OL	
DC	Délka čnělky	mm
DS	Délka semeníku	mm
P_DC_DS	Poměr délky čnělky: délce semeníku	
PAC	Celkový počet pacibulek	ks
KVETY	Počet květů	ks
DL_D	Délka dolního listu	mm
SR_D	Šířka dolního listu	mm
P_SHDL	Poměr šířky: délce dolního listu	
PP_SD	Průměr průduchů ve střední části dolního listu	μm
PP_BD	Průměr průduchů na bázi dolního listu	μm
HP_SD	Hustota papil ve střední části dolního listu	ks/2mm
HP_BD	Hustota papil na bázi dolního listu	ks/2mm
DT	Délka toulce	cm
P_DT_V	Poměr délky toulce: výšce rostliny	
P_KV_PAC	Poměr počtu květů: počtu pacibulek	ks

## 3 VÝSLEDKY

### 3.1 Srovnání anatomických a morfologických znaků pěti cytotypů *Allium oleraceum*: jednorozměrné analýzy

Vůbec prvními znaky, které jsem ve svém pozorování hodnotila, byla výška celé rostliny. Ta byla rozlišena na výšku rostliny po toulec a samotnou délku toulce. Dále jsem hodnotila i poměr délky toulce k výšce celé rostliny. Z testů vyplynulo, že jde o velmi variabilní znaky a to jak na úrovni jednotlivých cytotypů, tak na úrovni populací a jedinců (tabulky 2, 3, 4).

Nejvíce variabilní ve výšce rostlin bez toulce byl 5x cytotyp, naopak nejmenší variabilita byla zjištěna u 7x cytotypu. Ostatní cytotypy byly v tomto ohledu vyrovnané. Průměrná hodnota tohoto znaku se pohybovala v rozmezí asi od 27-58 cm, přičemž nejnižší byly 7x jedinci (30-38 cm), nejvyšší pak jedinci 3x a 5x (35-58 cm). Průměrná délka toulce se pak pohybovala v přibližném rozpětí od 5-16 cm, nejkratší toulec pak měl 6x cytotyp, nejdelší 3x a 5x cytotyp. Největší variabilita tohoto znaku byla zjištěna u 5x cytotypu. Výsledné poměry délky toulce k výšce rostliny byly u většiny cytotypů vyrovnané (0,15-0,24), výjimku tvořil pouze 7x cytotyp jehož poměr byl v porovnání s ostatními ploidiemi vyšší (0,23-2,6), tato odchylka mohla být způsobena nízkým počtem analyzovaných jedinců. Z výsledků mnohonásobných testů vyplynulo, že od 3x a 5x cytotypu se signifikantně nejvíce odlišuje 4x cytotyp, od 4x a 6x cytotypu pak 5x cytotyp.

V závěru této analýzy můžeme říci, že největších rozměrů dosahují zástupci 3x a 5x, nejmenších pak 4x a 6x cytotypy. K výsledkům 7x cytotypu je nutné z důvodu nízkého počtu testovaných jedinců přihlížet s rezervou.

**Tabulka 2.** Hierarchická ANOVA testující vliv faktorů cytotyp, populace na výšku rostliny bez toulce.

Faktor	DF	F	P
PLOIDIE	4	2,54	< 0,001
ID POPULACE	152	6,25	< 0,001

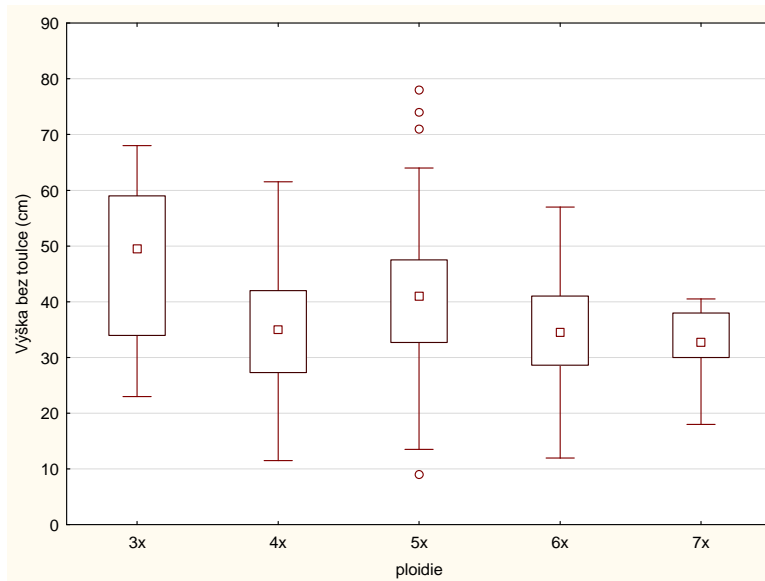
**Tabulka 3.** Hierarchická ANOVA testující vliv faktorů cytotyp, populace na délku toulce.

Faktor	DF	F	P
PLOIDIE	4	2,04	0,09
ID POPULACE	153	4,04	< 0,001

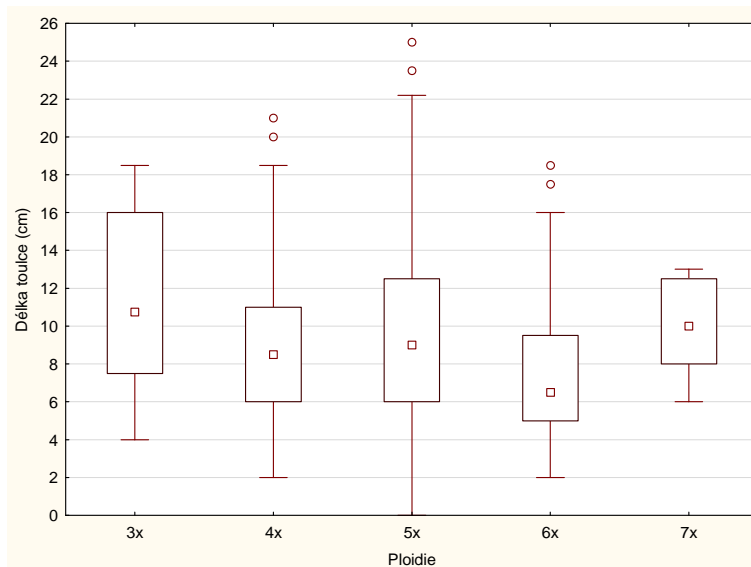
**Tabulka 4.** Hierarchická ANOVA testující vliv faktorů cytotyp, populace na poměr délky toulce k výšce rostliny.

Faktor	DF	F	P
PLOIDIE	4	1,28	0,281
ID POPULACE	153	5,45	< 0,001

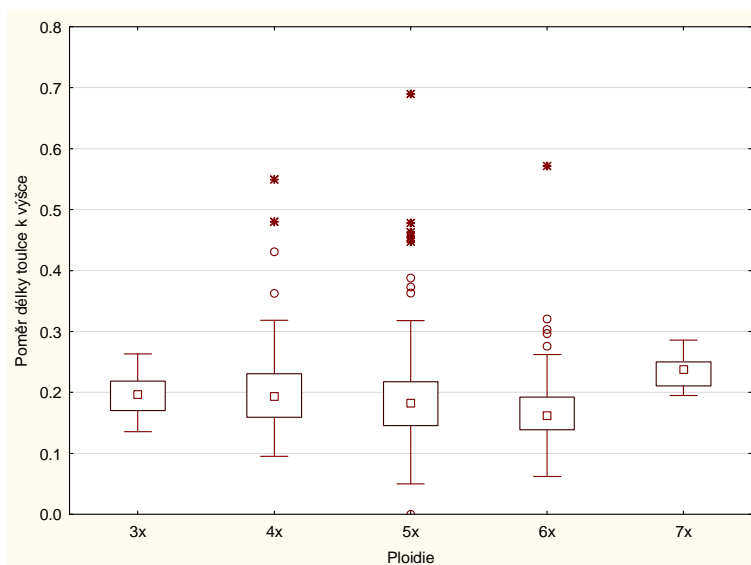
**Obrázek 4.** Krabičkové diagramy výšky rostlin bez toulce u pěti cytotypů ( $2n = 3x, 4x, 5x, 6x, 7x$ ).



**Obrázek 5.** Krabičkové diagramy délky toulce u pěti cytotypů ( $2n = 3x, 4x, 5x, 6x, 7x$ ).



**Obrázek 6.** Krabičkové diagramy délky toulce u pěti cytotypů ( $2n = 3x, 4x, 5x, 6x, 7x$ ).

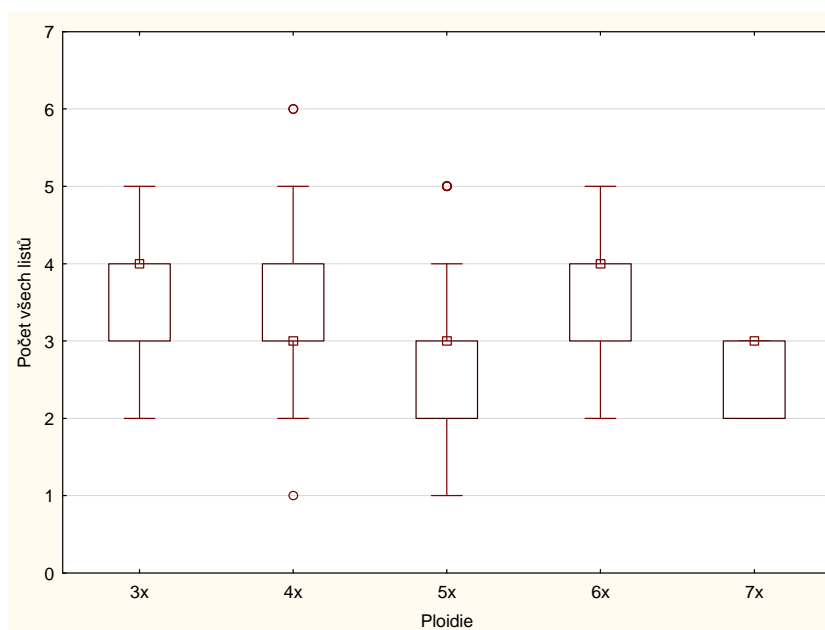


Výsledky statistických testů jednorozměrné analýzy (tabulka 5) pro počet listů na rostlině prokázaly variabilitu mezi ploidiemi, tak částečně i mezi populacemi a jedinci. Na rostlinách 3x, 4x a 6x cytotypu v průměru vyrůstaly 3-4 listy (obrázek 7), u 5x a 7x cytotypu byly napočítány ve většině případů 2-3 listy. Výsledky mnohonásobných testů poukázaly na to, že v celkovém počtu listů se cytotypy 3x, 4x a 6x signifikantně odlišují od 5x cytotypu, vůči tomuto cytotypu se významně nelišil pouze 7x cytotyp, tato skutečnost mohla být v tomto případě způsobena nízkým počtem analyzovaných jedinců z dané ploidní úrovně.

**Tabulka 5.** Hierarchická ANOVA testující vliv faktorů cytotyp, populace na celkový počet listů na rostlině.

Faktor	DF	F	P
PLOIDIE	4	7,71	< 0,001
ID POPULACE	169	5,34	< 0,001

**Obrázek 7.** Krabičkové diagramy celkového počtu listů na rostlině u pěti cytotypů (2n = 3x, 4x, 5x, 6x, 7x).



Dalšími hodnocenými znaky na listech byly délky a šířky obou odebraných listů, spočítány byly i poměry mezi těmito znaky. Hierarchická ANOVA prokázala variabilitu ve všech měřených znacích mezi cytotypy, populacemi i jedinci (tabulky 6, 7, 8, 9, 10, 11). Měřené znaky ukazují podobné výsledky jako u výšky rostlin, kdy 5x a 3x cytotypy měly nejdelší listy. Nižší hodnoty délek pak vykazuje 4x cytotyp, nejmenší hodnoty znaku pak mají 6x a 7x cytotypy. Tento fakt byl potvrzen i u šířek horního listu, ne však u listu dolního.

Průměrná velikost délek listů se pohybovala v přibližném rozmezí od 150-280 mm, kdy největší délka byla naměřena u 3x cytotypu (280 mm), nejmenší u 7x cytotypu (115 mm) a to na horních listech. Průměrné velikosti šířek se pohybovaly v rozpětí od 1-4 mm, největší rozměry šířek byly zjištěny na dolních listech 5x a 7x cytotypu, naopak nejmenší u 6x cytotypu na horním listu. Průměrné rozměry délek a šířek ostatních cytotypů byly vyrovnané. Výsledné poměry šířek k délkám byly obdobné pro oba dva listy. Nejvyšších hodnot dosahovaly rostliny 7x cytotypu, nižších pak 4x a 5x, nejnižších 3x a 6x cytotypy.

Výsledky mnohonásobných testů pro délku horního listu ukázaly signifikantní odlišnost 3x cytotypu od ostatních cytotypů. V šířce tohoto listu se pak průkazně lišily 6x jedinci od 3x, 4x a 5x, naopak se nelišily od 7x cytotypu. Výsledky tohoto testu pro dolní list byly srovnatelné jak pro délku tak šířku, přičemž odlišnost vykazoval 5x cytotyp od 4x a 6x cytotypu, ale nelišil se od 7x cytotypu.

**Tabulka 6.** Hierarchická ANOVA testující vliv faktorů cytotyp, populace na délku horního listu.

Faktor	DF	F	P
PLOIDIE	4	3,98	< 0,001
ID POPULACE	167	4,34	< 0,001

**Tabulka 7.** Hierarchická ANOVA testující vliv faktorů cytotyp, populace na šířku horního listu.

Faktor	DF	F	P
PLOIDIE	4	7,21	< 0,001
ID POPULACE	167	3,59	< 0,001

**Tabulka 8.** Hierarchická ANOVA testující vliv faktorů cytotyp, populace na poměr šířky k délce horního listu.

Faktor	DF	F	P
PLOIDIE	4	2,83	< 0,001
ID POPULACE	167	2,91	< 0,001

**Tabulka 9.** Hierarchická ANOVA testující vliv faktorů cytotyp, populace na délku dolního listu.

Faktor	DF	F	P
PLOIDIE	4	4,37	< 0,001
ID POPULACE	154	4,84	< 0,001

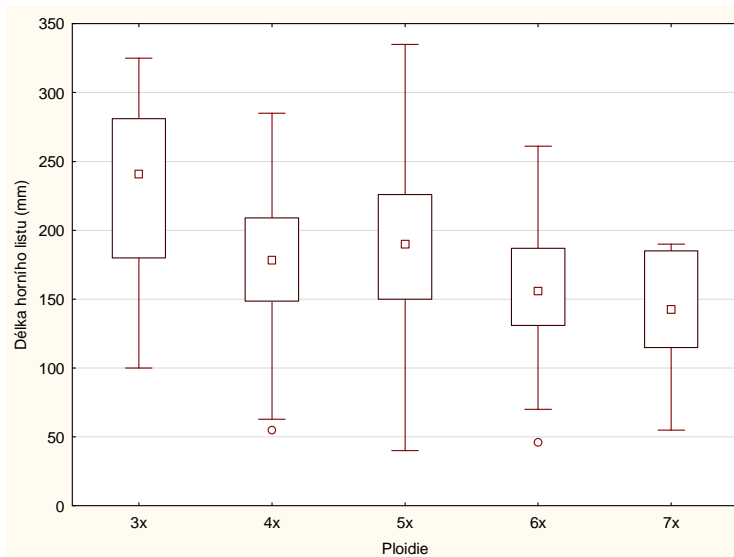
**Tabulka 10.** Hierarchická ANOVA testující vliv faktorů cytotyp, populace na šířku dolního listu.

Faktor	DF	F	P
PLOIDIE	4	5,40	< 0,001
ID POPULACE	154	3,59	< 0,001

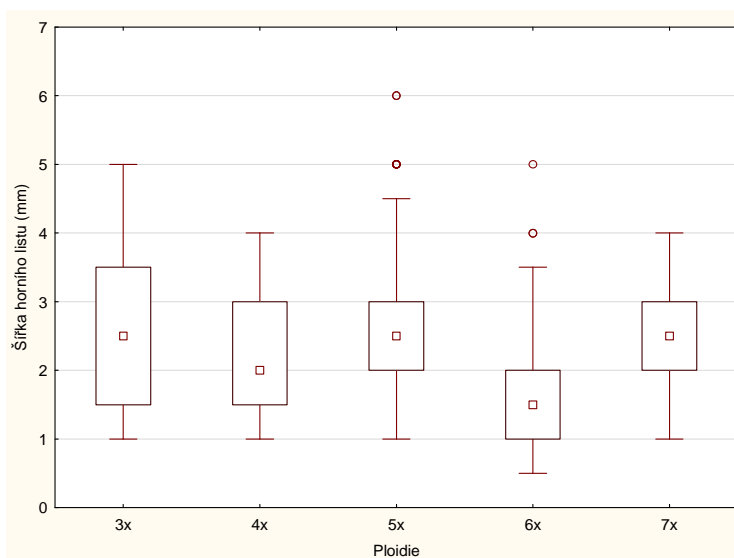
**Tabulka 11.** Hierarchická ANOVA testující vliv faktorů cytotyp, populace na poměr šířky k délce dolního listu.

Faktor	DF	F	P
PLOIDIE	4	1,49	0,207
ID POPULACE	154	2,25	< 0,001

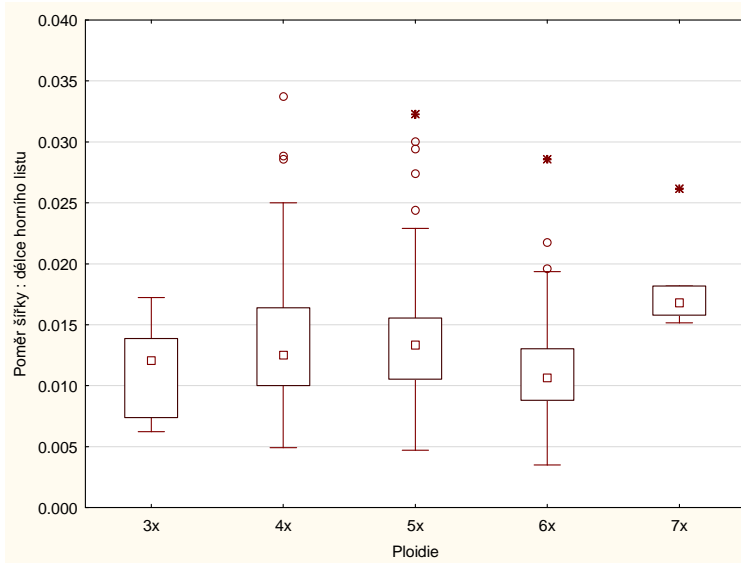
**Obrázek 8.** Krabičkové diagramy délky horního listu u pěti cytotypů ( $2n = 3x, 4x, 5x, 6x, 7x$ ).



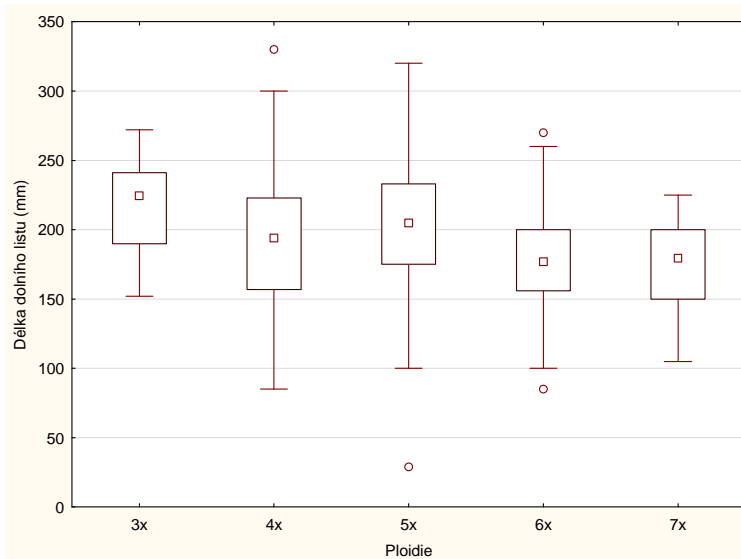
**Obrázek 9.** Krabičkové diagramy šířky horního u pěti cytotypů ( $2n = 3x, 4x, 5x, 6x, 7x$ ).



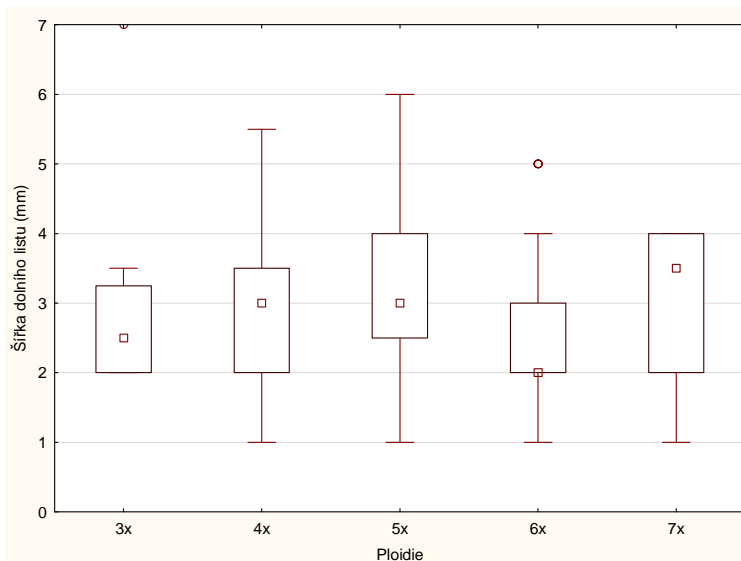
**Obrázek 10.** Krabičkové diagramy poměrů šířky k délce horního listu u pěti cytotypů ( $2n = 3x, 4x, 5x, 6x, 7x$ ).



**Obrázek 11.** Krabičkové diagramy délky dolního listu u pěti cytotypů ( $2n = 3x, 4x, 5x, 6x, 7x$ ).

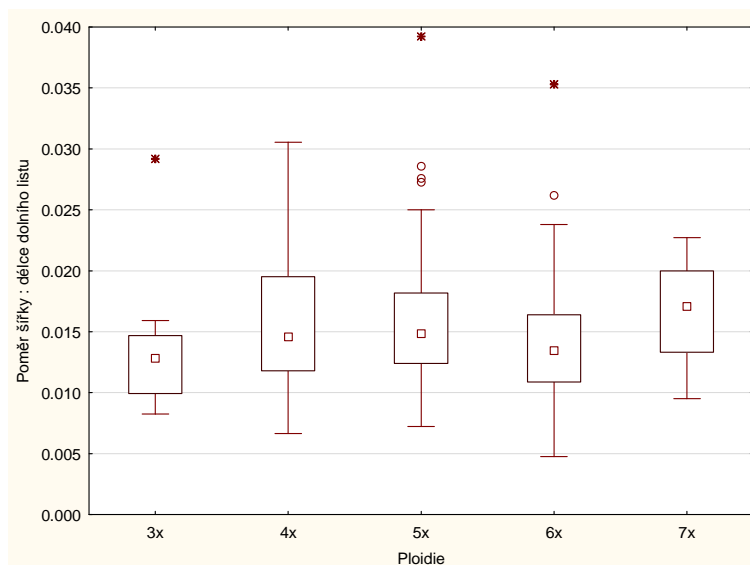


**Obrázek 12.** Krabičkové diagramy šířky dolního listu u pěti cytotypů ( $2n = 3x, 4x, 5x, 6x, 7x$ ).





**Obrázek 13.** Krabičkové diagramy poměrů šířky k délce dolního listu cytotypů ( $2n = 3x, 4x, 5x, 6x, 7x$ ).



Dalším sledovaným znakem na listech byla hustota papil. Z analýz (tabulky 12, 13, 14, 15) vyplývá, že jde rovněž o variabilní znak, vykazující komplikovanou strukturu v rámci cytotypu, populace i jedince v závislosti na odebraném listu.

U nejhornějšího listu (H) papily na bázi a středu chybí (3x, 7x) nebo jsou nepravidelně vyvinuty (4x, 5x). Výjimku tvoří pouze 6x cytotyp u něhož byl výskyt papil pravidelně zaznamenán na bázi i středu nejhornějšího listu (obrázek 14). Průměrný počet papil u tohoto listu se pohybovala v rozpětí 0-15 ks/2mm. U druhého listu, dolního (D), test prokázal vysokou mezipopulační a vnitropopulační variabilitu. Nejvyšší papilnatost vykazoval 6x cytotyp, pak 5x a 6x, nejnižší 3x a 7x cytotyp. Hustota papil pro jednotlivé cytotypy byla obdobná na bázi a středu listu, větší rozdíly v hustotě mezi bází a středem byly zjištěny u 6x a 7x cytotypu. Průměrná hustota papil se pohybovala v rozmezí od 0 – 18 ks/2mm.

Výsledky mnohonásobných testů pro hustotu papil na bázi horního listu poukazují na signifikantní odlišnost 6x cytotypu od 3x, 4x, 5x cytotypu, 6x cytotyp se významně nelišil pouze od 7x cytotypu, výsledky testu byly totožné i pro střed tohoto listu. Na středu dolního listu test nenalezl výraznou odlišnost mezi cytotypy, naopak na bázi byly zjištěna signifikantní odlišnost 6x cytotypu od 3x, 4x, 5x, 6x a 7x cytotypu.

**Tabulka 12.** Hierarchická ANOVA testující vliv faktorů cytotyp, populace na hustotu papil měřených na bázi horního listu.

<b>Faktor</b>	<b>DF</b>	<b>SS</b>	<b>MS</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
<b>PLOIDIE</b>	4	270,69	67,673	5,633	< 0,001
<b>ID POPULACE</b>	193	3475,18	18,006	4,752	< 0,001

**Tabulka 13.** Hierarchická ANOVA testující vliv faktorů cytotyp, populace na hustotu papil měřených na středu horního listu.

<b>Faktor</b>	<b>DF</b>	<b>SS</b>	<b>MS</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
<b>PLOIDIE</b>	4	421,037	105,259	7,061	< 0,001
<b>ID POPULACE</b>	193	4033,001	20,896	3,125	< 0,001

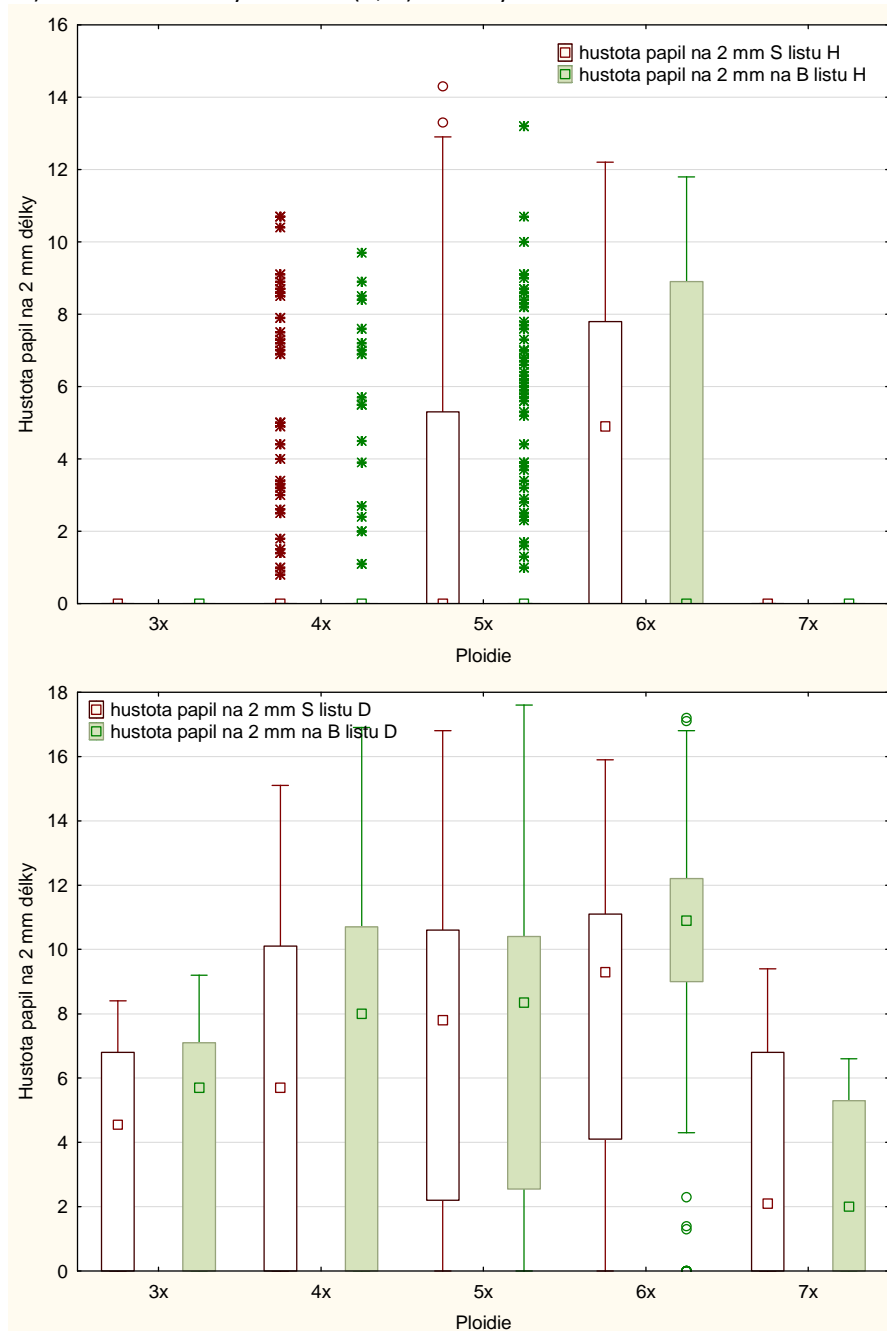
**Tabulka 14.** Hierarchická ANOVA testující vliv faktorů cytotyp, populace na hustotu papil měřených na báze dolního listu.

<b>Faktor</b>	<b>DF</b>	<b>SS</b>	<b>MS</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
<b>PLOIDIE</b>	4	787,852	196,963	6,706	< 0,001
<b>ID POPULACE</b>	189	8039,163	42,535	3,904	< 0,001

**Tabulka 15.** Hierarchická ANOVA testující vliv faktorů cytotyp, populace na hustotu papil měřených na středu dolního listu.

<b>Faktor</b>	<b>DF</b>	<b>SS</b>	<b>MS</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
<b>PLOIDIE</b>	4	155,869	38,967	1,195	<b>0,314</b>
<b>ID POPULACE</b>	189	9393,374	49,700	5,832	< 0,001

**Obrázek 14.** Krabičkové diagramy variability hustoty papil pěti cytotypů *A. oleraceum* ( $2n = 3x, 4x, 5x, 6x, 7x$ ) na dvou odebraných listech (H, D). Znak byl měřen na bázi a středu každého listu.



Výsledky statistických testů (tabulky 16, 17) prokázaly existenci variability v průměru průduchů jak mezi cytotypy, tak mezi populacemi v rámci cytotypů a i mezi jedinci v populacích. Výsledky byly analogické i pro všechny pozorované části listu (báze, střed), ale byly pozorovány mezipopulační a vnitropopulační rozdíly v závislosti na pozici listu.

Nejvyšší variabilita v průměru průduchů byla zaznamenána u cytotypů 4x, 5x a 6x, nižší u cytotypů 3x a 7x, a to jak na bázi, tak ve středu horního i dolního listu, to je ale zčásti dáno menším počtem měřených jedinců a populací. Průměrná velikost všech

změřených průduchů se na bázi pohybovala ve většině případů v rozmezí přibližně od 19 – 26  $\mu\text{m}$ , na středu od 19-25  $\mu\text{m}$ , přičemž větší průduchy byly zjištěny na středu horního i dolního listu u všech cytotypů. Nejmenší průduchy ze všech ploidii měl 4x cytotyp (obrázek 15).

Obecně lze tedy říci, že variabilita ve velikosti průduchů je velmi vysoká a cytotypy se výrazně překrývají. Z výsledků mnohonásobných testů ale vyplývá, že největší signifikantní odlišnost ve velikosti průduchů na bázi listu měl 4x cytotyp v porovnání s 5x cytotypem, na středu listu se pak od 4x cytotypu nejvíce odlišoval 5x a 6x cytotyp. Ostatní cytotypy se od 4x cytotypu významně nelišily.

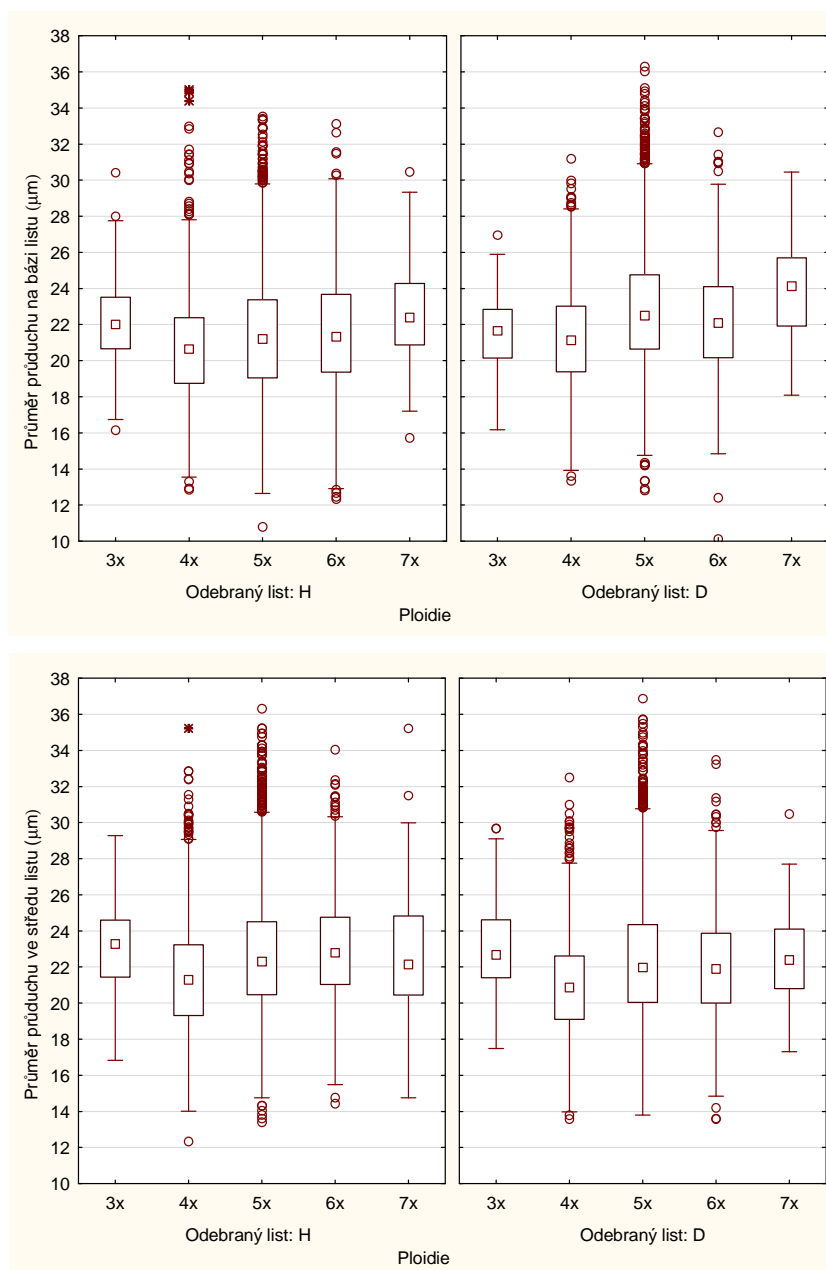
**Tabulka 16.** Hierarchická ANOVA testující vliv faktorů cytotyp, populace, jedinec a odebraný list na velikost (průměr) průduchů měřených na bázi (B) dvou odebraných listů (H, D).

Faktor	DF	SS	MS	F	P
A: ploidie	4	5400,153	1350,038	3,57	< 0,001
B(A): ID populace	188	71121,72	378,307	6,46	< 0,001
C(AB): ID jedinec	401	23489,26	58,57672	17,28	< 0,001
D: odebraný list	1	345,2317	345,2317	2,98	0,086
AD	4	932,6559	233,164	2,01	0,095
BD(A)	177	20537,37	116,0303	2,51	< 0,001
CD(AB)	339	15683,25	46,26328	13,65	< 0,001

**Tabulka 17.** Hierarchická ANOVA testující vliv faktorů cytotyp, populace, jedinec a odebraný list na velikost (průměr) průduchů měřených na středu (S) dvou odebraných listů (H, D).

Faktor	DF	SS	MS	F	P
A: ploidie	4	8334,758	2083,689	5,99	< 0,001
B(A): ID populace	188	65430,71	348,0357	4,85	< 0,001
C(AB): ID jedinec	401	28755,98	71,71067	20,43	< 0,001
D: odebraný list	1	62,21333	62,21333	0,66	0,418
AD	4	534,9243	133,7311	1,41	0,231
BD(A)	181	17116,24	94,56488	1,48	< 0,001
CD(AB)	355	22606,56	63,68045	18,15	< 0,001

**Obrázek 15.** Krabičkové diagramy variability velikosti průduchů pěti cytotypů ( $2n = 3x, 4x, 5x, 6x, 7x$ ) na dvou odebraných listech (H, D). Parametr byl měřen na bázi a středu každého listu.



Dalšími studovanými znaky byl celkový počet květů a pacibulek a poměr počtu květů k pacibulkám. Z analýz (tabulky 18,19, 20) vyplývá, že jde opět o velmi variabilní znaky, vykazující komplikovanou strukturu v rámci cytotypu, populace i jedince.

Průměrný počet pacibulek (obrázek 16) se pohyboval v rozmezí cca 25-60 ks, přičemž nejvíce jich bylo zjištěno u 6x a 7x cytotypu (60ks), méně pacibulek pak měly cytotypy 3x, 4x a 5x, u kterých se jejich průměrný počet pohyboval 25-45 ks. Největší variabilita v počtu pacibulek byla zjištěna u 4x a 5x cytotypu. Téměř žádné květy nevytvářely rostliny 6x cytotypu (obrázek 17), naopak bohatě kvetly zbylé cytotypy, přičemž nejvyšší průměrný počet květů byl zjištěn u 3x a 7x cytotypu (6-16), o něco méně

květů měly rostliny 4x a 5x cytotypů (3-16). Poměry mezi počtem květů a pacibulek (obrázek 18) byly u 3x, 4x a 5x vyrovnané, pohybovaly se v rozmezí 0,1-0,5, nižší hodnotu vykazoval 7x cytotyp, téměř nulovou pak 6x cytotyp. Největší variabilita tohoto poměru byla zjištěna u 4x a 5x cytotypu.

Mnohonásobné testy provedené pro počet květů a pro poměr květů k pacibulkám říkají, že od 6x cytotypu se významně odlišují ostatní cytotypy, což potvrzuje absenci/nízký počet květů u 6x cytotypu ve srovnání s ostatními.

**Tabulka 18.** Hierarchická ANOVA testující vliv faktorů cytotyp, populace na celkový počet pacibulek.

Faktor	DF	F	P
PLOIDIE	4	1,30	0,27
ID POPULACE	158	4,86	< 0,001

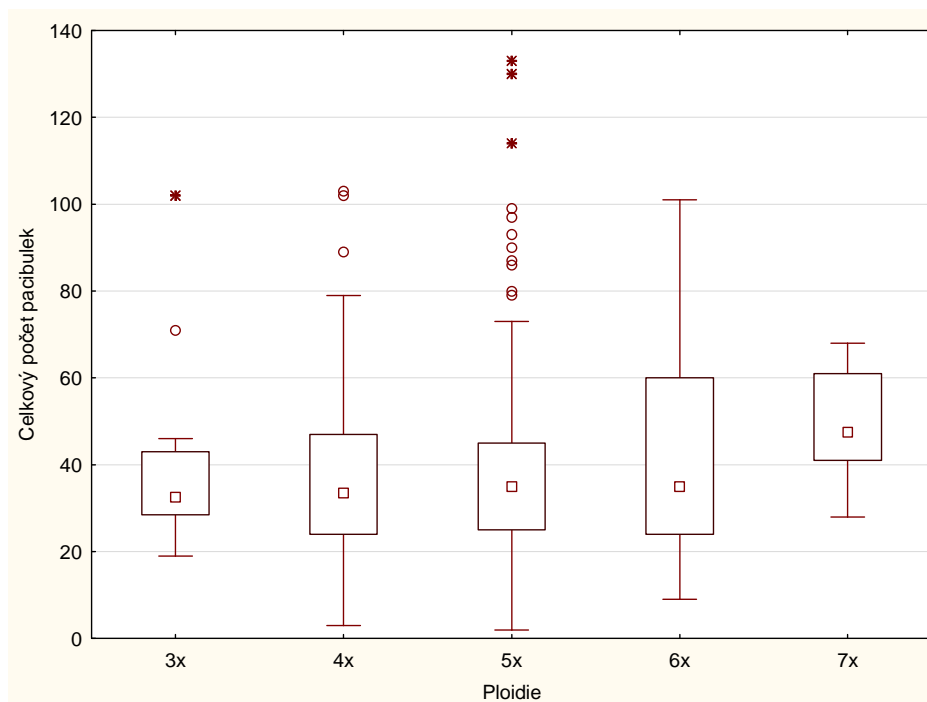
**Tabulka 19.** Hierarchická ANOVA testující vliv faktorů cytotyp, populace na celkový počet květů.

Faktor	DF	F	P
PLOIDIE	4	17,13	< 0,001
ID POPULACE	158	4,09	< 0,001

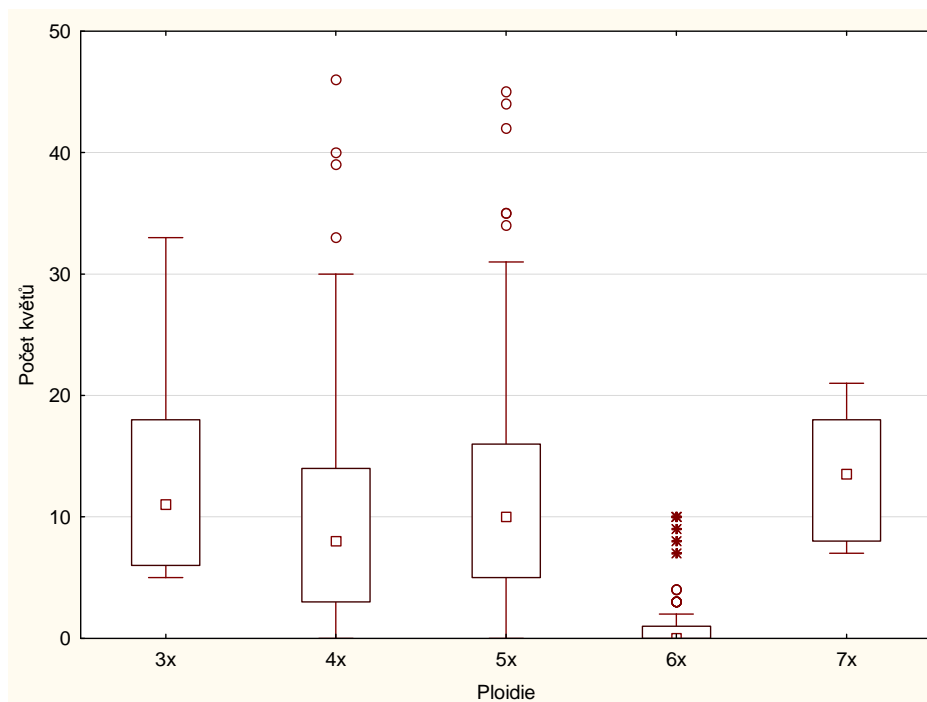
**Tabulka 20.** Hierarchická ANOVA testující vliv faktorů cytotyp, populace na poměr počtu květů k pacibulkám.

Faktor	DF	F	P
PLOIDIE	4	13,44	< 0,001
ID POPULACE	160	5,14	< 0,001

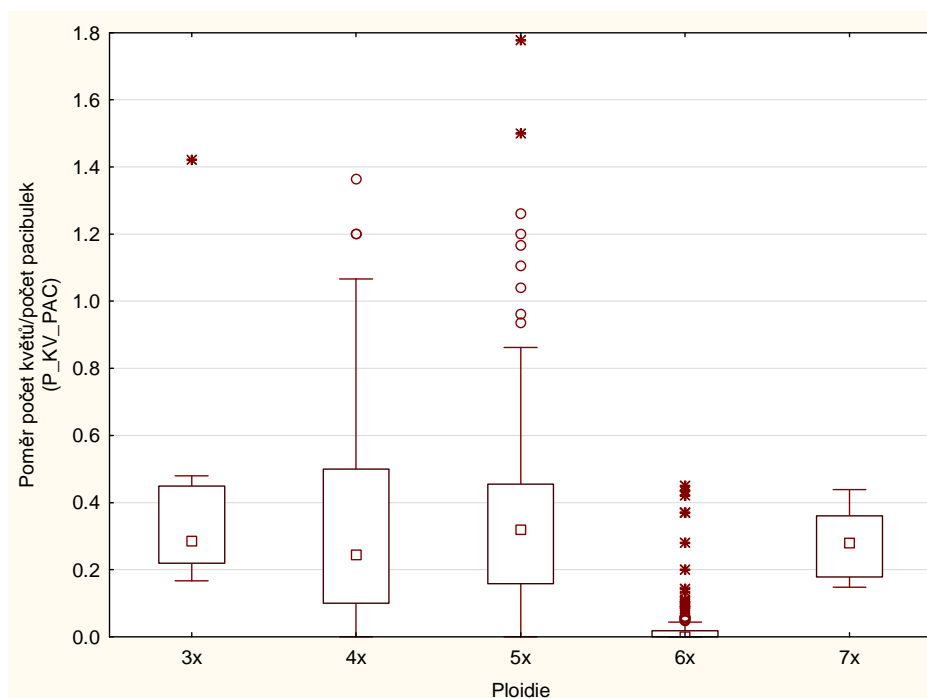
**Obrázek 16.** Krabičkové diagramy celkového počtu pacibulek pěti cytotypů (2n = 3x, 4x, 5x, 6x, 7x).



**Obrázek 17.** Krabičkové diagramy celkového počtu květů pěti cytotypů ( $2n = 3x, 4x, 5x, 6x, 7x$ ).



**Obrázek 18.** Krabičkové diagramy poměru počtu květů k pacibulkám pěti cytotypů ( $2n = 3x, 4x, 5x, 6x, 7x$ ).



Dalšími studovanými znaky na květních částech byly délky a šířky okvětních lístků a délky čnělek a semeníků a jejich příslušné poměry. Hierarchická ANOVA opět prokázala variabilitu ve všech měřených květních parametrech, jak mezi jednotlivými cytotypy, tak mezi populacemi i mezi jedinci v populaci (tabulka 21). Variabilita byla zjištěna i mezi poměry šířek a délek vnějších a vnitřních okvětních lístků v rámci cytotypu. Výrazná

odlišnost mezi jednotlivými cytotypy se ale neprokázala. Velké rozdíly nebyly zjištěny ani u poměrů mezi šířkou a délkou okvětních lístků ani mezi délkou čnělky a semeníku.

Nejvyšší variabilitu v délce vnitřních i vnějších okvětních lístků měl 4x, 5x a 6x cytotyp, nižší pak 3x a 7x cytotyp (obrázek 19). Šířky okvětních lístků byly nejvíce variabilní u 4x a 5x cytotypu, méně pak u 3x, 6x a 7x cytotypu (obrázek 20). Průměrná velikost délek všech okvětních lístků se pak pohybovala v rozmezí asi od 5,6 – 7,3  $\mu\text{m}$ , přičemž nejmenší délky vnitřního a vnějšího okvětního lístku byly zaznamenány u 3x cytotypu, nejdelší u 5x. Průměrné velikosti šířek jak vnitřních, tak vnějších okvětních lístků byly velmi vyrovnané, pohybovaly se v rozmezí zhruba od 2,2-2,9  $\mu\text{m}$ . Poměry šířky a délky (obrázek 21) obou typů okvětních lístků byly taktéž vyrovnané, vůbec nejvyšší hodnoty obou těchto poměrů dosahoval 5x cytotyp. Průměrné délky semeníků (obrázek 22) se pohybovaly v rozpětí od 3,9-5,2 mm, přičemž největší semeníky měl 5x cytotyp, délky čnělek byly v rozpětí od 2,2-3,9 mm, nejdelší čnělky byly zjištěny u 4x cytotypu. Výsledné poměry mezi délkou čnělky a semeníku byly pro všechny cytotypy velice obdobné.

Z mnohonásobných testů pro délku vnějších i vnitřních okvětních lístků byla zjištěna signifikantní odlišnost 5x od 3x, 4x a 6x cytotypu, od 5x se významně neodlišoval pouze 7x cytotyp. U vnější šířky nebyla zjištěna žádná statisticky významná odlišnost mezi cytotypy, naopak u šířky vnitřní byla zaznamenána mezi 4x a 5x cytotypem. Z testů pro poměr mezi šířkou a délkou vnitřního a vnějšího okvětního lístku, délce semeníku a poměru čnělky k semeníku vyplynula signifikantní odlišnost pouze mezi 4x a 5x cytotypem, ostatní cytotypy se významně neodlišovaly. V délkách čnělek nebyla zjištěna žádná odlišnost mezi cytotypy.

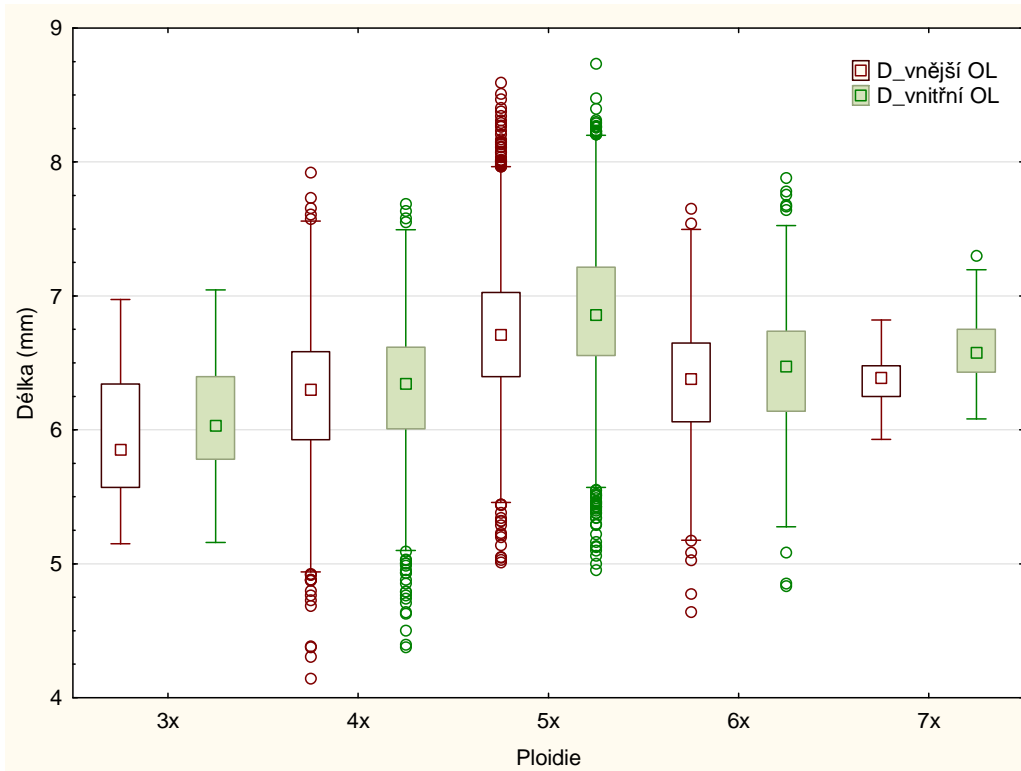
Obecně můžeme říci, že 5x jedinci vykazují v průměru větší rozměry délek v okvětních lístcích při porovnání s jinými ploidiemi, ve velikostech šířek se ale moc neodlišují od ostatních cytotypů. U 5x cytotypu byly zjištěny větší délky semeníků, naopak průměrné délky čnělek byly menší v porovnání s ostatními cytotypy.



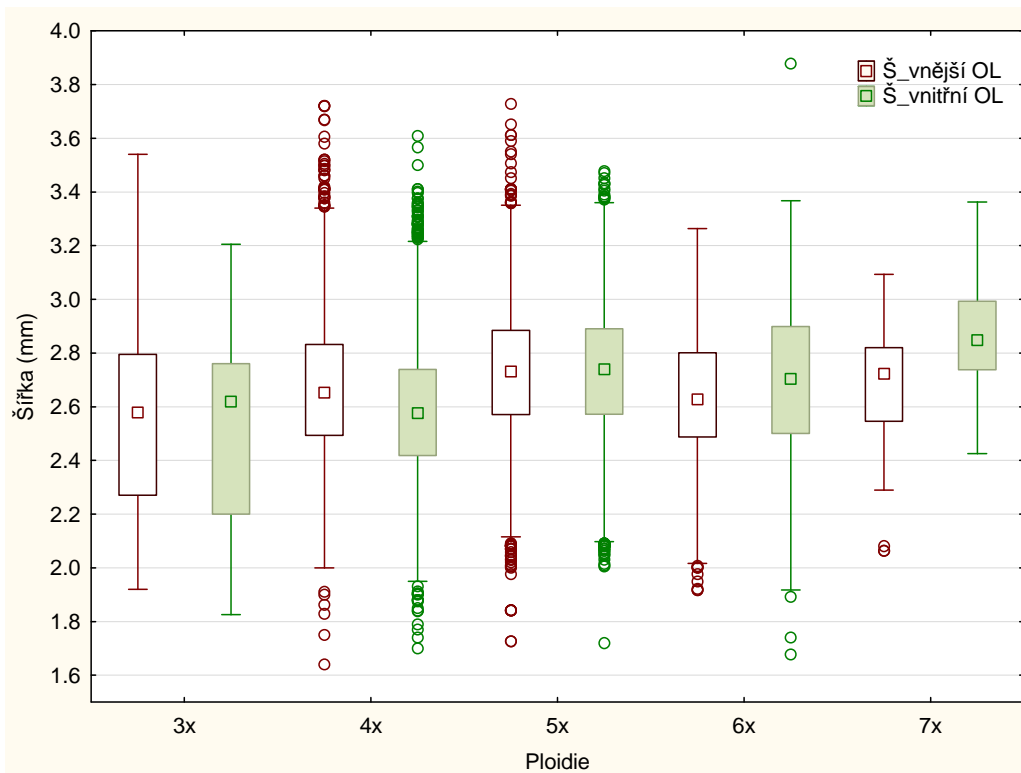
**Tabulka 21.** Hierarchická analýza variance (GLM ANOVA) testující rozměry květních částí (okvětní lístky [OL], čnělky, semeníky, poměr šířky vnějších OL [VS] : délce vnějších OL [VD], poměr šířky vnitřních OL [VNS] : délce vnitřních OL [VND] a poměr délky čnělky [CNE] : délce semeníku [SEM]) v závislosti na faktorech (ploidy, populace, jedinec).

<b>Měřený parametr</b>	<b>Faktor</b>	<b>DF</b>	<b>SS</b>	<b>MS</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
Délka vnějších P lístků	A: ploidy	4	316,40	79,10	13,08	< 0,001
	B (A): ID populace	161	974,00	6,05	12,03	< 0,001
	C(AB): ID jedinec	337	169,52	0,50	8,04	< 0,001
Šířka vnějších P lístků	A: ploidy	4	9,13	2,28	2,07	0,087
	B (A): ID populace	161	177,58	1,10	8,04	< 0,001
	C(AB): ID jedinec	337	46,24	0,14	4,27	< 0,001
Délka vnitřních P lístků	A: ploidy	4	460,19	115,05	18,85	< 0,001
	B (A): ID populace	161	982,64	6,10	14,12	< 0,001
	C(AB): ID jedinec	337	145,68	0,43	7,14	< 0,001
Šířka vnitřních P lístků	A: ploidy	4	28,08	7,02	5,85	< 0,001
	B (A): ID populace	161	193,21	1,20	9,24	< 0,001
	C(AB): ID jedinec	337	43,76	0,13	4,34	< 0,001
Délka čnělky	A: ploidy	4	9,71	2,43	2,19	0,073
	B (A): ID populace	161	178,57	1,11	8,00	< 0,001
	C(AB): ID jedinec	337	46,74	0,14	1,94	< 0,001
Délka semeníku	A: ploidy	4	59,51	14,88	6,59	< 0,001
	B (A): ID populace	161	363,32	2,26	12,27	< 0,001
	C(AB): ID jedinec	337	61,96	0,18	3,15	< 0,001
VS:VD	A: ploidy	4	18,32	4,58	5,89	< 0,001
	B (A): ID populace	161	125,12	0,78	7,61	< 0,001
	C(AB): ID jedinec	337	34,42	0,10	3,17	< 0,001
VNS:VND	A: ploidy	4	14,54	3,63	3,69	0,007
	B (A): ID populace	161	158,60	0,99	10,19	< 0,001
	C(AB): ID jedinec	337	32,57	9,66	3,01	< 0,001
CNE:SEM	A: ploidy	4	2,80	0,70	7,00	< 0,001
	B (A): ID populace	161	16,07	9,98	9,68	< 0,001
	C(AB): ID jedinec	337	3,48	1,03	2,00	< 0,001

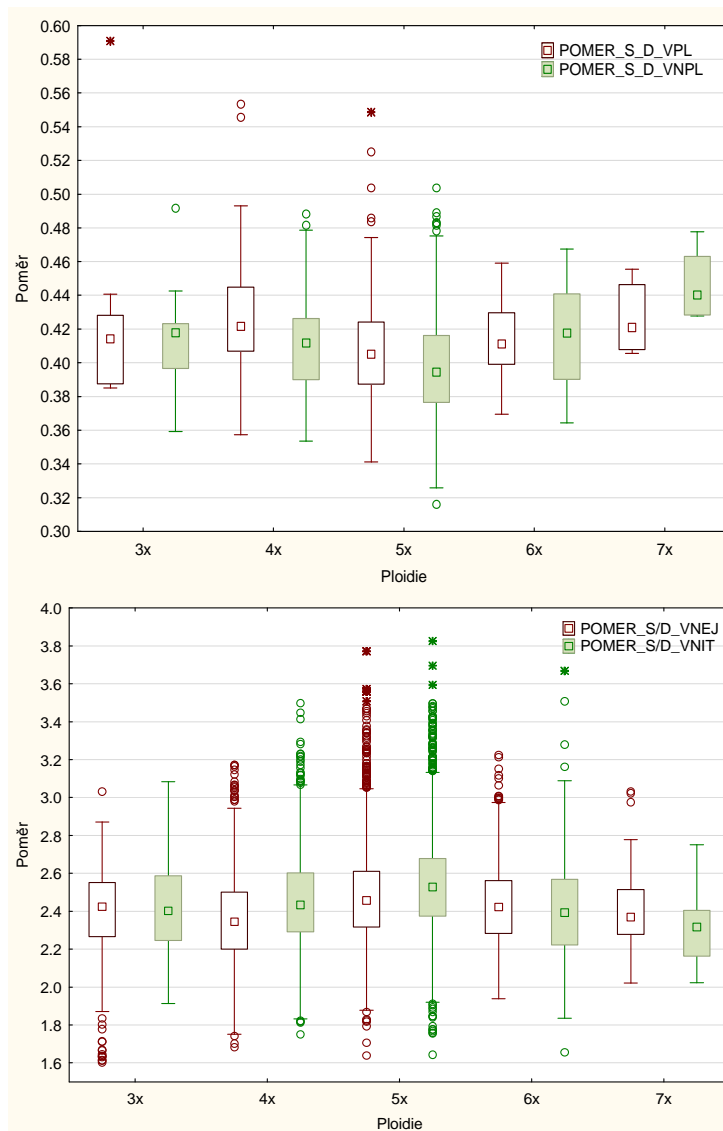
**Obrázek 19.** Krabičkové diagramy variability délek vnějších a vnitřních okvětních lístků u pěti cytotypů ( $2n = 3x, 4x, 5x, 6x, 7x$ ) *Allium oleraceum*.



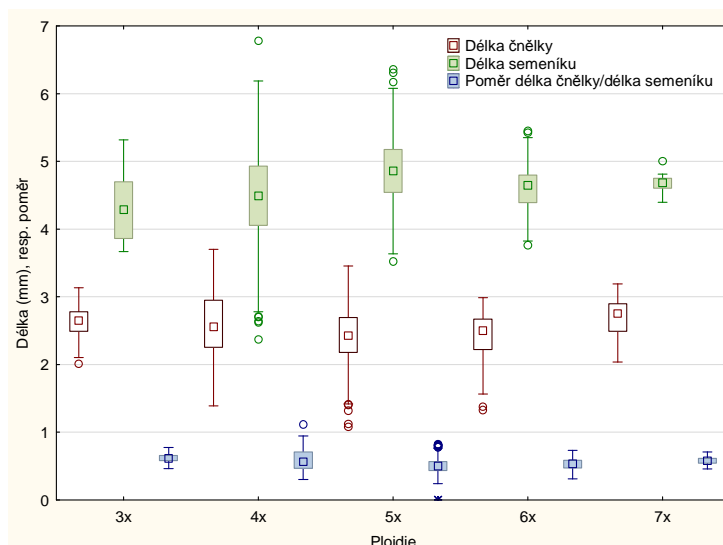
**Obrázek 20.** Krabičkové diagramy variability šířek vnějších a vnitřních okvětních lístků u pěti cytotypů ( $2n = 3x, 4x, 5x, 6x, 7x$ ) *Allium oleraceum*.



**Obrázek 21.** Krabičkové diagramy variability poměrů šířky vnějších OL [VS] : délce vnějších OL [VD] a poměrů šířky vnitřních OL [VNS] : délce vnitřních OL [VND] u pěti cytotypů (2n = 3x, 4x, 5x, 6x, 7x) *Allium oleraceum*.



**Obrázek 22.** Krabičkové diagramy variability délek čnělek a semeníků, poměrů délky čnělky [CNE] : délce semeníku [SEM] u cytotypů (3x, 4x, 5x, 6x, 7x) *Allium oleraceum*.



## 3.2 Srovnání anatomických a morfologických znaků pěti cytotypů *Allium oleraceum*: mnohorozměrné analýzy

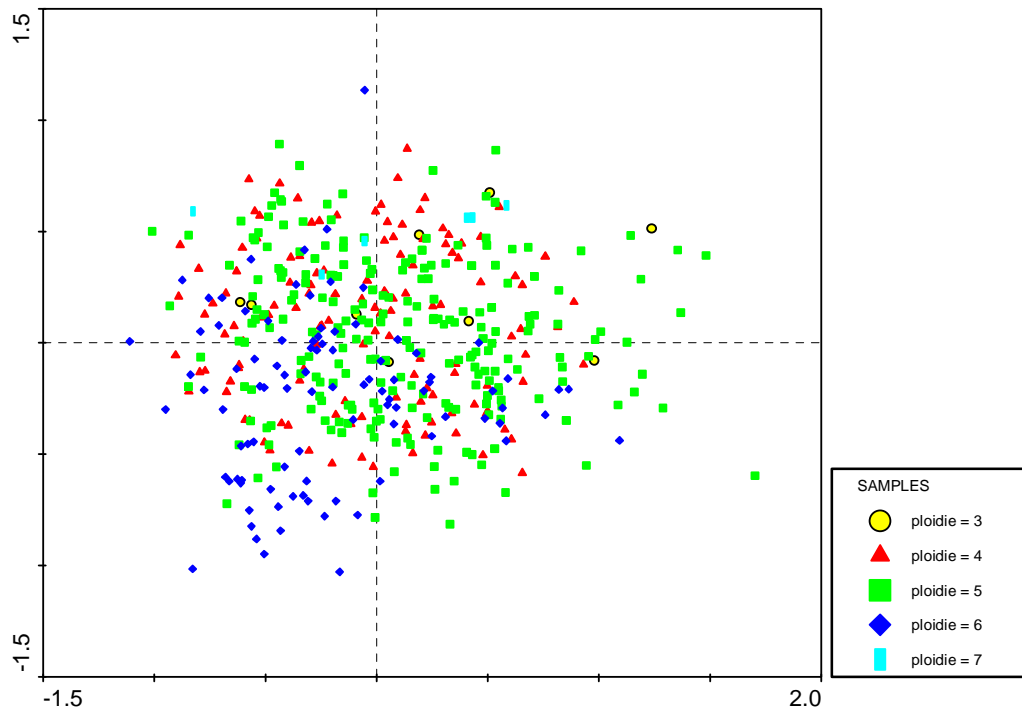
### 3.2.1 PCA analýza anatomických a morfologických znaků

V první PCA byla analyzována všechna pozorovaná individua se všemi hodnocenými znaky bez znaků na květech. První osa vysvětluje 24,5% a druhá osa 14,2% variability datového souboru (obrázky 9,10, 11). Z analýzy vyplývá, že jedinci jednotlivých ploidí se mezi sebou významně neliší v daných znacích, tzn., že morfologická diference mezi cytotypy je slabá a variabilita má kontinuální charakter. Přesto je z výstupů patrné, že nejvíce odlišní jsou 6x jedinci v porovnání s ostatními cytotypy (obrázek 9).

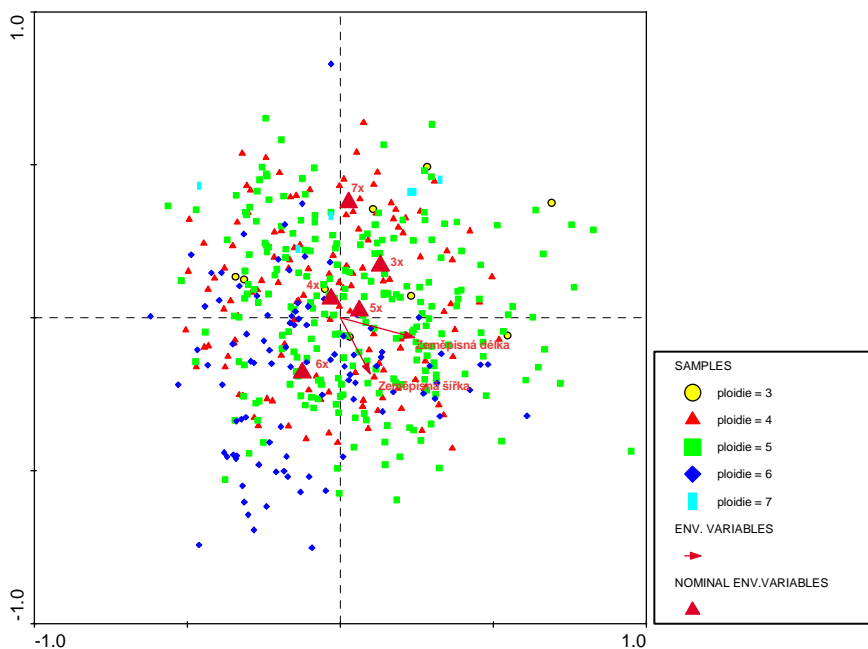
Pokud pro jednotlivé ploidní úrovně vytvoříme centroidy (obrázek 10), lze druhou ordinační osu interpretovat jako gradient ploidního stupně, ve kterém směrem vzhůru ploidní úroveň klesá, s výjimkou 7x cytotypu. Centroidy znázorňují nejvýraznější morfologickou diferenciaci mezi 6x a 3x, resp. 7x cytotypem. 4x a 5x cytotypy se od sebe výrazně neodlišují. Korelace zeměpisné délky a šířky a pozice jedinců podél os ukazují pozitivní korelaci geografie a rozměrů morfologických znaků podél první osy, tedy že velikost znaků směrem na východ a sever mírně stoupá, víceméně u všech cytotypů.

PCA ordinační diagram znaků (obrázek 11) ukazuje, že s 1. ordinační osou, tedy s geografickými parametry, pozitivně korelují tyto znaky: délka toulce (DT), délka (DL\_H, DL\_D) i šířka (SR\_H, SR\_D) horního a dolního listu, výška rostliny bez toulce (VBT). Naopak s 2. ordinační osou (gradient ploidního stupně) korelují, ať již pozitivně nebo negativně, znaky: poměr počtu květů k pacibulkám (P\_KV\_PAC), průměr průduchů na bázi (PP\_BD) a středu (PP\_SD) dolního listu, poměr šířky k délce horního listu (P\_SDHL), resp. hustota papil na bázi (HP\_BH, HP\_BD) a středu (HP\_SD, HP\_SH) obou listů. Na základě těchto znaků lze částečně odlišit jednotlivé ploidní úrovně, např. znak počet květů a pacibulek říká, že 7x jedinci jich mají více v porovnání s 6x cytotypem.

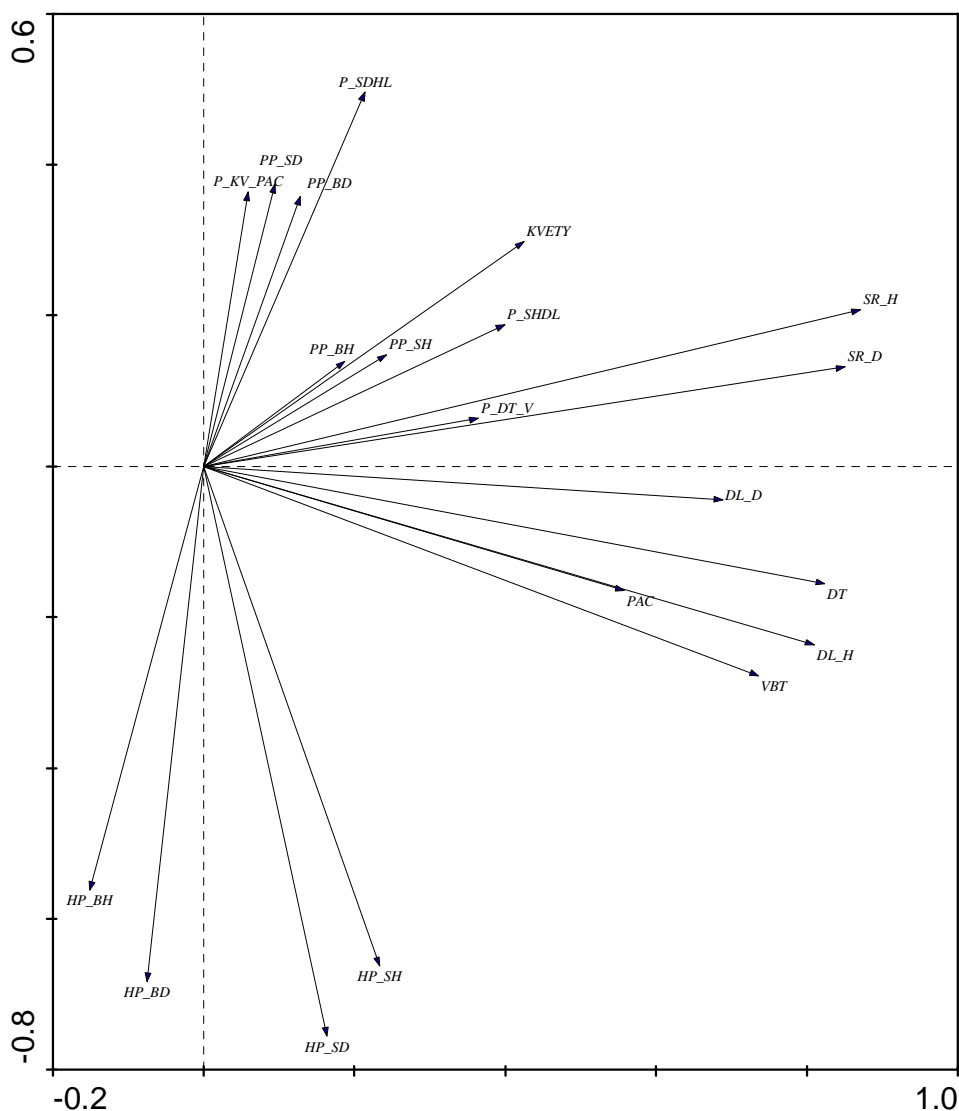
**Obrázek 9.** PCA ordinační diagram (1. a 2. osa) znázorňující všechny pozorované jedince. Analýza byla provedena se všemi měřenými znaky vyjma květních částí. Osy vysvětlují 38,7% variability datového souboru.



**Obrázek 10.** PCA ordinační diagram (se všemi měřenými znaky vyjma květních částí) znázorňující všechny pozorované jedince v prostoru dvou ordinačních os. Osy vysvětlují 38,7% variability datového souboru. První osa pravděpodobně znázorňuje geografické pozice jedinců, druhá gradient ploidního stupně.



**Obrázek 11.** PCA ordinační diagram znaků znázorňující korelace znaků s 1. a 2. osou. Seznam všech užitých zkratek je uveden v kapitole 2.3.

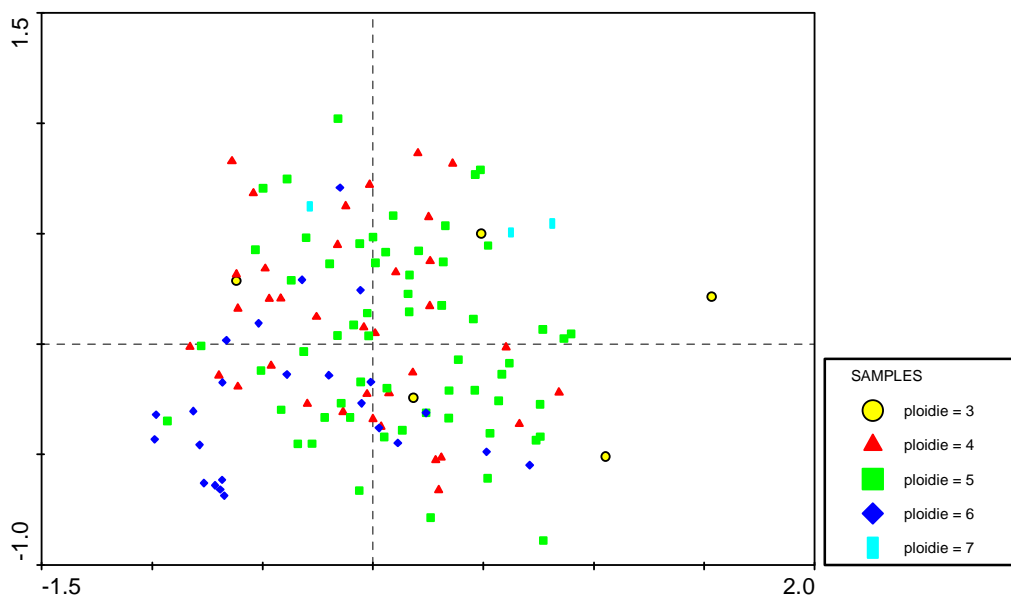


Druhá PCA analyzovala průměry všech znaků bez květních částí jednotlivých populací. První osa vysvětluje 24,2% a druhá osa 18,1% variability datového souboru (obrázky 12, 13, 14). Výsledky analýzy ukazují, že jednotlivé populace se mezi sebou v daných znacích výrazně neliší, morfologická diference mezi cytotypy je nízká. Určitou odlišnost vykazují opět populace 6x a částečně i 7x cytotypu, což může být v tomto případě (7x) způsobeno nízkým počtem analyzovaných populací (obrázek 12).

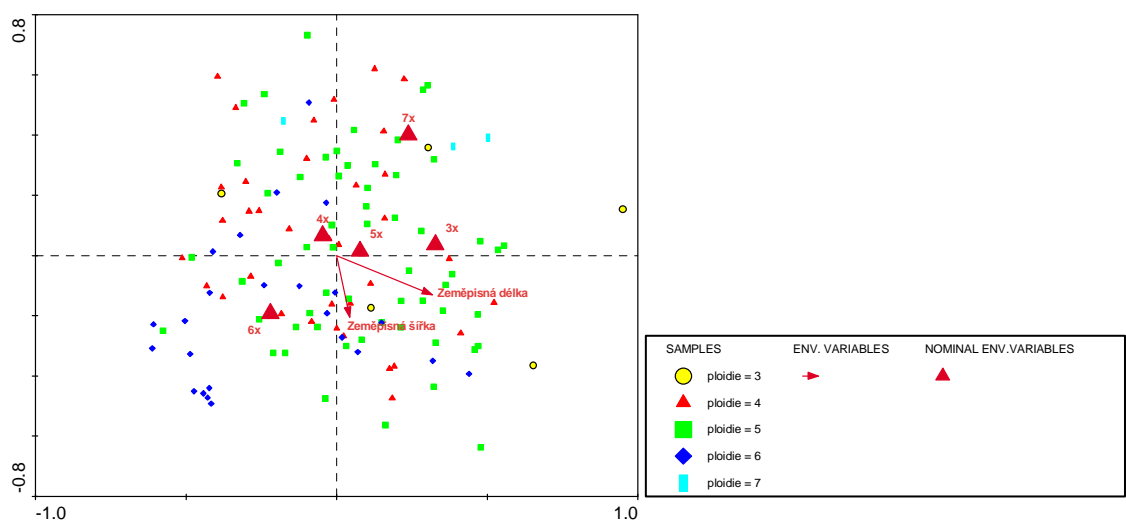
Vytvořené centroidy (obrázek 13) pro ploidní úrovně (osa 2.) naznačují, že směrem k horní části diagramu se snižuje ploidní stupeň, s výjimkou 7x cytotypu. Nejvýraznější morfologická diference je mezi 6x, 4x a 7x cytotypem, naopak nepatrně se odlišují 5x a 3x cytotypy.

Z PCA ordinačního diagramu znaků (obrázek 14) je zřejmé, že s 1. ordinační osou silně korelují znaky jako je šířka horního a dolního listu (SR\_H, SR\_D). Naopak s 2. ordinační osou je ze znaků nejvíce korelován počet listů (PL), hustota průduchů ve střední části (HP\_SD, HP\_SH) horního a dolního listu, tyto znaky jsou negativně korelovány s poměrem počtu květů k pacibulkám (P\_KVE\_PA). Na základě těchto znaků je možno slabě odlišit jednotlivé ploidie. Vektory zeměpisné šířky a délky značí, že geografie výrazně koreluje s oběma ordinačními osami.

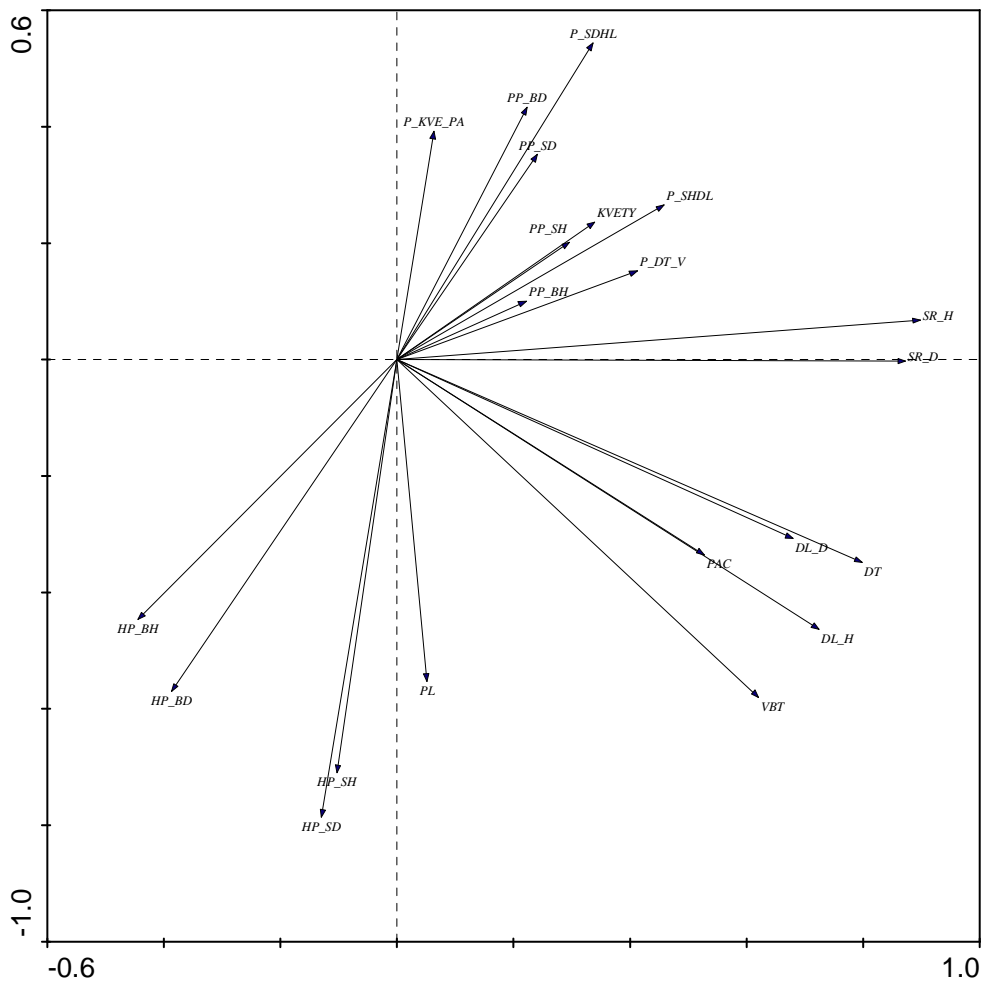
**Obrázek 12.** PCA ordinační diagram (1. a 2. Osa) znázorňující všechny pozorované populace. Analýza byla provedena se všemi měřenými znaky vyjma květních částí. Osy vysvětlují 42,3% variability datového souboru.



**Obrázek 13.** PCA ordinační diagram (se všemi měřenými znaky vyjma květních částí) znázorňující všechny pozorované populace v prostoru dvou ordinačních os. Osy vysvětlují 42,3% variability datového souboru. První osa pravděpodobně znázorňuje geografické pozice jedinců, druhá gradient ploidního stupně.



**Obrázek 14.** PCA ordinační diagram znaků znázorňující korelace znaků s 1. a 2. osou. Seznam všech užitých zkratk je uveden v kapitole 2.3.



Další PCA zobrazuje všechny pozorované jedince, se všemi znaky včetně květních částí. První osa vysvětluje 20,2% a druhá osa 17,8% variability datového souboru (obrázek 15, 16, 17). Z výsledků vyplývá, že morfologická diference mezi cytotypy je opět slabá, jedinci se mezi sebou ve všech měřených anatomických a morfologických znacích významně neliší. Nejvíce odlišní jsou pouze 5x jedinci, naopak v porovnání s předešlými analýzami se 6x jedinci liší méně od ostatních cytotypů (obrázek 15).

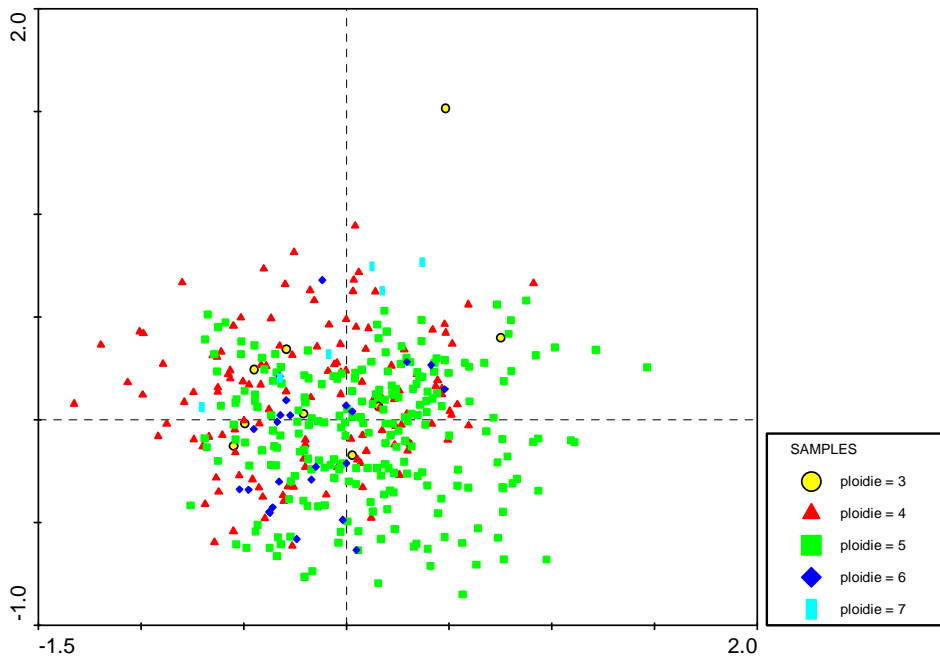
Vynesené centroidy pro jednotlivé cytotypy (obrázek 16) opět naznačují tendenci snížení ploidní úrovně směrem podél druhé ordinační osy, kromě 7x cytotypu. Poukazují na nejvýraznější morfologickou diference mezi 6x, 3x a 7x cytotypy, nejmenší rozdíly jsou mezi 4x, 5x a 6x cytotypy. Vektory zeměpisné šířky a délky značí, že geografie silně koreluje s první osou.

PCA ordinační diagram znaků (obrázek 17) vyjadřuje, že s 1. ordinační osou korelují zejména tyto znaky: výška rostliny bez toulce (VBT), délka horního (DL\_H) a dolního

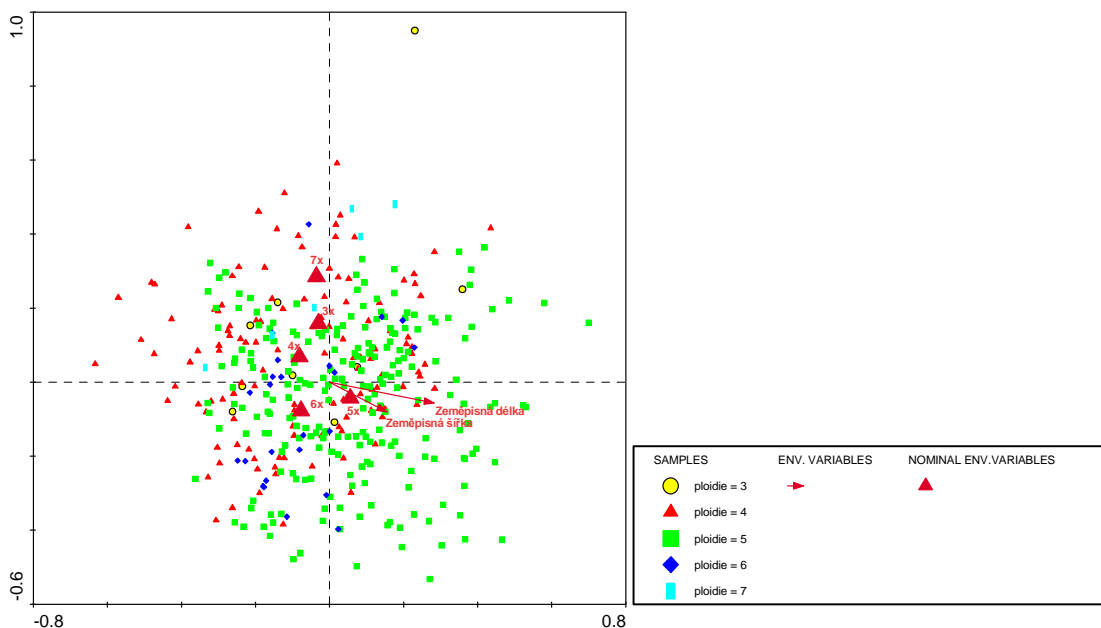


(DL\_D) listu. S 2. ordinační osou korelují znaky: hustota papil na bázi horního (HP\_BH) a dolního (HP\_BD) listu, poměr šířky k délce horního listu (P\_SDHL), poměr šířky k délce vnitřního (P\_SD\_VNI) a vnějšího (P\_SDVP) okvětního lístku a délka čnělky (DC). Na základě těchto znaků je možno slabě odlišit jednotlivé ploidie.

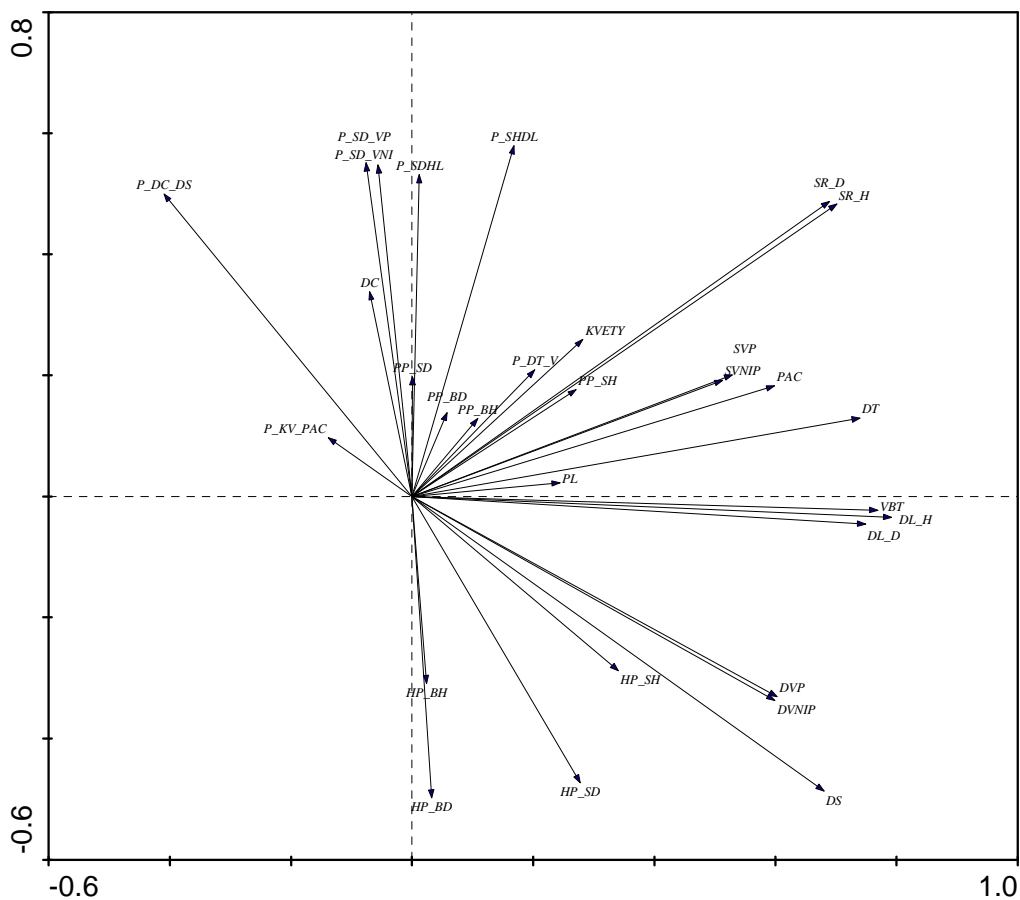
**Obrázek 15.** PCA ordinační diagram (1. a 2. osa) znázorňující všechny pozorované jedince. Analýza byla provedena se všemi měřenými znaky. Osy vysvětlují 32,0% variability datového souboru.



**Obrázek 16.** PCA ordinační diagram (se všemi měřenými znaky včetně květních částí) znázorňující všechny pozorované jedince v prostoru dvou ordinačních os. Osy vysvětlují 32,0% variability datového souboru. První osa pravděpodobně znázorňuje geografické pozice jedinců, druhá gradient ploidního stupně.



**Obrázek 17.** PCA ordinační diagram znaků znázorňující korelace znaků s 1. a 2. osou. Seznam všech užitých zkratk je uveden v kapitole 2.3.

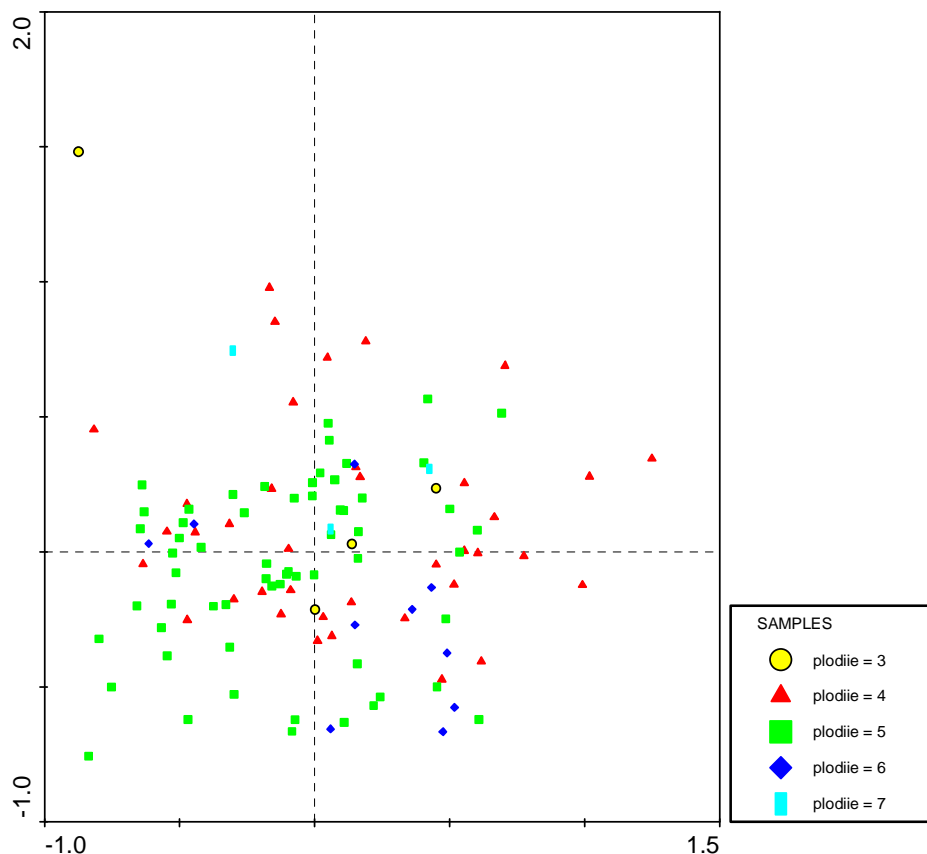


Poslední PCA analýza znázorňuje populace s průměrnými hodnotami všech měřených znaků. První osa vysvětluje 19,3% a druhá osa 14,4% variability datového souboru (obrázky 18, 19, 20). Výsledky analýzy vypovídají o nízké morfologické diferenciaci mezi cytotypy. Jistá odlišnost je patrná pro populace 5x cytotypu (obrázky 18, 19).

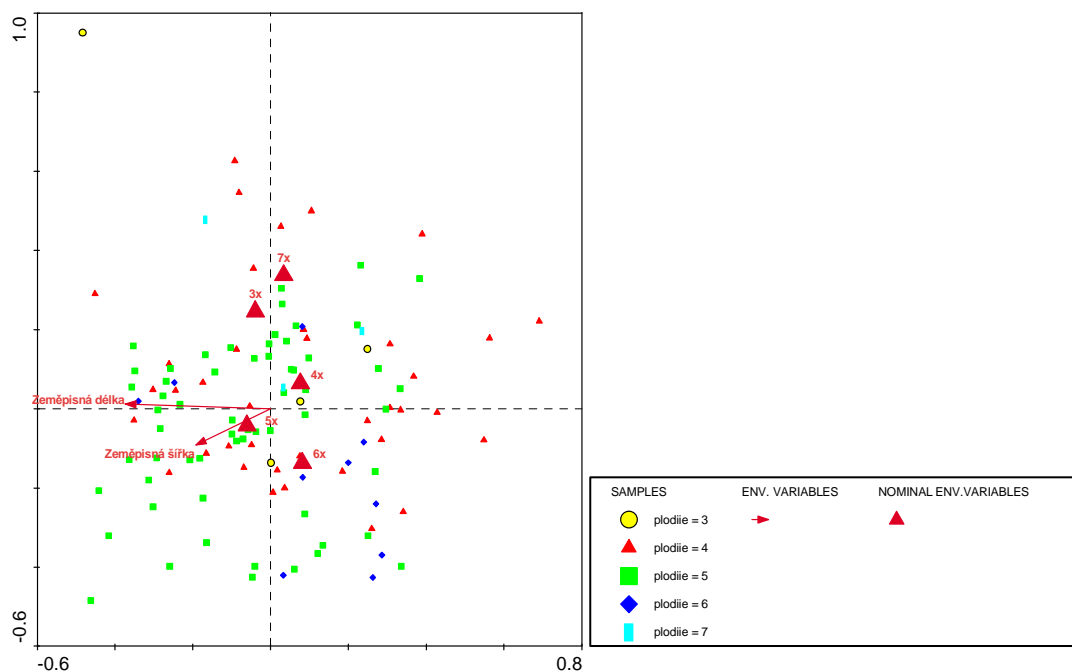
Centroidy (obrázek 19) ploidní úrovně opět ukazují, že podél druhé ordinační osy klesá ploidní úroveň, mimo 7x cytotyp. Dále poukazují na výraznější morfologickou diferenciaci mezi 6x, 3x a 7x cytotypem, méně se mezi sebou odlišují cytotypy 6x, 5x a 4x.

PCA ordinační diagram znaků (obrázek 20) znázorňuje, že s první ordinační osou korelují především tyto znaky: délka toulce (DT) a počet pacibulek (PAC). S druhou osou pak: poměr šířky k délce horního (P\_SDHL) a dolního listu (P\_SHDL) a poměr šířky k délce vnějšího (P\_SD\_VP) a vnitřního (P\_SD\_VNIP) okvětního lístku. Vektory zeměpisné šířky a délky značí, že geografie má větší vliv na znaky než ploidní úroveň.

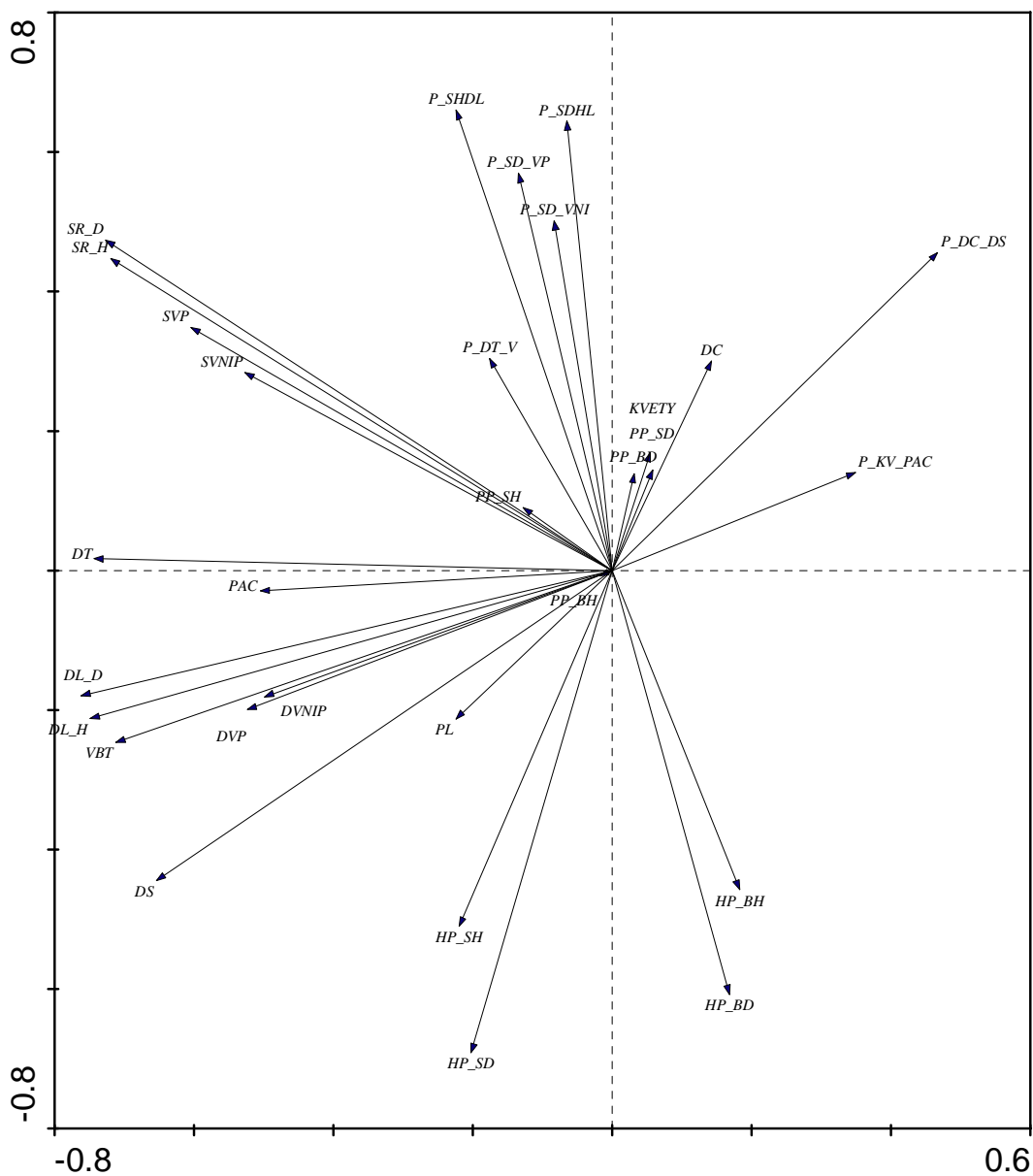
**Obrázek 18.** PCA ordinační diagram (1. a 2. osa) znázorňující všechny pozorované populace. Analýza byla provedena se všemi měřenými znaky. Osy vysvětlují 32,0% variability datového souboru.



**Obrázek 19.** PCA ordinační diagram (se všemi měřenými znaky včetně květních částí) znázorňující všechny pozorované populace v prostoru dvou ordinačních os. Osy vysvětlují 32,0% variability datového souboru. První osa pravděpodobně znázorňuje geografické pozice jedinců, druhá gradient plošního stupně.



**Obrázek 20.** PCA ordinační diagram znaků znázorňující korelace znaků s 1. a 2. osou. Seznam všech užitých zkratk je uveden v kapitole 2.3.



### 3.2.2 Diskriminační analýza anatomických a morfologických znaků

V diskriminační analýze byly zhodnoceny všechny pozorované anatomické a morfologické znaky, celkově bylo vyhodnoceno 30 znaků (tabulka 1). Testováním významnosti diskriminační analýzy byla potvrzena statistická významnost diskriminačních funkcí.

#### 3.2.2.1 Analýza A (průměrné hodnoty anatomických a morfologických znaků bez znaků na květech pro jedince z 3x, 4x, 5x, 6x a 7x cytotypu)

V analýze A byly zanalyzovány všechny anatomické a morfologické znaky bez znaků na květech pro jedince z populací 3x, 4x, 5x, 6x a 7x cytotypu. Z výsledných korelačních koeficientů (tabulka 23) vyplývá, že s diskriminační funkcí jsou korelovány zejména tyto znaky – s osou 1: počet květů (KVETY) a poměr počtu květů k počtu pacibulek (P\_KV\_PAC); s osou 2: průměr průduchů na bázi dolního listu (PP\_BD) a hustota papil na středu horního listu (HP\_SH); s osou 3: délka horního listu (DL\_H) a poměr šířky k délce horního listu (P\_SDHL). Testováním významnosti diskriminační analýzy byla potvrzena statistická významnost 3 diskriminačních funkcí (tabulka 22).

**Tabulka 22.** Analýza kanonických proměnných v rámci hodnocení pěti cytotypů (3x, 4x, 5x, 6x a 7x). Eigenvalue – vlastní čísla matice; Wilks' Lambda – testuje statistickou významnost diskriminační funkce.

Fn	Eigenvalue	F	P	Wilks' Lambda
1	0.8744	6.4	< 0.0001	0.3475
2	0.3119	3.4	< 0.0001	0.6514
3	0.0984	1.9	< 0.0001	0.8545

**Tabulka 23.** Hodnoty korelací anatomických a morfologických znaků bez znaků na květech s příslušnou kanonickou proměnnou (osou) pro všechny jedince 3x, 4x, 5x, 6x a 7x cytotypu.

Měřený znak (zkratka)	Jednotka	Korelace Variate 1	Korelace Variate 2	Korelace Variate 3
Výška rostliny bez toulce (VBT)	cm	-0.1334	-0.3088	0.3985
Počet všech listů (PL)	ks	0.2326	0.2486	0.2827
Délka horního listu (DL_H)	mm	-0.2176	-0.1517	<b>0.4460</b>
Šířka horního listu (SR_H)	mm	-0.2612	-0.0805	-0.0318
Poměr šířky: délce horního listu (P_SDHL)		-0.1189	0.0434	<b>-0.4502</b>
Průměr průduchů ve střední části horního listu (PP_SH)	µm	0.1661	-0.2713	0.0012
Průměr průduchů na bázi horního listu (PP_BH)	µm	0.0935	-0.1505	0.0736
Hustota papil ve střední části horního listu (HP_SH)	ks/2mm	0.2697	<b>-0.3931</b>	0.2074
Hustota papil na bázi horního listu (HP_BH)	ks/2mm	0.3302	-0.1938	0.1459
Celkový počet pacibulek (PAC)	ks	0.1784	-0.0145	-0.1317
Počet květů (KVETY)	ks	<b>-0.5870</b>	-0.0636	-0.1243
Délka dolního listu (DL_D)	mm	-0.2870	-0.2677	0.3057

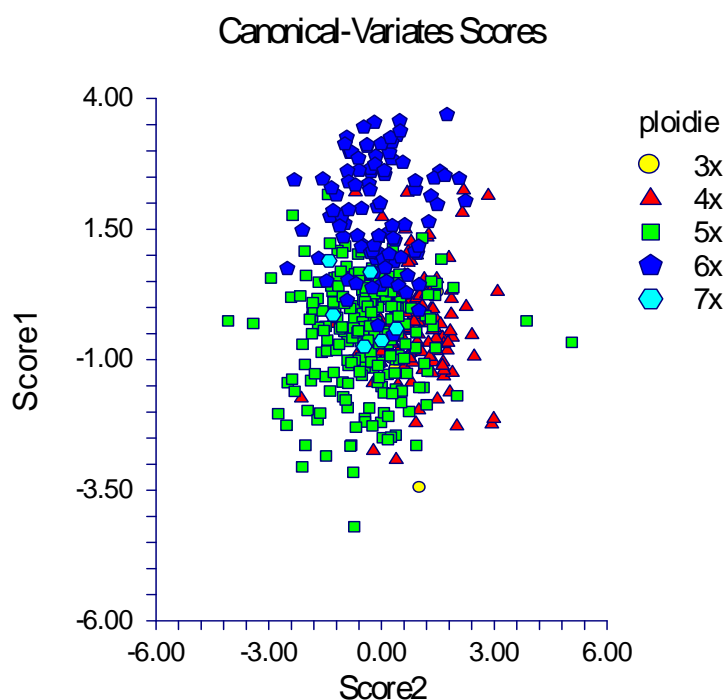
Šířka dolního listu (SR_D)	mm	-0.2364	-0.1699	0.0071
Poměr šířky: délce dolního listu (P_SHDL)		-0.0584	0.0666	-0.1930
Průměr průduchů ve střední části dolního listu (PP_SD)	μm	0.0108	-0.3234	0.0754
Průměr průduchů na bázi dolního listu (PP_BD)	μm	0.0023	<b>-0.4535</b>	-0.3265
Hustota papil ve střední části dolního listu (HP_SD)	ks/2mm	0.1235	-0.2256	0.1955
Hustota papil na bázi dolního listu (HP_BD)	ks/2mm	0.2782	-0.1199	0.2219
Délka toulce (DT)	cm	-0.2453	-0.0813	0.0030
Poměr délky toulce: výšce rostliny (P_DT_V)		-0.1847	0.1741	-0.3427
Poměr počtu květů: počtu pacibulek (P_KV_PAC)		<b>-0.5712</b>	-0.0089	0.0414

**Tabulka 24.** Klasifikační tabulka vyjadřující účinnost znaků pro rozlišení cytotypů (3x, 4x, 5x, 6x, 7x). Redukce v klasifikační chybě v důsledku využití diskriminačních funkcí, pokud by byli jedinci klasifikováni náhodně = 55,0%.

Skutečné	Predikované					Celkem
	3x	4x	5x	6x	7x	
3x	7	2	0	0	0	9
4x	11	79	18	13	7	128
5x	28	41	129	15	16	229
6x	0	7	7	78	3	95
7x	0	0	0	0	6	6
<b>Celkem</b>	46	129	154	106	32	467

Jak ukazuje první i druhá kanonická osa (Score 1, 2, obrázek 21) mezi všemi cytotypy dochází k velkým překryvům, jednoznačně se nedá jednotlivé cytotypy od sebe navzájem odlišit.

**Obrázek 21.** Grafické znázornění výsledků diskriminační analýzy A (znázorňující všechny pozorované jedince s příslušnou ploidií se všemi měřenými znaky vyjma květních částí). Z rozložení jedinců podél os vyplývá, zda je možné na základě znaků od sebe odlišit jednotlivé ploidie.



### 3.2.2.2 Analýza B (průměrné populační hodnoty anatomických a morfologických znaků bez znaků na květech pro populace 3x, 4x, 5x, 6x a 7x cytotypů)

Stejný postup byl použit i pro analýzu souboru dat B, zhodnoceny byly všechny průměrné hodnoty anatomických a morfologických znaků bez znaků na květech pro populace 3x, 4x, 5x, 6x a 7x cytotypu. Z korelačních koeficientů vyplývá (tabulka 26), že s iskriminační funkcí korelují zejména tyto znaky – s osou 1: počet květů (KVETY), poměr počtu květů k počtu pacibulek (P\_KV\_PAC); s 2. osou: hustota papil ve střední části horního (HP\_SH) a dolního (HP\_SD) listu a průměr průduchů na bázi dolního listu (PP\_BD); s osou 3: průměr průduchů na bázi dolního listu (PP\_BD) a středu obou listů (PP\_SD, PP\_SH). Testováním významnosti diskriminační analýzy byla potvrzena statistická významnost 3 diskriminačních funkcí (tabulka 25).

**Tabulka 25.** Analýza kanonických proměnných v rámci hodnocení pěti cytotypů (3x, 4x, 5x, 6x a 7x). Eigenvalue – vlastní čísla matice; Wilks'Lambda – testuje statistickou významnost diskriminační funkce.

Fn	Eigenvalue	F	P	Wilks'Lambda
1	1.6422	2.9	< 0.0001	0.1610
2	0.4798	1.8	< 0.0001	0.4255
3	0.2745	1.5	< 0.0001	0.6296

**Tabulka 26.** Hodnoty korelací anatomických a morfologických znaků bez znaků na květech s příslušnou kanonickou proměnnou (osou) pro všechny populace 3x, 4x, 5x, 6x a 7x cytotypu.

Měřený znak (zkratka)	Jednotka	Korelace Variate 1	Korelace Variate 2	Korelace Variate 3
Výška rostliny bez toulce (VBT)	cm	0.1424	-0.0780	0.1349
Počet všech listů (PL)	ks	-0.2164	0.1604	-0.1409
Délka horního listu (DL_H)	mm	0.2235	0.0469	0.0394
Šířka horního listu (SR_H)	mm	0.2410	0.1187	0.3299
Poměr šířky: délce horního listu (P_SDHL)		0.0837	0.0703	0.3083
Průměr průduchů ve střední části horního listu (PP_SH)	µm	-0.0585	-0.1671	<b>0.4354</b>
Průměr průduchů na bázi horního listu (PP_BH)	µm	-0.0468	-0.0778	0.3050
Hustota papil ve střední části horního listu (HP_SH)	ks/2mm	-0.2717	<b>-0.5340</b>	-0.1509
Hustota papil na bázi horního listu (HP_BH)	ks/2mm	-0.3128	-0.2430	-0.0954
Celkový počet pacibulek (PAC)	ks	-0.1161	0.0466	0.3194
Počet květů (KVETY)	ks	<b>0.5377</b>	0.0997	0.1921
Délka dolního listu (DL_D)	mm	0.2517	-0.1042	0.0327
Šířka dolního listu (SR_D)	mm	0.2365	0.0489	0.2225
Poměr šířky: délce dolního listu (P_SHDL)		0.0936	0.1136	0.1648
Průměr průduchů ve střední části dolního listu (PP_SD)	µm	0.0628	-0.0904	<b>0.4417</b>
Průměr průduchů na bázi dolního listu (PP_BD)	µm	0.0874	<b>-0.3425</b>	<b>0.5265</b>
Hustota papil ve střední části dolního listu (HP_SD)	ks/2mm	-0.1298	<b>-0.3373</b>	-0.2249
Hustota papil na bázi dolního listu (HP_BD)	ks/2mm	-0.2478	-0.2438	-0.2232

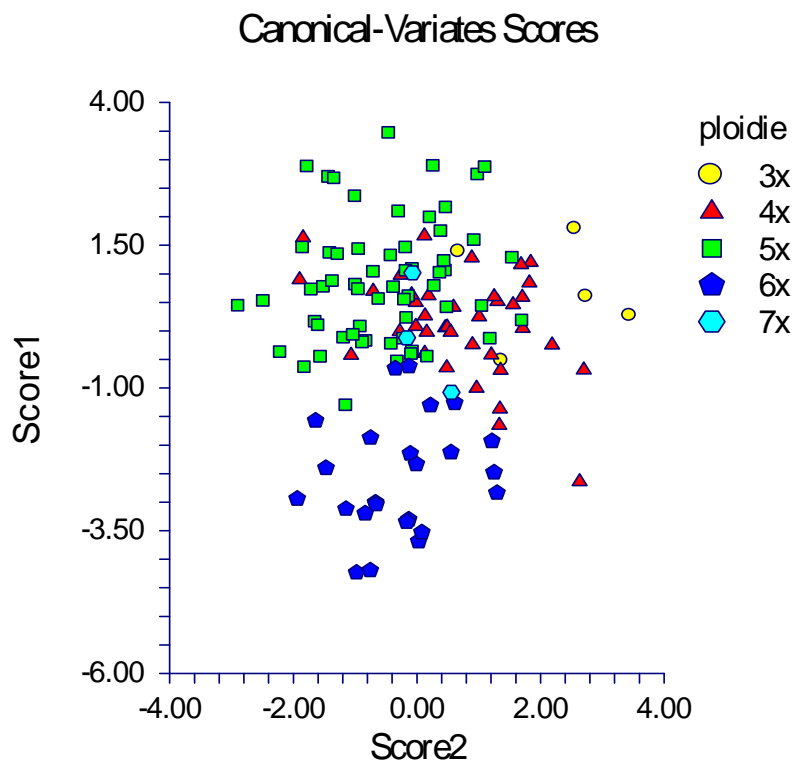
Délka toulce (DT)	cm	0.2360	0.1089	0.2925
Poměr délky toulce: výšce rostliny (P_DT_V)		0.1667	0.1907	0.1957
Poměr počtu květů: počtu pacibulek (P_KV_PAC)		<b>0.4789</b>	0.0543	-0.0549

**Tabulka 27.** Klasifikační tabulka vyjadřující účinnost znaků pro rozlišení cytotypů (3x, 4x, 5x, 6x, 7x). Redukce v klasifikační chybě v důsledku využití diskriminačních funkcí, pokud by byly populace klasifikované náhodně = 74%.

Skutečné	Predikované					Celkem
	3x	4x	5x	6x	7x	
3x	4	1	0	0	0	5
4x	1	32	4	1	0	38
5x	1	10	45	1	3	60
6x	0	3	1	19	1	24
7x	0	0	0	0	3	3
<b>Celkem</b>	6	46	50	21	7	130

První kanonická osa ukazuje (Score 1; obrázek 22), že mezi 3x, 4x, 5x a 7x cytotypem jsou časté překryvy, cytotypy nelze od sebe jednoznačně odlišit. Z kombinace první a druhé kanonické osy (Score 2) vyplývá, že lze odlišit poměrně dobře 6x cytotyp od ostatních cytotypů, mezi 4x, 5x a 7x cytotypy jsou silné překryvy, cytotyp 3x je pak překrýván méně.

**Obrázek 22.** Grafické znázornění výsledků diskriminační analýzy B (znázorňující všechny pozorované populace s příslušnou ploidií se všemi měřenými znaky vyjma květních částí). Z rozložení populací podél os vyplývá, zda je možné na základě znaků od sebe odlišit jednotlivé ploidy.





### 3.2.2.3 Analýza C (průměrné hodnoty anatomických a morfologických znaků pro jedince z 3x, 4x, 5x, 6x a 7x cytotypu)

V analýze C byly zhodnoceny všechny anatomické a morfologické znaky pro jedince z populací 3x, 4x, 5x, 6x a 7x cytotypu. Výsledné korelační koeficienty ukazují (tabulka 29), že s diskriminační funkcí jsou v korelaci především tyto znaky – s osou 1: délka vnitřních (DVNIP) a vnějších (DVP) okvětních lístků; s osou 2: hustota papil na bázi horního listu (HP\_BH) a počet květů (KVETY); s osou 3: hustota papil na bázi (HP\_BH) a středu (HP\_SH) horního listu; s osou 4: průměr průduchů na bázi (PP\_BH) a středu (PP\_SH) horního listu. Testováním významnosti diskriminační analýzy byla potvrzena statistická významnost 4 diskriminačních funkcí (tabulka 28).

**Tabulka 28.** Analýza kanonických proměnných v rámci hodnocení pěti cytotypů (3x, 4x, 5x, 6x a 7x). Eigenvalue – vlastní čísla matice; Wilks'Lambda – testuje statistickou významnost diskriminační funkce.

Fn	Eigenvalue	F	P	Wilks'Lambda
1	1.1076	4.6	< 0.0001	0.2731
2	0.3539	2.5	< 0.0001	0.5757
3	0.1447	1.7	< 0.0001	0.7794
4	0.1208	1:6	< 0.0001	0.8922

**Tabulka 29.** Hodnoty korelací anatomických a morfologických znaků s příslušnou kanonickou proměnnou (osou) pro všechny jedince 3x, 4x, 5x, 6x a 7x cytotypu.

Měřený znak (zkratka)	Jednotka	Korelace Variate 1	Korelace Variate 2	Korelace Variate 3	Korelace Variate 4
Výška rostliny bez toulce (VBT)	cm	0.1831	0.2415	0.0831	<b>-0.3266</b>
Počet všech listů (PL)	ks	-0.1595	0.0317	0.1980	-0.0874
Délka horního listu (DL_H)	mm	0.1022	0.3070	0.1308	-0.2819
Šířka horního listu (SR_H)	mm	0.0624	0.1501	-0.1471	-0.0883
Poměr šířky: délce horního listu (P_SDHL)		-0.0195	-0.1581	-0.2607	0.1201
Průměr průduchů ve střední části horního listu (PP_SH)	μm	0.1280	-0.1536	-0.1035	<b>-0.3120</b>
Průměr průduchů na bázi horního listu (PP_BH)	μm	0.0696	-0.0733	-0.0605	<b>-0.3094</b>
Hustota papil ve střední části horního listu (HP_SH)	ks/2mm	0.2262	-0.1596	<b>0.3604</b>	0.1298
Hustota papil na bázi horního listu (HP_BH)	ks/2mm	0.1018	<b>-0.4055</b>	<b>0.4213</b>	-0.0036
Délka vnějších okvětních lístků (DVP)	mm	<b>0.4266</b>	0.0577	0.0723	0.2505
Délka vnitřních okvětních lístků (DVNIP)	mm	<b>0.5009</b>	0.1162	-0.0100	0.2106
Šířka vnějších okvětních lístku (SVP)	mm	0.1169	0.0122	-0.0579	0.2345
Šířka vnitřních okvětních lístků (SVNIP)	mm	0.2721	-0.1665	-0.3166	0.0669
Poměr šířky: délce vnějších OL (P_SD_VP)		-0.2967	-0.0270	-0.1305	0.0012
Poměr šířky: délce vnitřních OL (P_SD_VNIP)		-0.1668	-0.2667	-0.3201	-0.1136
Délka čnělky (DC)	mm	-0.1521	-0.0197	-0.1996	-0.1516
Délka semeníku (DS)	mm	0.3215	0.1252	0.0790	0.2100
Poměr délky čnělky: délce semeníku (P_DC_DS)		-0.3095	-0.0611	-0.1949	-0.2004

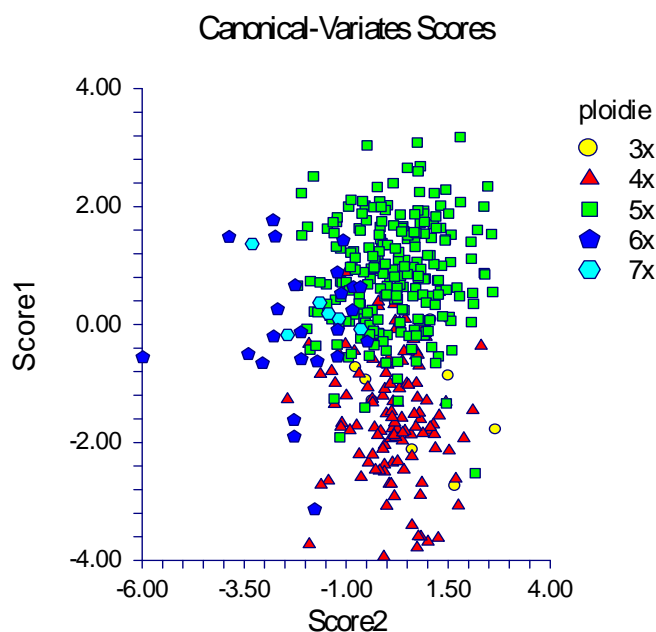
Celkový počet pacibulek (PAC)	ks	-0.0132	-0.0910	-0.1736	-0.0526
Počet květů (KVETY)	ks	0.0753	<b>0.3279</b>	-0.2864	-0.0386
Délka dolního listu (DL_D)	mm	0.1738	0.2077	0.1209	-0.1949
Šířka dolního listu (SR_D)	mm	0.1152	0.2332	-0.1473	-0.0203
Poměr šířky: délce dolního listu (P_SHDL)		-0.0328	0.1412	-0.2290	0.1748
Průměr průduchů ve střední části dolního listu (PP_SD)	μm	0.1668	-0.1174	-0.1216	-0.5115
Průměr průduchů na bázi dolního listu (PP_BD)	μm	0.2466	-0.1941	-0.2794	-0.0858
Hustota papil ve střední části dolního listu (HP_SD)	ks/2mm	0.1337	-0.0201	0.3210	0.2197
Hustota papil na bázi dolního listu (HP_BD)	ks/2mm	0.0553	-0.2443	0.4437	0.1157
Délka toulce (DT)	cm	0.0611	0.1800	-0.1594	-0.1268
Poměr délky toulce: výšce rostliny (P_DT_V)		-0.0880	0.0230	-0.2758	0.1431
Poměr počtu květů: počtu pacibulek (P_KV_PAC)		0.0487	<b>0.3296</b>	-0.1161	-0.0475

**Tabulka 30.** Klasifikační tabulka vyjadřující účinnost znaků pro rozlišení cytotypů (3x, 4x, 5x, 6x, 7x). Redukce v klasifikační chybě v důsledku využití diskriminačních funkcí, pokud by byli jedinci klasifikováni náhodně = 68,4%.

Skutečné	Predikované					Celkem
	3x	4x	5x	6x	7x	
3x	7	2	0	0	0	9
4x	12	89	18	7	2	128
5x	3	18	177	15	16	229
6x	0	2	3	17	2	24
7x	0	0	0	0	6	6
<b>Celkem</b>	22	111	198	39	26	396

Na první kanonické ose (Score 1, obrázek 23) lze sledovat překryvy mezi 5x, 6x a 7x cytotypem. Pomocí znaků lze od sebe odlišit 5x od 4x cytotypu. Na druhé ose (Score 2) dochází k překryvům mezi všemi cytotypy.

**Obrázek 23.** Grafické znázornění výsledků diskriminační analýzy C (znázorňující všechny pozorované jedince s příslušnou ploidií se všemi měřenými znaky včetně květních částí). Z rozložení jedinců podél os vyplývá, zda je možné na základě znaků od sebe odlišit jednotlivé ploidy.



### 3.2.2.4 Analýza D (průměrné populační hodnoty anatomických a morfologických znaků pro populace 3x, 4x, 5x, 6x a 7x cytotypů)

V analýze D byly zhodnoceny všechny průměrné populační hodnoty anatomických a morfologických znaků pro populace 3x, 4x, 5x, 6x a 7x cytotypu. Výsledné korelační koeficienty ukazují (tabulka 32), že s diskriminační funkcí byly korelovány zejména tyto znaky – s osou 1: délka vnitřních (DVNIP) a vnějších (DVP) okvětních lístků; s 2. osou: hustota papil na středu (HP\_SH) a bázi (HP\_BH) horního listu. Testováním významnosti diskriminační analýzy byla potvrzena statistická významnost prvních dvou kanonických os (tabulka 31).

**Tabulka 31.** Analýza kanonických proměnných v rámci hodnocení pěti cytotypů (3x, 4x, 5x, 6x a 7x). Eigenvalue – vlastní čísla matice; Wilks'Lambda – testuje statistickou významnost diskriminační funkce.

Fn	Eigenvalue	F	P	Wilks'Lambda
1	1.7873	2.1	< 0.0001	0.1037
2	0.9958	1.5	< 0.0001	0.2891

**Tabulka 32.** Hodnoty korelací anatomicko-morfologických znaků s příslušnou kanonickou proměnnou (osou) pro všechny populace 3x, 4x, 5x, 6x a 7x cytotypu.

Měřený znak (zkratka)	Jednotka	Korelace Variate 1	Korelace Variate 2
Výška rostliny bez toulce (VBT)	cm	0.1737	-0.0186
Počet všech listů (PL)	ks	-0.0934	-0.0857
Délka horního listu (DL_H)	mm	0.1652	-0.1404
Šířka horního listu (SR_H)	mm	0.0899	-0.0894
Poměr šířky: délce horního listu (P_SDHL)		-0.0430	0.0403
Průměr průduchů ve střední části horního listu (PP_SH)	μm	0.0128	0.2072
Průměr průduchů na bázi horního listu (PP_BH)	μm	-0.0206	0.1162
Hustota papil ve střední části horního listu (HP_SH)	ks/2mm	0.0355	<b>0.4198</b>
Hustota papil na bázi horního listu (HP_BH)	ks/2mm	-0.0901	<b>0.2995</b>
Délka vnějších okvětních lístků (DVP)	mm	<b>0.3419</b>	0.1814
Délka vnitřních okvětních lístků (DVNIP)	mm	<b>0.3995</b>	0.1481
Šířka vnějších okvětních lístku (SVP)	mm	0.0809	-0.0303
Šířka vnitřních okvětních lístků (SVNIP)	mm	0.1515	0.1264
Poměr šířky: délce vnějších OL (P_SD_VP)		-0.2245	-0.2190
Poměr šířky: délce vnitřních OL (P_SD_VNIP)		-0.1878	-0.0045
Délka čnělky (DC)	mm	-0.0862	-0.1101
Délka semeníku (DS)	mm	0.2292	0.0868
Poměr délky čnělky: délce semeníku (P_DC_DS)		-0.1956	-0.1571
Celkový počet pacibulek (PAC)	ks	-0.0601	0.1416
Počet květů (KVETY)	ks	0.2369	-0.2452
Délka dolního listu (DL_D)	mm	0.1721	-0.0204
Šířka dolního listu (SR_D)	mm	0.1350	-0.1387
Poměr šířky: délce dolního listu (P_SHDL)		0.0307	-0.1510
Průměr průduchů ve střední části dolního listu (PP_SD)	μm	0.0552	0.1156

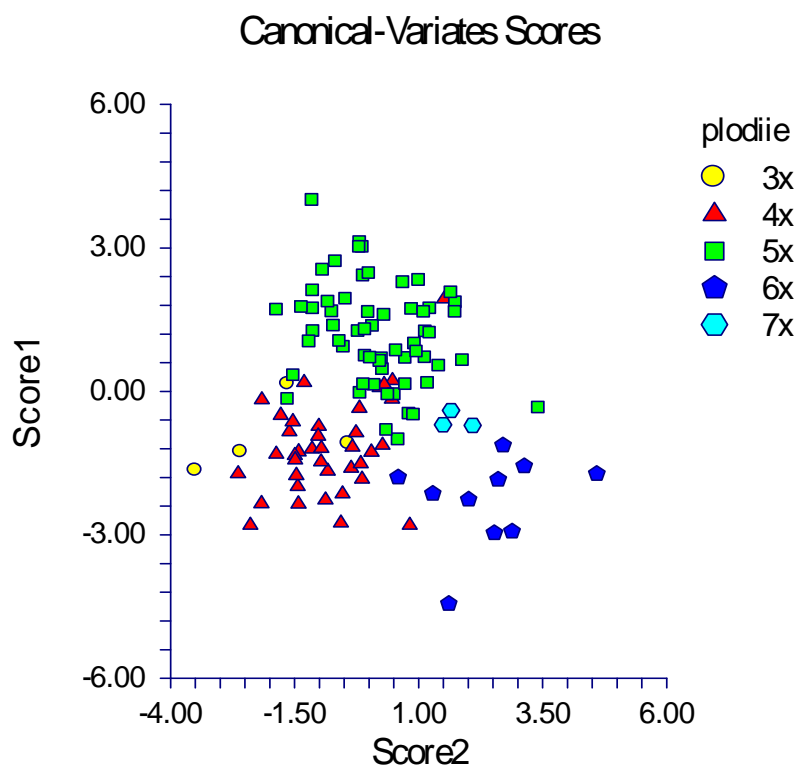
Průměr průduchů na bázi dolního listu (PP_BD)	μm	0.1587	0.2045
Hustota papil ve střední části dolního listu (HP_SD)	ks/2mm	0.0433	0.2174
Hustota papil na bázi dolního listu (HP_BD)	ks/2mm	-0.0905	<b>0.2828</b>
Délka toulce (DT)	cm	0.0905	-0.0957
Poměr délky toulce: výšce rostliny (P_DT_V)		-0.0513	-0.1003
Poměr počtu květů:počtu pacibulek (P_KV_PAC)		0.1756	<b>-0.2599</b>

**Tabulka 33.** Klasifikační tabulka vyjadřující účinnost znaků pro rozlišení cytotypů (3x, 4x, 5x, 6x, 7x). Redukce v klasifikační chybě v důsledku využití diskriminačních funkcí, pokud by byly populace klasifikované náhodně = 74,6%

Skutečné	Predikované					Celkem
	3x	4x	5x	6x	7x	
3x	3	1	1	0	0	5
4x	1	31	3	1	0	36
5x	1	9	46	1	3	60
6x	0	4	0	19	1	24
7x	0	0	0	0	3	3
<b>Celkem</b>	5	5	50	21	7	128

První kanonická osa ukazuje (Score 1; obrázek 24), že lze pomocí znaků od sebe odlišit populace 5x od populací 3x, 4x, 6x a 7x cytotypu. Druhá osa (Score 2) umožňuje dále odlišit 3x, 4x, 6x a 7x cytotyp. K překryvům dochází u obou os minimálně.

**Obrázek 24.** Grafické znázornění výsledků diskriminační analýzy A (znázorňující všechny pozorované populace s příslušnou ploidií se všemi měřenými znaky včetně květních částí). Z rozložení populací podél os vyplývá, zda je možné na základě znaků od sebe odlišit jednotlivé ploidie.



## 4 DISKUSE

### 4.1 Zhodnocení variability anatomických a morfologických znaků pěti cytotypů ( $2n = 3x, 4x, 5x, 6x$ a $7x$ ) *A. oleraceum*

Morfologické znaky patřily a stále patří k základním a k nejdostupnějším parametrům pro klasifikaci rostlin do jednotlivých taxonomických skupin. V rodě *Allium* můžeme sledovat velké odlišnosti jak ve stavbě, tak i v povrchové struktuře všech rostlinných orgánů. Mezi základní morfologické znaky používané pro určování zástupců z tohoto rodu řadíme např. tvar podzemní cibule, přítomnost či nepřítomnost oddenku, tvar listu, toulce a květenství, délku květní stopky, barvu květů, délku tyčinek, přítomnost pacibulek v květenství, oblost či hranatost lodyhy apod. (Dostál 1989, Krahulec & Duchoslav 2010). K anatomickým znakům důležitým pro rozlišení jednotlivých druhů tohoto rodu patří především znaky na epidermis listů, jako je přítomnost papil (typ a hustota papil) na hraně listu, anatomie průduchů (Krahulec 1977).

Ve svém vlastním pozorování jsem se konkrétně zabývala polyploidním komplexem česneku planého (*Allium oleraceum* L.). Hlavním cílem této práce bylo zjistit, zda je možné na základě vybraných anatomických a morfologických znaků od sebe odlišit jednotlivé cytotypy, případně je dále taxonomicky hodnotit. Na základě určovacích klíčů a zkušenostem z terénu byly z důvodu co nejobektivněji posoudit rozdíly mezi jednotlivými cytotypy vybrány tyto anatomické a morfologické znaky: výška rostliny, výška rostliny po toulec, počet listů, délka a šířka horního a dolního listu, velikost průduchů a papilnatost na bázi i středu obou listů, počet květů, délky a šířky vnitřních i vnějších okvětních lístku, délka čnělky, délka semeníku a počet pacibulek. Téměř všechny tyto znaky byly měřeny bez potíží, komplikovanější bylo pouze počítání papil na hranách listů, které pro dosažení co nejpřesnějšího výsledku vyžadovalo velkou trpělivost.

Variabilita rostlin se neprojevuje jen na úrovni druhů, ale i uvnitř každého druhu. Hodnocení anatomických a morfologických znaků na úrovni jednotlivých ploidních úrovní se pak stává mnohem složitějším procesem, řada vědců považuje samotné hodnocení cytotypů za velmi kontroverzní téma. Přes všechny tyto oprávněné spekulace, počet publikací o tom, zdali je vůbec možné rozlišit jednotlivé cytotypy na základě vybraných znaků, roste. Pro posouzení této problematiky jsem použila výsledky jak své práce, které

jsem se pokusila porovnat s výsledky Ohryzka (Ohryzek 2007), tak i výsledky práce jiných autorů zabývajících se stejnou otázkou.

Jak už bylo uvedeno v předchozích kapitolách, polyploidní proces způsobuje změny v morfologii a anatomii u nově vzniklých polyploidních komplexů. Rozlišení jednotlivých cytotypů na základě dostupných anatomických a morfologických znaků, není pak vůbec jednoduché a ani jednoznačné, někteří autopolyploidi mohou být morfologicky zcela nerozlišitelní (Briggs & Walters 2001; Levin 2002). Krahulec (1977) ve své práci uvádí, že za vhodné znaky pro rozlišení jednotlivých druhů v rámci rodu *Allium* vyskytujících se v České republice lze považovat výše uvedené znaky na listové epidermis (anatomie papil a průduchů). Obecně se uvádí se, že s růstem ploidní úrovně roste velikost průduchů (Briggs & Walters 2001; Levin 2002). Tato teorie byla částečně potvrzena i v mém pozorování, kdy 4x cytotyp měl výrazně menší velikost průduchů než cytotypy 5x, 6x a 7x u kterých byla zjištěna vysoká variabilita v průměrné velikosti průduchů, tyto cytotypy se výrazně překrývaly. Pravidlo nebylo potvrzeno při pozorování rostlin 3x cytotypu, u nich byla zjištěna větší velikost průduchů v porovnání s 4x cytotypem. Ohryzek (Ohryzek 2007), který ve svém výzkumu hodnotil tři cytotypy (4x, 5x, 6x) českých populací, dospěl ve své práci k podobným výsledkům, kdy jedinci 4x cytotypu vykazovaly výrazně menší průduchy než cytotypy 4x a 5x. I přes v tomto případě potvrzenou teorii, není tento znak v praxi příliš použitelný.

Dalším hodnoceným anatomickým znakem na listové epidermis byla hustota papil. Nižší hustotu papil či jejich úplnou absenci jsem zjistila na horním listu a to ve všech cytotypech. Naopak na dolním listu pozvolna narůstal počet papil od 3x po 6x cytotyp, u 7x cytotypu počet papil výrazně klesl, což mohlo být způsobeno malým množstvím analyzovaných jedinců tohoto cytotypu. K obdobným výsledkům dospěl i Ohryzek (Ohryzek 2007), znak hustota papil považuje za velice variabilní jak na úrovni jedinců, populací tak i samotných cytotypů. Tento fakt byl ale v rozporu se zkušenostmi z terénu, kdy se předpokládalo, že tetraploidní jedinci budou mít listy hladké, bezpapilnaté, v porovnání s ostatními značně papilnatými listy. Znak hustota papil může být také ve velké míře ovlivněn stupněm ontogenetického vývoje a konkrétním prostředím, ve kterém se daný jedinec vyskytuje.

Na listech jsem hodnotila i znaky morfologické a to celkový počet listů, délku a šířku dvou odebraných vitálních listů, spočítány byly i poměry mezi těmito dvěma znaky.

U rostlin 3x, 4x a 6x cytotypu jsem průměrně napočítala 3-4 listy na každém jedinci, u 5x a 7x cytotypu pak listy 2-3. Nejdelší listy měl 5x a 3x cytotyp, nejkratší 6x a 7x cytotyp. Výsledky hodnocení šířek horního listů dopadly téměř analogicky jako v předešlém případě, to ale nebylo zcela potvrzeno na dolním listu, kdy nejširší listy jsem naměřila u 5x a 7x jedinců, nejužší listy u 6x jedinců. Poměry šířek k délkám byly obdobné pro oba dva listy. Nejvyšších hodnot dosahovaly 7x cytotypy, nejnižších 3x a 6x cytotypy. Ohryzek (Ohryzek 2007) dospěl k výsledkům, že 5x cytotyp měl nejdelší a nejširší listy, nižší hodnoty délek a šířek měl 4x cytotyp, nejnižší pak 6x cytotyp. Tvzení, že se vzrůstající ploidii roste velikost rostliny a tím i délka a šířka listů, bylo částečně potvrzeno i v mém pozorování (Briggs & Walters 2001; Levin 2002). Obdobné jsou i výsledky práce Karpavičiené (2012), která ve svém výzkumu pozorovala 4x a 5x cytotypy *A. oleraceum* zapěstované za standartních podmínek pokusné zahrady v Litvě, kdy znak počet listů a jejich délka byly při celkovém zhodnocení dat při porovnání s ostatními znaky nejméně variabilní.

Dále byly zhodnoceny znaky na květech, u kterých se předešlá teorie o tom, že s rostoucí ploidii se zvětšují rozměry rostliny, potvrdila pouze částečně. Od 3x po 5x cytotyp postupně narůstala délka vnitřních a vnějších okvětních lístků. Vůbec největší délky měl 5x cytotyp. Šířky okvětních lístků byly naopak ve všech cytotypech, jak vnitřní tak vnější, velmi vyrovnané. Obdobné výsledky byly zjištěny i u poměrů vypočítaných mezi šířkou a délkou vnitřního a vnějšího okvětního lístku. U znaků jako je délka čnělky a délka semeníku a jejich poměr nebyla prokázána výrazná odlišnost mezi cytotypy. Ukázal se pouze nepatrný náznak delšího semeníku ale ne delší čnělky u 5x cytotypu. S postupným zráním blizen narůstá délka čnělky, vzhledem k této skutečnosti je nutné tento znak považovat za velmi variabilní. Čnělky bylo tedy nezbytné odebírat ve stejné fenologické fázi (kapitola 2.3). U 6x a 7x cytotypu je však nutno k získaným údajům přistupovat opatrně, a to z toho důvodu, že hexaploidi obecně produkují menší počet květů a u 7x cytotypu byl proměřen pouze malý počet jedinců. K obdobným výsledkům došel i Ohryzek (Ohryzek 2007) ve své práci, kdy byla prokázána vnitro- i mezipopulační variabilita na všech hodnocených částech květu. Největší rozměry délek a šířek okvětních lístků, délek čnělek i semeníků, měly v jeho pozorování rovněž 5x jedinci. Zjistil, že poměry mezi šířkou a délkou vnějších okvětních lístků jsou nejvyšší u 4x cytotypu. Poměry vnitřních

okvětních lístků se u všech třech cytotypů významně neliší, což bylo potvrzeno i v mé studii.

Ohryzek ve své práci hodnotil i barvu okvětních lístků. Z výsledků jeho pozorování vyplývá, že 5x jedinci mají obvykle výrazněji zbarvené (červenozelené) květy v porovnání s 4x jedinci, kteří mají okvětní lístky zbarveny spíše do růžovo-bílo-zelené barvy. Åström a Hægström (2004) ve své práci publikují podobné výsledky, kdy u 5x jedinců byly zpozorovány červenější květy s červeno-hnědými žilkami, 4x cytotyp pak měl okvětní lístky výrazně světlejší (růžovo-bílé). Autoři se domnívají, že jde o adaptaci 5x cytotypu, kdy rostliny svými tmavšími květy více lákají hmyz, a tím zvyšují pravděpodobnost cizosprážen. Je však nutné si uvědomit, že konkrétní zbarvení květů je pravděpodobně z velké části ovlivněno prostředím (osvětlení, chemismus půdy) a obecně ve stíněných podmínkách jsou barvy výrazně světlejší (Ohryzek 2007).

Za velmi spolehlivý znak pro rozlišení jednotlivých cytotypů lze považovat počet květů, kdy rostliny 6x cytotypu nevytvářely květy nebo jich měly velmi málo v porovnání s ostatními cytotypy, které bohatě vykvétaly a produkovaly i obdobné počty květů. Ke stejným výsledkům dospěl i Ohryzek (2007). Karpavičienė (2012) hodnotící 4x a 5x cytotypy taktéž uvádí, že jedinci těchto ploidií vytváří podobné počty květů, přičemž schopnost *A. oleraceum* produkovat květy je ve velké míře ovlivněna velikostí rostliny.

Za vhodný znak pro odlišení cytotypů lze považovat i počet pacibulek, kdy naopak 6x společně s 7x rostlinami měly nejvíce pacibulek oproti ostatním cytotypům. Ohryzek (Ohryzek 2007) ale ve své práci znak počet pacibulek vyhodnotil jako statisticky nesignifikantní. Poměry počtu květů k pacibulkám byly u 3x, 4x a 5x cytotypu vyrovnané, nižší hodnotu poměrů měl 7x, téměř nulovou pak 6x cytotyp. Výsledky těchto znaků pro 7x cytotyp je nutné brát s rezervou z důvodu nízkého počtu analyzovaných jedinců.

Hodnocena byla i výška celé rostliny. Ta byla rozlišena na výšku rostliny po toulec a samotnou délku toulce. Celkově můžeme říci, že největší hodnoty těchto znaků měly zástupci 3x a 5x, nejmenších pak 4x a 6x cytotypy. Vypočítala jsem i poměry délky toulce k výšce celé rostliny, výsledné poměry byly až na 7x cytotyp velmi vyrovnané. K obdobným výsledkům dospěl i Ohryzek (2007), kdy nejvyšší jedince vytvářel 5x cytotyp, nižší pak 4x a 3x cytotyp. Totéž bylo potvrzeno i v práci Karpavičienė (2012), kdy 5x jedinci byli vyšší v porovnání s 4x rostlinami.



## 4.2 PCA a diskriminační analýza anatomických a morfologických znaků pěti cytotypů ( $2n = 3x, 4x, 5x, 6x$ a $7x$ ) *A.oleraceum*

V první PCA analýze byly zanalyzovány veškeré anatomické a morfologické znaky všech pozorovaných vzorků bez znaků na květních částech. Byla zjištěna slabá morfologická diference mezi jednotlivými cytotypy, nejvíce se od ostatních cytotypů odlišoval pouze 6x cytotyp. Na diferenciaci 6x od ostatních cytotypů měl největší vliv znak velikost průduchů na bázi i středu horního a dolního listu. S centroidy jednotlivých ploidií bylo patrné, že podél druhé ordinační osy klesá ploidní úroveň, výjimkou byl pouze 7x cytotyp. Vektory zeměpisné délky a šířky poukazyvaly na to, že geografie ovlivňuje morfologické znaky více než konkrétní ploidní úroveň. Další analýza provedená na všech znacích včetně znaků na květech prokázala opět nízkou morfologickou diferenciaci mezi jedinci jednotlivých ploidií. Jedinci se mezi sebou ve všech měřených anatomických a morfologických znacích významně neliší. Jistá odlišnost byla zjištěna u 5x jedinců, 6x jedinci se oproti předešlé analýze neodlišovali od ostatních ploidních úrovní. Vynesené centroidy pro jednotlivé cytotypy opět naznačují tendenci snížení ploidní úrovně směrem nahoru, kromě 7x cytotypu. Poukazují na nejvýraznější morfologickou diferenciaci mezi 6x, 3x a 7x, nejmenší rozdíly jsou mezi 4x, 5x a 6x cytotypem.

Pomocí PCA analýzy byly otestovány také samotné populace s průměrnými hodnotami všech znaků bez květních částí. Výsledky analýzy ukázaly, že jednotlivé populace se mezi sebou v daných znacích výrazně neliší a cytotypy nelze na jejich základě odlišit. Určitým způsobem se lišily pouze populace 6x a částečně i 7x cytotypu, což může být v tomto případě způsobeno nízkým počtem analyzovaných populací. Centroidy opět ukázaly, že směrem vzhůru se snižuje ploidní stupeň, s výjimkou 7x cytotypu. Nejvýraznější morfologická diference je mezi 6x, 4x a 7x cytotypem, naopak nepatrně se odlišují 5x a 3x cytotypy. Z PCA ordinačního diagramu znaků vyplynulo, že s geografii silně korelují znaky jako je šířka horního a dolního listu, s ploidií pak znaky jako je počet listů, hustota průduchů ve střední části obou analyzovaných listů a poměr počtu květů k pacibulkám. Výsledky testování populace s průměrnými hodnotami všech měřených znaků opět vypovídají o nízké morfologické diferenciaci mezi cytotypy. Jistá odlišnost je patrná pro populace 5x cytotypu. Centroidy ploidní úrovně opět ukazují, že ve směru nahoru klesá ploidní úroveň, to neplatí pro 7x cytotyp. Dále poukazují na výraznější

morfologickou diferenciací mezi 6x, 3x a 7x cytotypem, méně se mezi sebou odlišují cytotypy 6x, 5x a 4x.

Karpavičienė (2012) rovněž zhodnotila měřené morfológické znaky pomocí PCA analýzy, dospěla k obdobným výsledkům. Mezi 4x a 5x cytotypy *A. oleraceum* byla zjištěna slabá morfológická diferenciacie, cytotypy se tedy nedaly rozlišit na základě vybraných morfológických znaků.

Diskriminační analýza kvantitativních anatomických a morfológických znaků souboru A, ve které jsem hodnotila všechny jedince se všemi znaky bez znaků na generativních strukturách. Největší význam měly tyto znaky: počet květů, poměr počtu květů k pacibulkám, délka horního listu, poměr šířky k délce horního listu, hustota papil na středu horního listu a velikost průduchů na bázi dolního listu. Jedinci byli klasifikováni do cytotypů s 55% úspěšností. V analýze B pak byly zhodnoceny všechny populace rovněž se všemi znaky vyjma znaků na květních částech. Cytotypy byly úspěšně rozlišeny na základě této kombinace znaků: počet květů, poměr počtu květů k pacibulkám, hustota papil na středu horního listu a velikost průduchů na bázi dolního a středu obou listů, populace byly správně klasifikované do cytotypů se 74% úspěšností.

V analýze C byly zhodnoceny všechny anatomické a morfológické znaky pro jedince z 3x, 4x, 5x, 6x a 7x cytotypu, byly prokázány signifikantní rozdíly mezi cytotypy. Výsledky ukázaly 68,4% úspěšnost pro odlišení cytotypů, největší váhu měly tyto znaky: délka vnitřních a vnějších okvětních lístků, hustota papil a velikost průduchů na bázi a středu horního listu, výška rostliny bez toulce, počet květů a poměr počtu květů k pacibulkám. Diskriminační analýza kvantitativních anatomicko-morfológických znaků souboru D (všechny průměrné hodnoty vegetativních a generativních znaků pro populace 3x, 4x, 5x, 6x a 7x cytotypu) prokázala signifikantní rozdíly mezi cytotypy. Jednotlivé cytotypy bylo možné od sebe odlišit s 74,6% úspěšností na základě vybraných a zhodnocených znaků, přičemž nejvýznamnější váhu měly: délka vnitřních a vnějších okvětních lístků, hustota papil na bázi a středu horního listu.

Ohryzek (2007) rovněž hodnotil anatomické a morfológické znaky vegetativních struktur pomocí diskriminační analýzy. Byly prokázány signifikantní rozdíly mezi cytotypy (4x, 5x, 6x), kdy bylo možné s 89% úspěšností rozlišit jednotlivé cytotypy, přičemž největší váhu v jeho analýze měly znaky: hustota papil na okraji listu, délka průduchů, počet květů a pacibulek. Dále analyzoval všechny anatomické a morfológické znaky včetně znaků

na květech. Analýza byla provedena pouze u 4x a 5x cytotypu, 6x jedinci nebyly do analýzy zahrnuty z důvodu nízké produkce květů. Cytotypy byly úspěšně rozlišeny pomocí těchto znaků: hustota papil, poměr šířky k délce vnitřních a vnějších okvětních lístků, délka čnělky, délka průduchů. Na základě uvedených znaků byli jedinci klasifikováni do cytotypů z 97% úspěšností. Také Karpavičienė (2012) pro své hodnocení použila diskriminační analýzu. Navzdory tomu, že se v PCA analýze nepodařilo separovat 4x a 5x jedince na základě morfologických znaků, v diskriminační analýze se podařilo pomocí vybraných znaků cytotypy vzájemně rozlišit.

Z výsledků PCA analýz můžeme při celkovém pohledu usuzovat, že směrem od západní části Evropy po Slovenskou republiku přibývá populací 6x cytotypu. Zatímco od Slovenska na východ Evropy stoupá počet jedinců 3x cytotypu. 7x populace mají těžiště výskytu pouze ve Francii. Tento jev byl potvrzen i v práci Šafářové (2011). Dále bylo zjištěno, že patrně větší vliv na morfologické a anatomické rozdíly mezi jednotlivými cytotypy má spíše geografie než ploidní stupeň. K podobným výsledkům došli i Cires et al. (2010), který pracoval s rostlinami odebranými z geograficky oddělených pohoří, přičemž mnohou hodnocené rostliny pocházejí ze souvislého gradientu. Z diskriminační analýzy vyplývá, že některé z uvedených znaků by bylo možné použít pro rozlišení jednotlivých cytotypů, přičemž jak získané výsledky, tak i zkušenosti z terénu ukazují, že velmi dobře rozpoznatelní jsou jedinci z 6x cytotypu, rozlišení ostatních cytotypů (3x, 4x, 5x, 7x), je i přes vysoké procento úspěšné klasifikace, v terénu mnohem problematičtější. Ohryzek (2007) ve své práci uvádí, že na základě rozdílů v anatomii a morfologii mezi cytotypy by bylo možné jednotlivé cytotypy taxonomicky hodnotit (6x) jako samostatné jednotky, a to na úrovni poddruhu. S tímto názorem je v rozporu Karpavičienė (2012), která podporuje tvrzení, že z celkového hlediska lze sice částečně jednotlivé cytotypy na základě vybraných znaků od sebe odlišit, nicméně při pohledu na individuální hodnoty znaků (jedinec), jsou patrné časté překryvy mezi jedinci, populacemi i cytotypy. Za nejjistější způsob pro stanovení konkrétní ploidie považuje cytogenetické a cytometrické zhodnocení daného jedince. Morfologické a anatomické rozdíly mezi jednotlivými cytotypy poukazují na možnost cytotypy taxonomicky klasifikovat jako samostatné jednotky, patrně na úrovni poddruhu.

Provedené analýzy mají nicméně jistá omezení: (1) Všechna moje pozorování byla realizována na rostlinách pěstovaných ve standardizovaných podmínkách pokusné

zahrady, kdy všichni jedinci měli stejné podmínky k růstu a nebyli přihnojováni. (2) Pozorování byla provedena na vzorcích dovezených z různých míst Evropy včetně České republiky, přičemž množství zástupců pro jednotlivé ploidní úrovně nebylo vyrovnané, nejvíce bylo hodnoceno rostlin z 5x, 4x a 6x cytotypu, vzorků z 3x a 7x cytotypu bylo analyzováno mnohem méně. (3) Měření některých znaků je při jednorázovém odběru velmi komplikované a to, že se fenofáze listů a generativních struktur překrývají pouze na krátkou dobu. (4) Všechna data byla získána v průběhu let a postupně zpracována dalšími odborníky, to bohužel může vést k rozdílnosti výsledků.

## 5 ZÁVĚR

Předložená práce je zaměřena na studium anatomických a morfologických znaků u složitého polyploidního komplexu česneku planého (*Allium oleraceum* L.) řazeného do sekce *Codonoprasum* REICHENB., podrodu *Allium*, rodu *Allium* L., čeledi *Alliaceae* J. AGARDH. Druh je rozšířen od Skandinávie po oblast Středomoří, hojný výskyt vykazuje především ve střední, východní a západní Evropě (Krahulec & Duchoslav 2010).

Cílem této práce bylo pomocí studia vybraných morfologických a anatomických znaků na zapěstovaných evropských populacích prozkoumat variabilitu cytotypů *Allium oleraceum* ( $2n = 3x, 4x, 5x, 6x, 7x$ ). Všechny získané údaje z posledních let byly zkompletovány a následně zhodnoceny pomocí statistických metod mnohorozměrných analýz, konkrétně byla použita PCA (principal components analysis) a diskriminační analýza. Výsledky analýz byly využity k ověření teorie, zda je možné cytotypy rozlišit, a zda je možné případné morfologické rozdíly taxonomicky hodnotit. Celkově bylo v této práci analyzováno kolem 600 jedinců ze 138 evropských populací *A. oleraceum*.

Na základě studia anatomických a morfologických znaků jsem dospěla k těmto výsledkům:

- 1) Srovnání variability anatomických a morfologických znaků pěti cytotypů ( $2n = 3x, 4x, 5x, 6x, 7x$ )
  - v průměru nejmenší průduchy byly zjištěny u 4x cytotypu, ostatní cytotypy se od sebe velikostí průduchů významně neliší
  - nízká hustota papil či jejich absence na horním listu všech cytotypů, na dolním listu stoupá počet papil s ploidií, výjimkou je pouze 7x cytotyp
  - větší počet a delší listy jsem zjistila u rostlin 3x, 4x cytotypu, nejširší listy pak u 3x cytotypu a u 5x cytotypu na dolním listu
  - největší rozměry v délkách vnitřních i vnějších okvětních lístků měl 5x cytotyp, rozměry šířek byly v rámci cytotypů velmi vyrovnané
  - není významný rozdíl mezi délkou čnělek a semeníků v rámci cytotypů
  - nejnižší produkci květů měl 6x cytotyp
  - nejvíce pacibulek vytvářely 6x a 7x cytotyp
  - nejvyšší rostliny měly 3x a 5x cytotyp.

- 2) Analýza hlavních komponent (PCA) anatomických a morfologických znaků pěti cytotypů ( $2n = 3x, 4x, 5x, 6x$  a  $7x$ ) *A. oleraceum*
- výsledky všech analýz, v nichž byly zhodnoceny jak jednotlivé populace, tak samotní jedinci se všemi znaky včetně/kromě květních částí, prokázaly slabou morfologickou diferenciaci mezi jednotlivými cytotypy
  - vytyčené centroidy v PCA diagramu naznačovaly, že směrem vzhůru klesá ploidní úroveň, výjimkou byl pouze  $7x$  cytotyp, vektory zeměpisné délky a šířky poukázaly na to, že geografie ovlivňuje morfologické znaky více než konkrétní ploidní stupeň.
- 3) Diskriminační analýza (DA) anatomicko-morfologických znaků pěti cytotypů ( $2n = 3x, 4x, 5x, 6x$  a  $7x$ ) *A. oleraceum*
- ve 4 provedených analýzách byly prokázány signifikantní rozdíly mezi cytotypy
  - analýza vyhodnotila nejvhodnější anatomicko-morfologické znaky vhodné pro rozlišení cytotypů, z nichž největší váhu měly: průměrná velikost průduchů na bázi a středu listů, hustota papil na bázi a středu horního listu, délka vnitřních a vnějších okvětních lístků, počet květů a poměr počtu květů k počtu pacibulek.
- 4) Ze získaných údajů vyplývá, že vybrané anatomické a morfologické znaky by bylo teoreticky možné použít pro rozlišení jednotlivých ploidních úrovní. Uvedené výsledky i zkušenosti z terénu ukazují, že velmi dobře rozpoznatelní jsou jedinci  $6x$  cytotypu, odlišení ostatních cytotypů ( $3x, 4x, 5x, 7x$ ) je v terénu velmi problematické. Při pohledu na individuální hodnoty vybraných znaků (jedinec), jsou patrné časté překryvy mezi jedinci, populacemi i cytotypy. K hodnocení cytotypů na základě vybraných anatomických a morfologických znaků je tedy nutné přistupovat velmi opatrně a s rezervou. Za stále nejjistější, v terénu těžko realizovatelný, způsob stanovení ploidie konkrétního rostlinného individua považujeme cytogenetické a cytometrické techniky. Rozdíly v morfologii a anatomii mezi cytotypy poukazují na možnost cytotypy taxonomicky klasifikovat jako samostatné jednotky, patrně na úrovni poddruhu. Dále bylo zjištěno, že

patrně větší vliv na morfologické a anatomické rozdíly mezi jednotlivými cytotypy má spíše geografie než ploidní stupeň.

## 6 POUŽITÁ LITERATURA

- Åström H., Hæggström C. (2004): Generative reproduction in *Allium oleraceum* (Alliaceae). – Ann. Bot. Fennici 41: 1–14.
- Abbott R. J. & Brochmann C. (2003): History and evolution of the arctic flora: in the footsteps of Eric Hultén. – Molecular Ecology 12: 299–313.
- Briggs D., Walters S. M. (2001): Proměnlivost a evoluce rostlin. – Univerzita Palackého Olomouc.
- Brochmann C. atd. (2004): Polyploidy in arctic plants. – Biological Journal of the Linnean Society 82: 521–536.
- Cires E., Cuesta C., Revilla M. A. & Prieto J. A. F. (2010): Intraspecific genome size variation and morphological differentiation of *Ranunculus parnassifolius* (Ranunculaceae), an Alpine–Pyrenean–Cantabrian polyploid group. – Biological Journal of the Linnean Society 101: 252–271.
- Comai L. (2005): The advantages and disadvantages of being polyploid. – Nature review genetics 6: 836–846.
- Doležel J., Binarova P., Lucretti S. (1989): Analysis of nuclear DNA content in plant cells by flow cytometry. – Biologia Plantarum 31: 113–120.
- Dostál J. (1989): Nová květena ČSSR 2. – Academia, Praha, p. 1222.
- Duchoslav M. (2001): *Allium oleraceum* and *A. vineale* in the Czech Republic: distribution and habitat differentiation. – Preslia 73: 173–184.
- Goldblatt P. (1980): Polyploidy in Angiosperms: monocotyledons. – In Lewis W. (ed.): Polyploidy, biological relevance. – Plenum Press, New York, p. 219–239.
- Grant V. (1981): Plant speciation. – Columbia University Press, New York, p. 283–375.
- Hanelt P., Hammer K. & Knüpfner H. (1992): The genus *Allium* - taxonomic problems and genetic resources. – Proceedings of an international symposium held at Gatersleben, Germany, p. 107–123.
- Herben T. & Münzbergová Z. (2002): Zpracování geobotanických datv příkladech. Část I, Data o druhovém složení, Státní nakladatelství, Praha.
- Hilu K. W. (1993): Polyploidy and the evolution of domesticated plants. - American Journal of Botany 80: 1492–1499.



- Chen Z. J. (2007): Genetical and epigenetic mechanisms for gene expression and phenotypic variation in plant polyploids. – *Annual Review of Plant Biology* 58: 377–406.
- Chen Z. J., Ha M. & Soltis D. (2007): Polyploidy: Genome obesity and its consequences. – *New Phytologist* 174: 717–720.
- Fowler N. L. & Levin D. A. (1984): Ecological constraints on the establishment of a novel polyploid in competition with its diploid progenitor. – *American Naturalist* 124: 703–711.
- Fritsch R. M., Friesen N. W. (2002): Evolution, domestication and taxonomy. In: Rabinowitch H. D., Brewster J. L. [eds.]: *Allium crop science: recent advantages*. – CAB International, Wallingford, p. 5–30.
- Fialová R. (1996): Polyploidní komplexy u rodu *Allium*. – [PhD thesis, depon. in: Knihovna katedry botaniky PŘF UP Olomouc].
- Karpavičienė B. (2012): Morphological, reproductive and karyological variability in *Allium oleraceum* in Lithuania. – *Biologia* 67: 278–283.
- Khoshoo T. N. (1959): Polyploidy in Gymnosperms. – *Evolution* 13: 24–39.
- Kovačik A. (1983): Genetika rostlin. – Státní zemědělské nakladatelství Praha, Praha.
- Krahulec F. (1977): Poznámky k určování československých česneků (*Allium* L.) v nekvetoucím stavu. *Zpr. Čs. Bot. Společ.*, 12: 145–152.
- Krahulec F. (1980): Epidermal characters of *Allium* species autochthonous in Czechoslovakia: their pattern, taxonomic and ecological relationships. – *Preslia*, Praha, 52: 299–309.
- Krahulec F. (2002): *Allium* L. – In: Kubát et al., Klíč ke květeně České republiky, Academia, Praha, p. 752–757.
- Krahulec F., Duchoslav M. (2010): *Allium* L. – In: Květena České republiky 8, Academia, Praha, p. 648–670.
- Krahulcova A. (2003): Chromosome numbers in selected monocotyledons (Czech Republic, Hungary, and Slovakia). – *Preslia* 75: 97–113.
- Kučera J. (1979): Polyploidie. – Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha.
- Leitch I. J. & Bennett M. D. (1997): Polyploidy in angiosperms. Elsevier Science 2: 470–476.

- Levin D. (2002): The role of chromosomal change in plant evolution. – Oxford University Press.
- Lewis W. (1980): Polyploidy, biological relevance.– New York, p. 594.
- Levy A. A. & Feldman M. (2002): The impact of polyploidy on grass genome evolution. – *Plant Physiology* 130: 1587–1593.
- Marhold K. & Suda J. (2002): Statistické zpracování mnohorozměrných dat v taxonomii. – Univerzita Karlova v Praze, Karolinum, Praha.
- Masterson J. (1994): Stomatal size in fossil plants: evidence for polyploidy in majority of angiosperms. – *Science* 264: 421–423.
- Meyers L. A. & Levin D. A. (2006): On the Abundance of Polyploids in Flowering Plants. – *Evolution* 60, p. 1198–1206.
- Michaelson S. D. & Amasino R. M. (1999): Flowering locus C encodes a novel MADS domain protein that acts as a repressor of flowering.– *Plant Cell*. 11: 949–956.
- Nuismer S. L. & Thompson J. N. (2001): Plant polyploidy and non-uniform effects on insect herbivores. – *Proceedings of the Royal Society of London B* 268: 1937–1940.
- Ohryzek J. (2007): Srovnávací biologie cytotypů česneku planého (*Allium oleraceum*). – Ms. [Dipl. práce, depon. in: Knihovna katedry botaniky, PŘF UP Olomouc].
- Otto S. P. & Whitton J. (2000): Polyploid incidence and evolution. – *Annual Review of Genetics* 34: 401–437.
- Parisod Ch., Holderegger R. & Brochmann Ch. (2010): Evolutionary consequences of autopolyploidy. – *New Phytologist* 186: 5–17.
- Ramsey J. & Schemske D. W. (1998): Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. – *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 29: 467–501.
- Ramsey J. & Schemske D. V. (2002): Neopolyploidy in flowering plants. – *Annual Review of Ecology and Systematics* 33: 589–639.
- Pazourek J. (1963): Studium listové epidermis mikroreliefovou metodou. – *Preslia*, Praha, 35: 210–216.
- Soltis D. E. & Soltis P. S. (1995): The dynamic nature of polyploid genomes. – *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 92: 8089–8091.

- Soltis P. S & Soltis D. E. (2000): The role of genetics and genomic attributes in the success of polyploids. – Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 97: 705–7057.
- Soltis D. E., Soltis P. S. & Tate J. A. (2004): Advances in the study of polyploidy since Plant speciation. – New Phytologist 161: 173–191.
- Stebbins G. L. (1971): Chromosomal evolution in higher plants. – Columbia University Press New York.
- Stebbins G. L. (1985): Polyploidy, hybridization, and the invasion of new habitats. – Annals of the Missouri Botanical Garden 72: 824–832.
- Suda J. (2009): Darwinova „odporná záhada“ po 130 letech aneb souvisí polyploidie s rozmanitostí krytosemenných rostlin. – Živa 5: 204–208.
- Šafářová L. & Duchoslav M. (2010): Cytotype distribution in mixed populations of polyploid *Allium oleraceum* measured at a microgeographic scale. – Preslia 82: 107–126.
- Šafářová L. (2011): Polyploidní komplex *Allium oleraceum* L. v Evropě. – [PhD thesis, depon. in: Knihovna katedry botaniky, PŘF UP Olomouc].
- Thompson J. N., Nuismer S. L. & Merg K. (2004): Plant polyploidy and the evolutionary ecology of plant/animal interactions. – Biological Journal of the Linnean Society 82: 511–519.
- Vachtina L. I. (1984): Chromosome numbers in some species of the genus *Allium* (Alliaceae) in the Flora of USSR. Bot. Zhur. 70: 700–701.

# PŘÍLOHA

**Příloha 1:** Přehled zahraničních populací *Allium oleraceum* použitých ve výzkumu Burešovou v roce 2011.

Označení v mapě	Číslo lokality	Vzorek	Ploidie populace	Stát	Obec	Popis	Stanoviště	Nadmořská výška	Zeměpisná šířka	Zeměpisná délka
1	04/105	1; 2; 3; 4	4x	Francie	Le Collet dé-Deze	4 km JV od obce, lesní okraj akátiny při silnici na Mendez, dvě mikrostanoviště 100 m od sebe - A a B	akátina	291	44.25139	3.962222
2	06/64	1; 2; 3; 4; 5	4x	Francie	Chambord	okraj lesní cesty v lese obklopující zámek, cca 200 m před kruhovým křížením ve směru od Loiry	les	97	47.62528	1.510278
3	04/106	1; 2	5x	Francie	St Etienne du Valdonnez	1,5 km JV od obce, okraj silnice (příkop)	mez	903	44.4425	3.556667
4	04/108	A: 1; 2; 3 B: 1; 2	5x	Francie	Verrieres	2 km SV obce, A: skalní výchozy nad silnicí č.996, B: kamenitý okraj silnice, odbočka na silnici č.996	skála	575	45.57333	3.06
6	04/101	1; 2; 3	6x; 7x	Francie	Die	2 km JJV od obce, okraj silnice č.93, travnatý pás mezi polem a silnicí	mez	404	44.74028	5.384167
7	04/102	1; 2; 3	7x	Francie	Chateau-Arnuoux	3 km VJV od obce u silnice č. N85, příkop a mez, dominuje <i>Agropyron repens</i>	mez	436	44.0675	6.021389
8	06/57	1; 2	5x	Francie	Schwindratzheim	slabě až silně ukloněné stráňky s jabloňovým sadem a vinicemi, porosty mezofilního <i>Bromionu</i> v přechodu k ovsíkovým loukám, 100 m za mostem přes kanál - Canal de la Marne Au Rhin nad silnicí na Wilwisheim	step	169	48.74639	7.603889
9	04/29	A: 1	4x	Maďarsko	Hernádszurdok	1,5km J od obce, remíz mezi sady silně zarostlý akátem, nyní vykáceno	akátina	147	48.46667	21.2
10	05/121	1; 2; 3	5x	Maďarsko	Alsóújlak	nad obcí, mez mezi vinohrady nad obcí, výrazně písčitá půda	mez	207	47.07639	16.85
11	05/123	1; 2; 3; 4; 5	5x	Maďarsko	Csurgó	1 km Z od obce směrem na Zákány, mez a příkop silnice	mez	138	46.26778	17.07917
12	04/31	B: 1 D: 1	5x	Maďarsko	Mecseknádasd	dubohabrový les cca 400 m V od křižovatky na Ofalu, stejný charakter jako lokalita Nadap	les	202	46.22833	18.48278
13	04/51	B: 1; 2; 3; 4 D: 1	5x	Rakousko	Aggsbach Dorf	0,5 km V od obce, okraj kyselé doubravy v přechodu s <i>Viscario-Quercetum</i> , báze svahu je bohatší a přechází do	les	258	48.291	15.42286

		E: 1				silničního příkopu						
14	06/39	A: 1; 2; 3; 4 B: 1; 2; 3; 4	5x	Rakousko	Krumpendorf a. W. S.	louka svazu Arrhenatherion v sadu + křovinaté okraje nad silnicí v obci, poblíž jezera Wörher See	křovina, louka	464	46.62833	14.22917		
15	05/119	1; 2; 3; 4; 5	5x	Rakousko	Burg	1 km JZ od obce, hrana mezi dubohabřinou na diabasu a aluviálním lesem podél říčky Pinky	les	261	47.205	16.39722		
16	04/60	A: 1; 2; 3; 4; 5 B: 1; 2 C: 1 D: 1	5x	Rakousko	Ziersdorf	akátina a příkop na SV okraje obce	křovina, akátina	223	48.53222	15.93583		
17	04/40	F: 1; 2	5x	Rakousko	Dürnkrut	200m J od obce, okraj lužního lesa a okraj přilehlé louky sv.Arrhenatherion, kraj lesní cesty (F,G)	les	148	48.46306	16.85778		
18	04/42	A: 1; 2 B: 1; 2 C: 1; 2; 3	5x	Rakousko	Marchegg	silniční příkop pod protipovodňovým valem, kosený Arrhenatherion, 1,5 km SZ od obce	louka	141	48.28444	16.88694		
19	04/58	D: 1; 2; 3; 4; 5 E: 1; 2	5x	Rakousko	Dietmanns	50 m JZ před obcí, sráz nad silnicí porostlý Pinus sylvestris, Robiniana p., Syringa v., suťovitá půda	křovina, akátina	682	48.58073	14.97639		
20	04/56	A: 1; 2; 3; 4 B: 1; 2	6x	Rakousko	Krenglbach	1 km S od obce nad silnicí č. 134, zarůstající mírně teplé strážky s Ligustrum	křovina	308	48.22139	13.95444		
21	04/44	B: 1 D: 1; 2; 3; 4	4x; 5x	Rakousko	Jois	100m od obce u silnice, trnkové křoviny lemující silnici oddělující stepní pahorky s Bromion erecti, křoviny přecházejí až do akátin, česnek roste v suti z kamenů nasbíraných na poli a nanosených do křoviny přecházející až k přirozenému porostu s Hedera helix	křovina	168	47.96583	16.80528		
22	06/50	1; 2; 3; 4	4x	Švýcarsko	La Punt- Chamues-ch	kamenitá strážka, její okraj pod pastvinou nad silnicí a mezi silnicí a řekou	mez	1688	46.58444	9.932778		
23	06/52	A: 1; 2; 3 B: 1; 2; 3	5x	Švýcarsko	Rhätzens	cca 1-1,5 km před obcí, u silnice č. 13, sušší loučka (Bromus), nad železniční tratí, kosená, hezká (AO přechází do strážky železničního náspu)	louka	653	46.78	9.409167		
24	09/54	1	3x	Ukrajina	Oster	1 km S města Oster (S Kijeva), kraj silnice v písčinych dunách s borovicí.	les	107	50.95603	30.88039		
25	07/13	A: 1; 2	5x	Srbsko	Sokolský hrad	Sokolský hrad a klášter, v oblasti Sokolského vrchu ve skalní oblasti na Srbsko-Bosenské hranici, okraj křoviny a cesty k Sokolskému hradu.	křovina, mez	472	44.1571	19.48358		
26	06/47	A: 1; 2; 3 B: 1; 2	5x	Itálie	Egna/Neumarkt	travnatý svázek pod jabloňovým sadem nad silnicí u obce	louka	225	46.2925	11.24639		
27	06/46	1; 2; 3	6x	Itálie	Caldonazzo	opuštěná vinice zarostlá akátem	akátina	530	45.98333	11.26667		
28	06/42	B: 2	5x	Itálie	Polcenigo	výchozy vápenitých skalek podél okraje lesa	skála	53	46.0175	12.47583		
29	05/134	A: 1; 2; 3; 4; 5 B: 1; 2; 3; 4; 5	5x	Německo	Kiebingen	1 km JZ od obce, v třešňovce, Arrhenatherion	louka	380	48.46583	8.960556		

30	05/149	A: 1; 2; 3; 4 B: 1; 2; 3	4x; 5x	Německo	Rastenberg	A: 2 km SSZ od obce nad silnicí, trnkové křoviny podél potoka, B: mezi TTP	křovina, mez	264	51.18972	11.40167
31	05/153	A: 1; 2	4x; 5x	Německo	Lödderitz	500 m SZ od obce, vlhká dubohabřina v přechodu k tvrdému luhu, v E3 dominuje Quercus robur	les	55	51.89	11.94639
32	05/132	A: 1; 2; 3; 4 B: 2	5x	Německo	Sigmaringen	údolí Dunaje 4 kma Z od obce, suť vápence u silnice, vlastní okraj silnice	mez	592	48.07667	9.159772
33	05/140	1; 2; 3	5x	Německo	Abenberg	okraj lesní cesty těsně pod hradem v obci	les	422	49.24389	10.9625
34	05/137	1; 2; 3	5x	Německo	Lauterburg	údolí potoka mezi obcí a Bartholomä, strážka s mezofilním Bromionem v přechodu k Arrhenatherion nad silnicí, cca 2 km S od Bartholomä	louka	697	48.77694	9.985278
35	05/148	1; 2; 3	5x	Německo	Klosterhäseler	800 m S od obce, stepní strážky s Bromus erectus nad silnicí do Burkersroda	step	229	51.17139	11.61361
36	06/38	1; 2; 3; 4	5x	Německo	Themar	2 km JV od středu obce, strmá strž mezi polem a silnicí s Brachypodium pinnatum a Dactylis glomerata u silnice č. B 89, ve směru na Hildburghausen	mez, step	339	50.49167	10.63417
37	04/72	C: 1	4x	Polsko	Wroclaw	1,5 km před J okrajem města, lesík u silnice, smíšené E3, Robiniana, Fraxinus, Acer pseudoplat., Quercus robur, v E1 ruderalní druhy, spíše forma remízu, vlhčejší deprese	les, mez	120	51.06583	17.05167
38	04/67	A: 1; 2; 3; 4 B: 1; 2; 3; 4	5x	Polsko	Stopnica	trnkvé křoviny na okraji pole na J okraji obce	křovina	223	50.435	20.93556
39	04/65	A: 1; 2; 3; 4	5x	Polsko	Stojewsko	0,5 km J od obce, opuštěný lom při pravé straně silnice, spodní část je písčitá, horní část je kamenitá, semixerotermí porosty, postupné zarůstání trnkou	křovina, step	263	50.90208	20.14383
40	04/69	A: 1; 2	5x	Polsko	Klonow	rezervace Stepowy Dabie, stepní porosty a okraj dubohabřiny nad lomem	step	308	50.30428	20.18056
41	04/75	1; 2	5x	Polsko	Przyborow	1,5 km na SV, porost doubravy na písku s příměsí Robinia p., Betula sp.	les	67	51.81028	15.78556
42	07/6	1; 2; 3; 4	4x	Rumunsko	Abucea	dubohabrový les - jeho okraj při silnici do obce, cca 1 km od obce na V	les	203	45.91331	22.54714
43	07/8	1; 2	5x	Rumunsko	Doman	mezi obcí a Carasova, stepní strážky (pastvina, okraj křoviny) u odpočívadla u silnice na Anin	step	413	45.24844	21.90572
44	09/24	1; 2; 3; 4; 5	5x	Rumunsko	Berzasca	luční porost na bývalých pastvinách J od obce Bigar (Bígr).	louka	542	44.65497	22.10489
45	04/88	1; 2; 3	4x	Slovensko	Podbiel	Z od obce, na svahu nad obcí, pastvina	louka	562	49.31306	19.49917
46	04/28	A: 1 B: 1 C: 1	4x; 5x	Slovensko	Velký Šaryš	Šaryšský hradný vrch, dubohabřina na JZ svahu pod hradem, horninový podklad vyvěřelina	les	532	49.04972	21.18156
46	11/25	A: 1; 2; 3; 4; 5 B: 1; 2; 3; 4 C: 1; 2; 3; 4	4x	Slovensko	Dolný Ohaj	akátina 2.2 km JV od středu obce, 100 V m od silnice	akátina	123	48.0665	18.27036

48	11/7	A: 1; 2 B: 1; 2; 3; 4; 5 C: 1; 2	4x; 6x	Slovensko	Trenčianske Jastrebie	vápencové osypy zarůstající křovinami, fragmenty suchých trávníků v prostoru bývalého lomu, 1.3 km SZ od středu obce	step, křovina	326	48.80939	18.09997
49	09/33	A0: 1; 2; 3	4x	Slovensko	Vrúcko	křoviny při turistické cestě na Kl'ak, 0,8 km před Kl'akovským vodopádem, SZ od obce Vrúcko	křovina	797	48.98246	18.66809
50	04/20	C: 1; 2 D: 1; 2	4x	Slovensko	Pstruša	1,2 km V od obce, suť bývalého andezitového lomu s přechodem do dubohabřiny (Koelerio-Phleion phleiodis - inciální stadium)	les, skála	358	48.55014	19.33122
51	04/86	B: 1; 2; 3	4x	Slovensko	Kvetnica	Hranovnická dubina při silnici z obce do Dubiny 200 m V lomu, teplomilná doubrava (A) a skalky podél okrajů doubravy nad silnicí (B)	les, skála	790	49.00833	20.28944
52	04/16	D: 1; 2; 3; 4	4x	Slovensko	Jablonové	Suľovské skály, okraj borového lesa a mez na okraji pole, mírně zarostlé Prunus spinosa, 1,5 km jižn	mez	366	49.17683	18.57469
53	04/14	A: 1 B:1; 2 C: 1; 2; 3 G: 1 H: 1; 2; 3; 4	5x	Slovensko	Radošina	mez a okraj silnice na konci obce směrem na Piešťany	mez	217	48.54972	17.93
54	09/36	A0: 1; 2; 3	5x	Slovensko	Kláštôr pod Znievom	Jeseň na Hôrkach, křovina u polní cesty	křovina	491	48.91866	18.80581
55	04/82	A: 1	4x	Slovensko	Vinné	Vihorlat: J svahy Vinianského hradného vrchu SZ obce (při turistické značce)	křovina	245	48.81914	21.95278
56	08/18	A: 1; 2	5x	Slovensko	Plešivec	Plešivec, v lese na JZ svahu Plešivecké planiny, u silničky (zelená značka)	les	693	48.624	20.41944
57	08/17	1	5x	Slovensko	Pašková	Koniarska planina, v lese J Drieňovej studni	les	367	48.58089	20.35894
58	09/51	1; 2	3x	Slovensko	Luboreč	na okraji stepi na J svahu kopce Lysec (Velký Lysec), výrazně izolovaná lokalita v lesích	step	654	48.34914	19.46311
59	11/19	A: 1; 2; 3; 4; 5 B: 1; 2; 3; 4; 5	5x; 6x	Slovensko	Nová Baňa	okraj lesa a osluněná strž (=příkop) nad silnicí z obce do Orovnice, 900 m Z od mostu přes řeku Hron	mez	244	48.40911	18.63594
60	04/26		5x	Slovensko	Helcmanovce	lískové křoviny na svahu nad okrajem obce při výjezdu na Prakovce	křovina	409	48.83189	20.87911
61	05/125	1; 2; 3	5x	Slovensko	Dobrovník	1,5 km SZ od obce, břeh cesty u vinohradu pod akátem	akátina, mez	183	46.66139	16.32806

**Příloha 2:** Přehled zahraničních populací *Allium oleraceum* použitých ve výzkumu Fialovou v roce 2008.

Označení v mapě	Číslo lokality	Vzorek	Ploidie populace	Stát	Obec	Popis	Stanoviště	Nadmořská výška	Zeměpisná šířka	Zeměpisná délka
62	04/52	1; 2; 3; 4; 5	5x	Rakousko	Melk	0,5 km SV od obce, osamělá skála nad Dunajem, reliktní stanoviště, porost se <i>Sesleria albicans</i>	skála	218	48.23417	15.35222
63	04/54	1; 2; 3; 4; 5	5x	Rakousko	Gmunden	zalesněná strážka nad silnicí v centru města, výslunná teplá s <i>Corydalis cava</i>	les	446	47.91972	13.80694
64	04/44	D: 1; 2; 3; 4; 5	4x	Rakousko	Jois	100m od obce u silnice, trnkové křoviny lemující silnici oddělující stepní pahorky s <i>Bromion erecti</i> , křoviny přecházejí až do akátin, česnek roste v suti z kamenů nasbíraných na poli a nanosených do křoviny přecházející až k přirozenému porostu s <i>Hedera helix</i>	křovina	168	47.96583	16.80528
65	04/49	1; 2; 3; 4; 5	4x	Rakousko	Günselsdorf	J okraj obce, lužní lesík podél parku na okraji obce, v podrostu dominance <i>A. ursinum</i>	les	249	47.94022	16.25706
66	04/10	1; 2; 3; 4; 5	5x	Slovensko	Tekovská Breznica	1,2 km JJZ od vlakového nádraží, skalní výchozy, oka s mírně stepními porosty <i>Festuca pseudodalmatica</i>	skála, step	214	48.37417	18.59328
67	07/3	1	3x	Rumunsko	Sibiu	300 m od silnice z obce do Agnita, cca 6,5 km V od obce, okraj dubohabřiny na styku se sušší pastvinou, AO se vyskytuje na hranici v řídkých křovinách	křovina	563	45.80417	24.23194
68	07/2	1; 2; 3; 4; 5	3x	Rumunsko	Tálmaciu	okraj stepních porostů a křoviny na stepi (eutrofní) pod vrcholem kopce, těsně pod hradní zříceninou	křovina, step	516	45.65278	24.27075
69	06/64	1	4x	Francie	Chambord	okraj lesní cesty v lese obklopující zámek, cca 200 m před kruhovým křížením ve směru od Loiry	les	97	47.62528	1.510278
70	04/61	1; 2; 3; 4; 5	5x	Polsko	Kietrz	smíšený listnatý les ( <i>Carpinus</i> , <i>Fagus</i> , <i>Fraxinus</i> ), Z svah 200 m od silnice, možná bývalé louky a svahy, v E3 místy třešeň, JZ od obce	les	230	50.07	17.98361
71	04/38	4; 5	6x	Holandsko	Wageningen	mez při silnici na okraji výslunné stráně kopce Wageningse Berg při J okraji obce při cestě na Randwijk	mez	36	51.96667	5.683333
72	05/151	1; 2; 3; 4; 5	5x	Německo	Hilkerode	okraj cesty a přilehlé akátiny při Z okraji obce	akátina	181	51.56194	10.3
73	05/131	B:1; 2; 3; 4	5x	Německo	Riedlingen	A: vrch Österberg, 3 km ZSZ od obce, porosty sv. <i>Bromion</i> s dominancí <i>Brachypodium pinatum</i> přecházející s křoviny s trnkou, B: vrch Österberg, 3 km ZSZ od obce, zarostlá mez mezi poli, dominuje líska	křovina, step	604	48.1575	9.441669
74	04/47	G: 1; 2; 3; 4; 5	6x	Rakousko	Pinggau	0,5 km S od obce, listnatý remíz mezi svahovými poli nad	křovina	664	47.45556	16.07083



75	04/48	D: 1; 2; 3; 4; 5	6x	Rakousko	Grimmenstein	serpentinami, jeho okraj a podrost listnatý lesík, z části zarostlý porostem akátu, na svahu pod pastvinou nad silnicí	les	496	47.61667	16.12083
76	04/8	1; 2; 3; 4; 5	4x	Slovensko	Žemberovce	Šťavnické vrchy, 1km od osady Tlstý Vrch, les a okraj dubohabřiny u silnice, skalky nad silnicí s rostroušeným porost křovin, Ficaria caltyfolia, Scilla bueki, humozní a písčité půda	les	370	48.68513	18.3752
77	04/40	1; 2; 3; 4; 5	4x	Rakousko	Dürnkrot	200m J od obce, okraj lužního lesa a okraj přilehlé louky sv.Arrhenatherion, kraj lesní cesty (F,G)	les	148	48.46306	16.85778
78	04/103	1; 2; 3; 4; 5	4x	Francie	La Palud Sur Verdon	travnatý pás mezi poli s votěškou, dominuje Ovsík, Molinie, Máčka	mez	918	43.78194	6.344444
79	06/43	1; 2; 3; 4; 5	6x	Itálie	Montebelluna	okraj vinohradu pod lesem, cca 300 m J od silnice Z na rozhraní lesíka a vinohradu	mez	144	45.78333	12.03333
80	04/86	1; 2; 3; 4; 5	4x	Slovensko	Kvetnica	Hranovnická dubina při silnici z obce do Dubiny 200 m V lomu, teplomilná doubrava (A) a skalky podél okrajů doubravy nad silnicí (B)	les, skála	790	49.00833	20.28944
81	05/116	1; 2; 3; 4	5x	Anglie	Ingleton	Ingleton (Yorkshire), 3 km SV od obce, vápencové skalky, hrany skalek a sediment pod skalkami, silně spásané, porosty se Sesleria albicans	skála	363	54.16667	-2.43333
82	06/2	1; 2; 3; 4; 5	5x	Maďarsko	Somló	břeh polní cesty mezi vinicemi, cca v polovině svahu vrchu (rezervace Somló TVK), od vzorku B kamenitý podklad	mez	300	47.14472	17.36694
83	06/7	1; 2; 3; 4; 5 B: 1; 2	5x; 3x	Maďarsko	Kurd	okraj habrové doubravy nad silnicí, mírně prosvětlený, cca 2 km JV od obce, a vlastní doubrava prorostlá akátinou	les	165	46.43	18.32333
84	07/1	1; 2; 3; 4; 5	4x	Rumunsko	Lipova	nad silnicí č. 7 (E68), 1,5 km od hradního vrchu, 4 km VSV od obce, zalesněné svahy nad silnicí, narušená dubohabřina zarůstající opuštěný lom	les	136	46.10494	21.74433
85	07/7	1; 2; 3; 4; 5	4x	Rumunsko	Lugoj	dubohabrový les u silnice 68A, mezofilní stanoviště, 6,8 km od okraje Lugoj	les	251	45.74592	21.99472
86	05/128	1; 2; 3; 4; 5	6x	Německo	Oberschneiding	1 km Z od obce, pod silnicí na Salching, Alnion-glutinosa incasanae, podél potůčku	les	351	48.79722	12.6225
87	05/135	1; 2; 3; 4; 5	5x	Německo	Gutenberg	skalní výchozy a sutě nad silnicí č.465 z obce na jih	skála	621	48.5325	9.53
88	05/114	1; 2; 3; 4; 5	5x	Itálie	Nago	1 km Z od obce, smíšený listnatý les se silně vyvinutým keřovým patrem, nedaleko vinice	les, křovina	218	45.86667	10.88333
89	05/118	A: 1; 2; 3; 4; 5	4x	Rakousko	Piringsdorf	1 km SV od obce, dubohabřina na prudkm svahu v údolí říčky nad silnicí č. 50, humózní půda, velké množství opadu, nestabilní půdní pokryv, slabý zápoj	les	302	47.45833	16.44056
90	04/5	1; 2; 3; 4; 5	5x	Maďarsko	Nadap	okraj dubohabrového lesa s čemeřicí při silnici, cca 200m severně od obce	les	245	47.26222	18.605

91	04/12	1; 2; 3; 4; 5	5x	Slovensko	Štitáre	jaseninová mlazina a les nad obcí, E3: Quercus cerris, Castanea sativa, Quercus petraea, dubohabřina	les	291	48.35458	18.1565
92	04/24	1; 2; 3; 4; 5	6x	Slovensko	Plešivec	remíz silnice z obce do Domice, cca 300 m Z od obce, v E1 akát	akátina, mez	279	48.53778	20.40694
93	04/56	A: 1; 2; 3; 4; 5	6x	Rakousko	Krenglbach	1 km S od obce nad silnicí č. 134, zarůstající mírně teplé strážky s Ligustrum	křovina	308	48.22139	13.95444
94	04/57	1; 2; 3; 4; 5	6x	Rakousko	Freistadt	3,5 km Z od města, skalky a výslunný teplý suťový svah nad silnicí, řídký porost Pinus sylvestris, 108 kilometr silnice č.38, roste na suti pod svahem a na ploškách na kamenech	skála	629	48.51139	14.455
95	06/12	1; 2; 3; 4; 5	5x	Chorvatsko	Našice/Gradac	JZ od obce, okraj strže nad silnicí pod dubohabřinou, 100 m od lomu	step	157	45.45667	18.04111
96	06/13	1; 2; 3; 4; 5	5x	Chorvatsko	Vukovar	křoviny na skalní hraně pod kostelem nad silnicí na Ilok, v centru města	křovina	101	45.35	18.98333
97	06/25	1; 2; 3; 4; 5	5x	Slovensko	Uzovská Panica	trnkové a akátové křoviny nad silnicí do obce z obce Bakta, cca 1,8 km SV od Bakty	křovina, akátina	231	48.40167	20.115
98	06/23	1; 2; 3	4x	Maďarsko	Szécsény	1 km S po silnici č. 22 aměrem na Salgátarjáh, trnkové křoviny a křoviny s příměsí akátu na bývalých sušších loukách, cca 100 m od křižovatky silnic	křovina, akátina	150	48.1	19.53333
99	06/29	A: 1; 2	6x	Německo	Altzirkendorf	krátké svážky s řídkým porostem křovina (hloh, trnak), v úvozu silnice na okraji obce směrem na Pegnitz, místně výchozy skal	mez	541	49.73639	11.665
100	06/31	1; 2; 3	6x	Německo	Adelsdorf	4 km JV od centra obce, mez mezi polem a silnií č. 470, u odpočívadla u odbočky na Zeckern, ruderalizovaný Arrhenatherion	mez	300	49.7	10.93056
101	06/33	1; 2; 3; 4; 5	5x	Německo	Boxtal	1 km SV od obce, třešňovo - jabloňový sad s porostem ovsíkových luk, cca 200 m V od silnice č. 290	louka	172	49.77222	9.408056
102	06/41	1; 2; 3; 4; 5	6x	Itálie	Colle	lesní lem s Brachypodium a Peucedanum cervaria mezi lesem a silnicí cca 300 m V za obcí, úzký lem cca 3m pod lesem s Carpinus a Coryllus	les	219	46.16167	12.81944
103	06/54	1; 2; 3; 4; 5	5x	Švýcarsko	Bad Ragaz	okraj suššího lužního lesa směrem k louce u Rýna, jsou tam, kde je už světlo, ale hodně humusu, ale ne na louce, která je bezlesá	les	526	46.98889	9.528333
104	06/46	1; 2; 3; 4; 5	6x	Itálie	Caldonazzo	opuštěná vinice zarostlá akátem	akátina	530	45.98333	11.26667
105	06/49	1; 2; 3; 4; 5	5x	Švýcarsko	Müstair	kamenité meze a křovinaté okraje pastvin u obce cca 1 km směrem do vnirozemí	mez	1334	46.61667	10.43333
106	05/157	1; 2	4x	Slovensko	Drienčany	okr. Rimavská Sobota, Drienčanský kras, Drienčanské krasové jazierko Z obce (Agropyro-Rumicion, občas zaplavovaný porost s Potentilla reptans, Ranunculus repens, Marrubium peregrium, Polygonum hydropiper -	louka	264	48.48306	20.06333

108	04/7	D: 1; 2	3x	Maďarsko	Alcsútdoboz	okraj lesa, cca 5m v porostu od okraje, dubohabřina zarostlá náletem a akátem, cca 5m od silnice, 4 km JZ od obce 47	les	150	47.4	18.56667
109	04/64	A:1 B: 1; 2; 3	5x	Polsko	Dobromierz	2 km V od obce, rezervace Stepoway Murawy, stepní porosty na písčích podél silnice	step	270	51.00667	19.92361
110	04/91	1; 2; 3	6x	Francie	Villé	5 km SV od obce, u silnice, okraj (lem) lesa (akát, dub zimní)	les	380	48.34333	7.373056
111	05/125	1	5x	Slovinsko	Dobrovnik	1,5 km SZ od obce, břeh cesty u vinohradu pod akátem	akátina, mez	183	46.66139	16.32806
112	05/126	1; 2; 3	5x	Slovinsko	Gornja Radgona	okraj obce nad silnicí směr Maribor, okraj akátiny	akátina	220	46.68083	15.97667
113	06/24	1	3x	Maďarsko	Szúcs	trnkové křoviny pod stepí nad silnicí velmi vysoké a statné rostliny)	křovina	312	48.05056	20.23417
107	05/158	1; 2; 3	4x	Slovensko	Hostišovce	okr. Rimavská Sobota, malá step v lese 2,5 km JV obce, na svahu	step	399	48.49083	20.14583

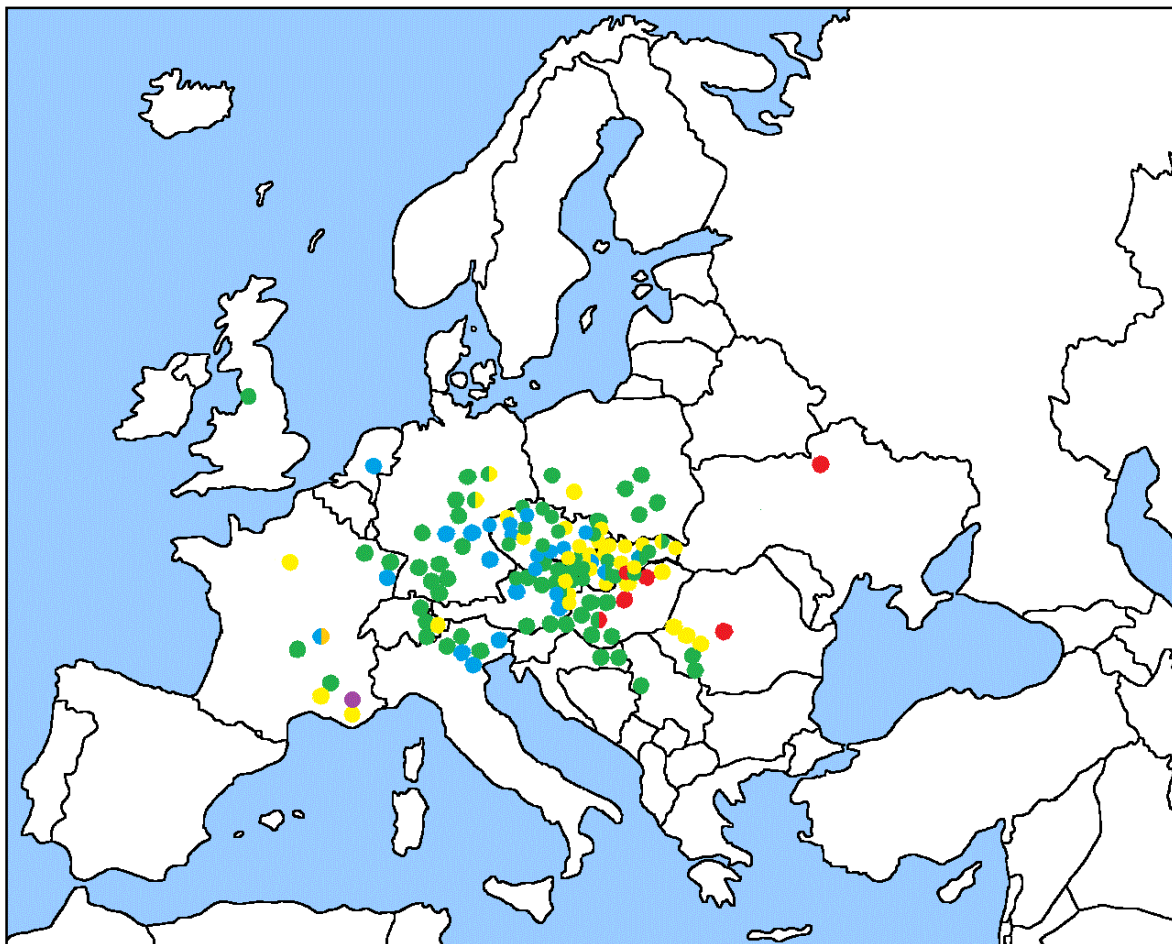
**Příloha 3:** Přehled zahraničních populací *Allium oleraceum* použitých ve výzkumu Ohryzkem v roce 2003 a 2004.

Označení v mapě	Číslo lokality	Vzorek	Ploidie populace	Stát	Obec	Popis	Stanoviště	Nadmořská výška	Zeměpisná šířka	Zeměpisná délka
114	40	A: 2; 4 C: 1 E: 1 F: 1	4x	ČR	Milovice	dubohabřina po okraji lesa, 1.5 km VJV od obce Milovice	les	175	48.84611	16.71305
115	116	A: 2 B: 3 C: 1 D: 1; 4	4x	ČR	Cerekvice n. Loučnou	trnkové křoviny mezi polem a jabloňovým sadem 1.5 km SV od obce	křovina	301	49.90472	16.23305
116	126	A: 1 B: 3 C: 1 D: 1; 7	4x	ČR	Staříč	1 km JZ od obce, okraj lesa na kopci, les silně nitrifikovaný, okraj lesa zarůstá křovinami ( <i>Prunus spinosa</i> , <i>Rosa</i> sp.)	les	343	49.67805	18.27055
117	327	A: 1 B: 2 E: 1	4x	ČR	Suchov	okraje stepních porostů ( <i>Bromion</i> ) v PR Jazevčí	step, křovina	350	48.87194	17.55777
118	122	A: 1 B: 1 C: 4 D: 3 E: 5	5x	ČR	Hajnice	lesík 1 km S od obce Brusnice - malý svah mezi poli	les	500	50.48638	15.8975
119	125	B: 2 C: 1; 8 D: 6; 8	5x	ČR	Štramberk	0.5 km S od hradu, na okraji javořiny, u turistické stezky (modrá značka)	les	474	49.59472	18.11638
120	172	A: 4 B: 1 C: 1 D: 1; 2	5x	ČR	Zbraslav u Prahy	dubohabřina <i>Melampyro-Carpinetum</i> (vzorky: A, D, E), <i>Cynancho-Quercetum</i> (vzorky B, C) - na vrcholu Závisti 50 m S od kapličky	les	195	49.96722	14.4025
121	224	A: 1 B: 1 D: 1; 4 E: 2	5x	ČR	Malé Březno	skalní výchozy s porosty skalních stepí nad údolím potoka na kraji obce ze směru Leška, suťová půda, <i>Sedum sexangulare</i> , <i>Bromus erectus</i> , <i>Sedum cf. reflexum</i>	skála	199	50.67111	14.17666

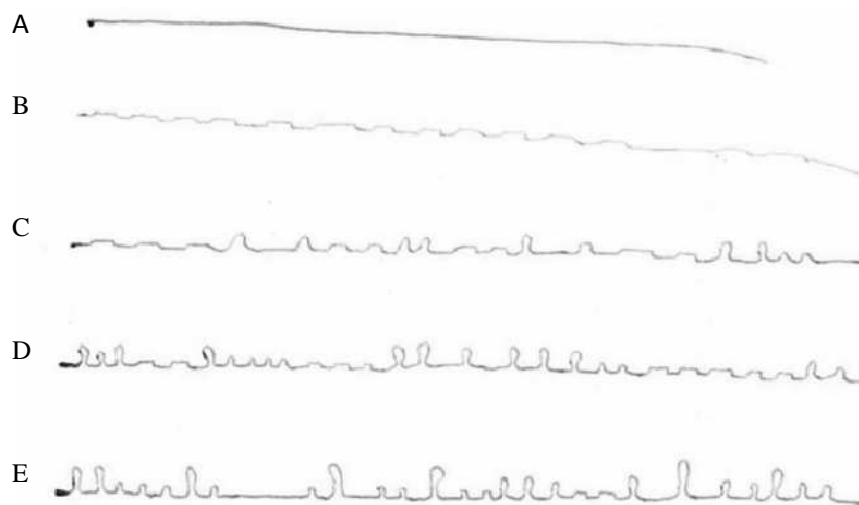
122	289	A: 3 B: 2; 6 C: 3 D: 4	5x	ČR	Příbylov	opuková suť a stepní porosty svazu Bromion u obce	step	356	49.85972	15.98166
123	296	A: 4 B: 1 C: 1 D: 1 E: 1	5x	ČR	Kamenný Malíkov	remíz mezi loukami 200 m za kravínem na S okraji obce, zarostlý náletem <i>Betula pendula</i> a <i>Corylus avellana</i> , navršené kameny	mez	524	49.21611	15.11722
124	311	A: 14; 2 B: 2 E: 3; 4	5x	ČR	Chrastava	stráňka zarostlá listnatými stromy, bývalý sad, nad ním louka, okraj obce při výjezdu nad Liberec	mez	300	50.80722	14.97777
125	327	C: 3 D: 2	5x	ČR	Suchov	okraje stepních porostů ( <i>Bromion</i> ) v PR Jazevčí	step, křovina	350	48.87194	17.55777
126	341	A: 2; 4; 5 B: 1 D: 6	5x	ČR	Slatina u Klatov	okraj trnkových křovin pod dubohabřinou u silnice v blízkosti obce	křovina	470	49.44666	13.19111
127	90	A: 1; 3; 7 B: 1 D: 1	6x	ČR	Potštát	mez a okraj pole u silnice 2.5 km SZ obce	mez	567	49.64888	17.63805
128	220	A: 1 B: 1 C: 2 D: 6 E: 1	6x	ČR	Mošnice	mez a úvoz silnice nad odbočkou na Mošnici nad rybníkem, zarostlé řídkým porostem akátu	mez	265	50.52944	14.44944
129	275	A: 3 B: 2 C: 4 D: 2 E: 1	6x	ČR	Ostroh	skalní výchozy sekundárního smíšeného lesa těsně pod hradem (v E1 dom. <i>Avenella flexuosa</i> )	les	499	50.13333	12.2825
130	280	B: 2; 4 C: 3; 8; 9	6x	ČR	Dolní Bělá	vrch Berg, okraj listnatého lesíka zarůstající svahy pod zbytky opevnění, <i>Utrica dioica</i> , <i>Arrhenatherum</i> , <i>Agropyron</i>	louka, mez	461	49.89888	13.27222
131	292	B: 2 C: 2 D: 1 E: 2; 3	6x	ČR	Toužín	skalky a hrany bývalého lomu těsně před obcí, vpravo silnice z Dačic, skalky se <i>Sempervivum soboliferum</i> , <i>Potentilla argentea</i> , <i>Veronica prostrata</i> , <i>Festuca ovina</i> , <i>Viscaria vulgaris</i> , <i>Verbascum lychnitis</i> , Toužínské stráně - výskyt ještěrky zelené	step	461	49.07527	15.41944
132	362	A: 2; 6	6x	ČR	Heřmanov	remízek s navršeným kamením mezi loukou a polem, u silnice	mez	575	49.37916	16.20194

133	71	B: 1; 2; 3 D: 3 E: 3	4x	ČR	Syrovín	louka svazu Arrhenatherion zarůstající trnkovými křovinami, na svahu přechází v akátinu, 1 km S od obce	louka	292	49.02944	17.26833
134	268	H: 2; 4; 7; 8; 12	4x	ČR	Hasištejn	skály, zdi a výchozy skal pod hradem, AO se vyskytuje na hranách skal a v podrostu Viscario-Quercetum	les, skála	515	50.445	13.25722
135	251	L: 19; 20; 22; 23; 24	4x	ČR	Lazsko	1 km J u odbočky na Ostrov, pahorky mezi poli zarostlé Pinus sylvestris, hrušněmi, Sambucus nigra a Sorbus aucuparia	mez	528	49.6175	14.00083
136	303	VK: 4; 6; 16; 21; 22	4x	ČR	Velké Karlovice - Tísňavy	400 m SV od autobusové zastávky, louka pod lesem	louka	600	49.35527	18.33027
137	265	D: 1; 2; 4; 9; 17	6x	ČR	Dvorce	stepní stráňky (Bromion), porosty mají rozvolněný charakter, výchozy kamenů, řada jednoletek (Androsace elongata, Festuca rupicola,...), zasahují až do křovin s Rosa sp.	step	452	50.20666	13.32472
138	297	PL: 3; 5; 9; 14; 18	6x	ČR	Plasná	vršek mezi poli - remíz - zarostlý převážně Quercus, Coryllus, E1 spíše oligotrofní (Anthoxanthum, Festuca rubra, Agrostis tenuis), zasahuje i do trnkových křovin, skeletovitá půda	mez	462	49.19138	14.88805

**Příloha 4:** Mapa Evropy znázorňující jednotlivé lokality odběru populací *Allium oleraceum* použitých pro výzkum. Kolečka na mapách znázorňují populace, jejich barva příslušný cytotyp pro populaci (červeně- 3x; žlutě- 4x; zeleně- 5x; modře- 6x; fialově- 7x).

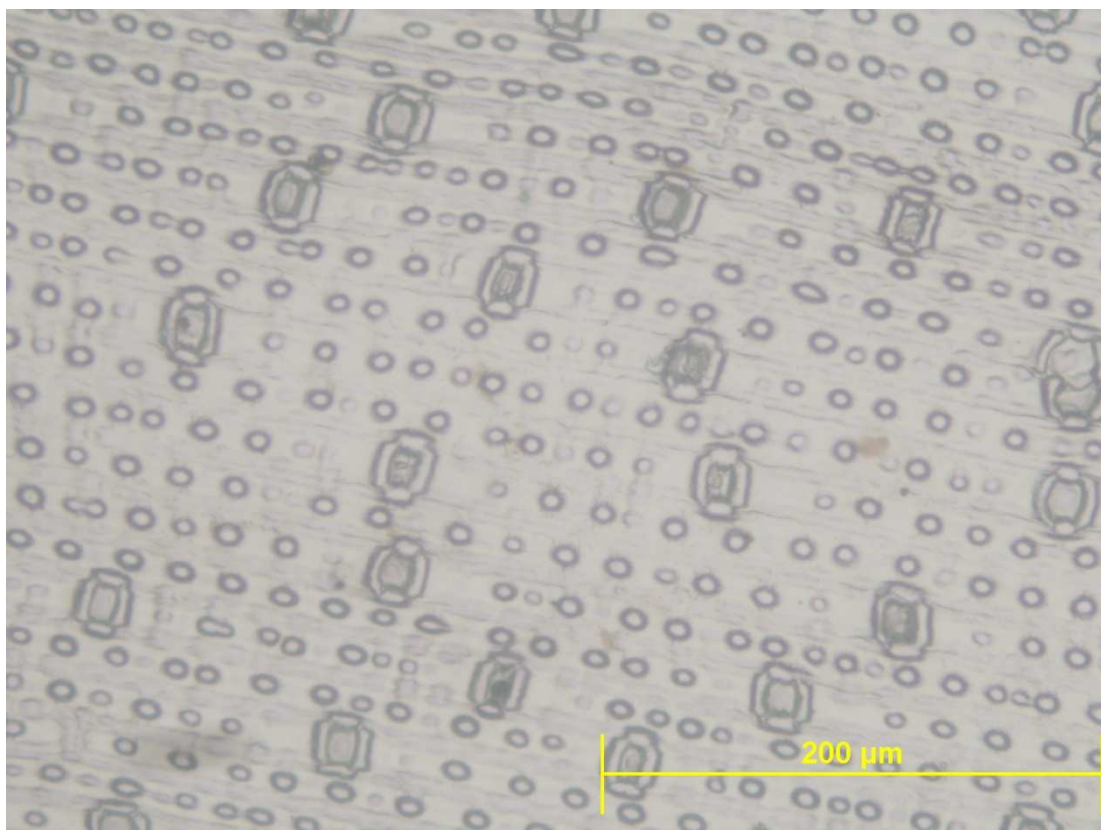


**Příloha 5:** Škála pro hodnocení papilnatosti na hraně listu *Allium oleraceum*. A) list s hladkou hranou; B) list s přerušovanou hranou bez papil; C) list s přerušovanou hranou a nepravidelným výskytem papil; D) list s papilami a nepravidelným přerušováním; E) velmi papilnatý list téměř bez přerušování.



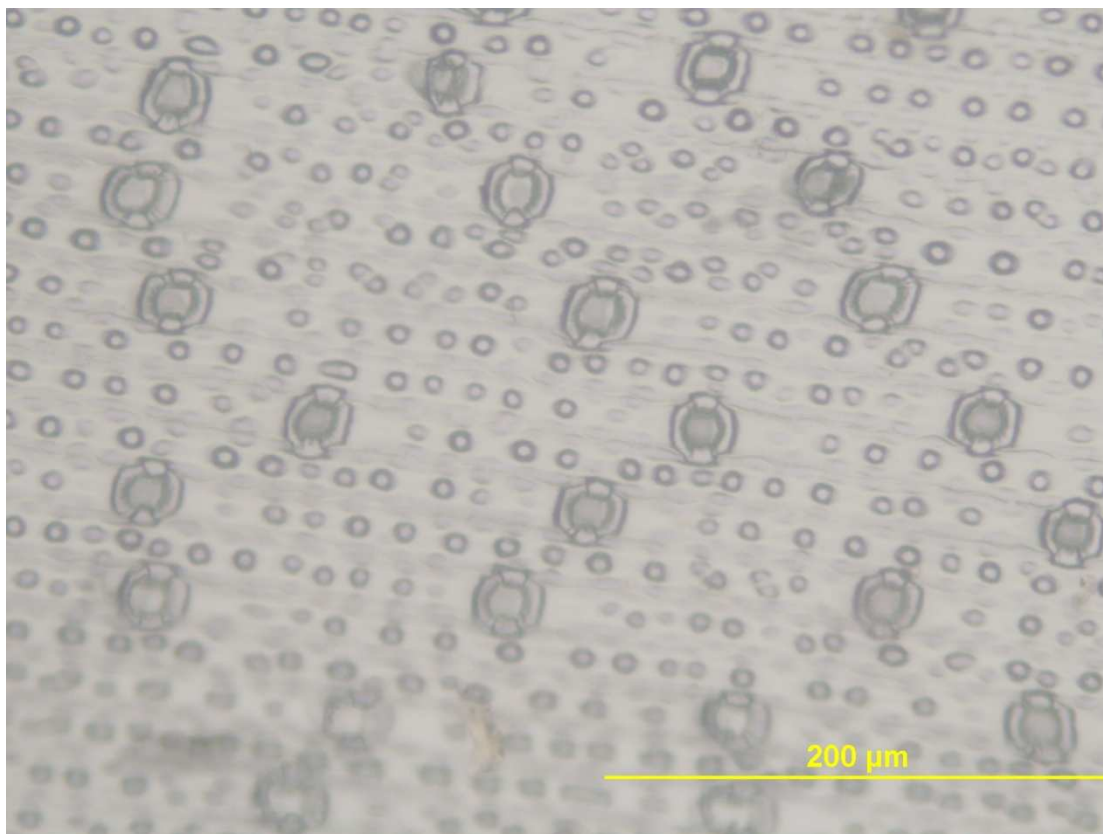
**Příloha 6:** Ukázka fotografií listových průduchů s použitým měřítkem pro všechny cytotypy *Allium oleraceum*.

6.1 Fotografie listových průduchů s použitým měřítkem u 3x cytotypu *Allium oleraceum*.

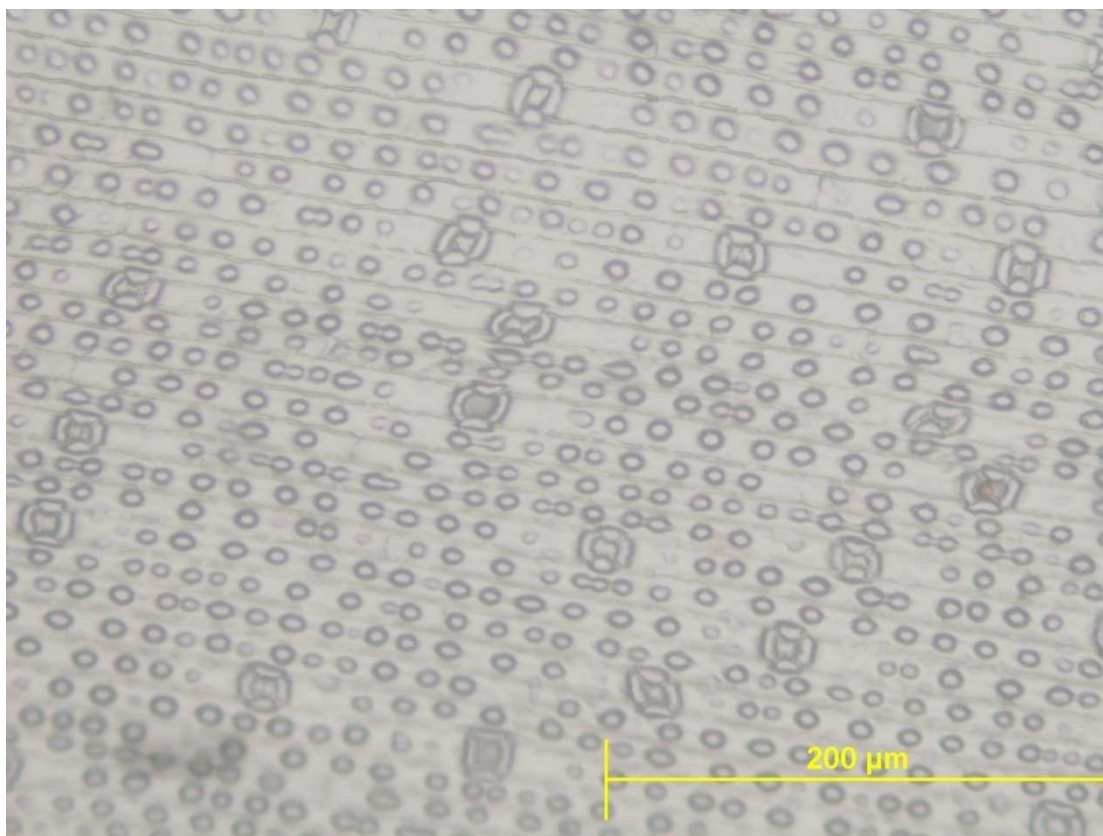




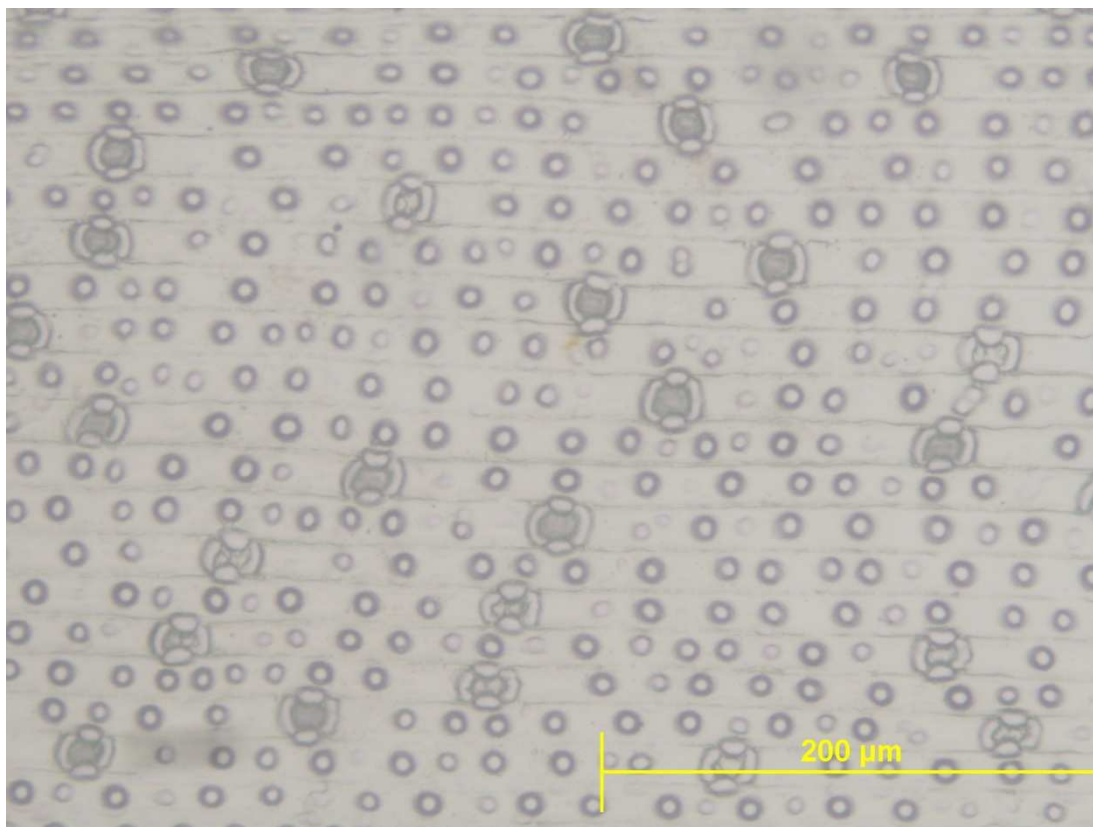
6.2 Fotografie listových průduchů s použitým měřítkem u 4x cytotypu *Allium oleraceum*.



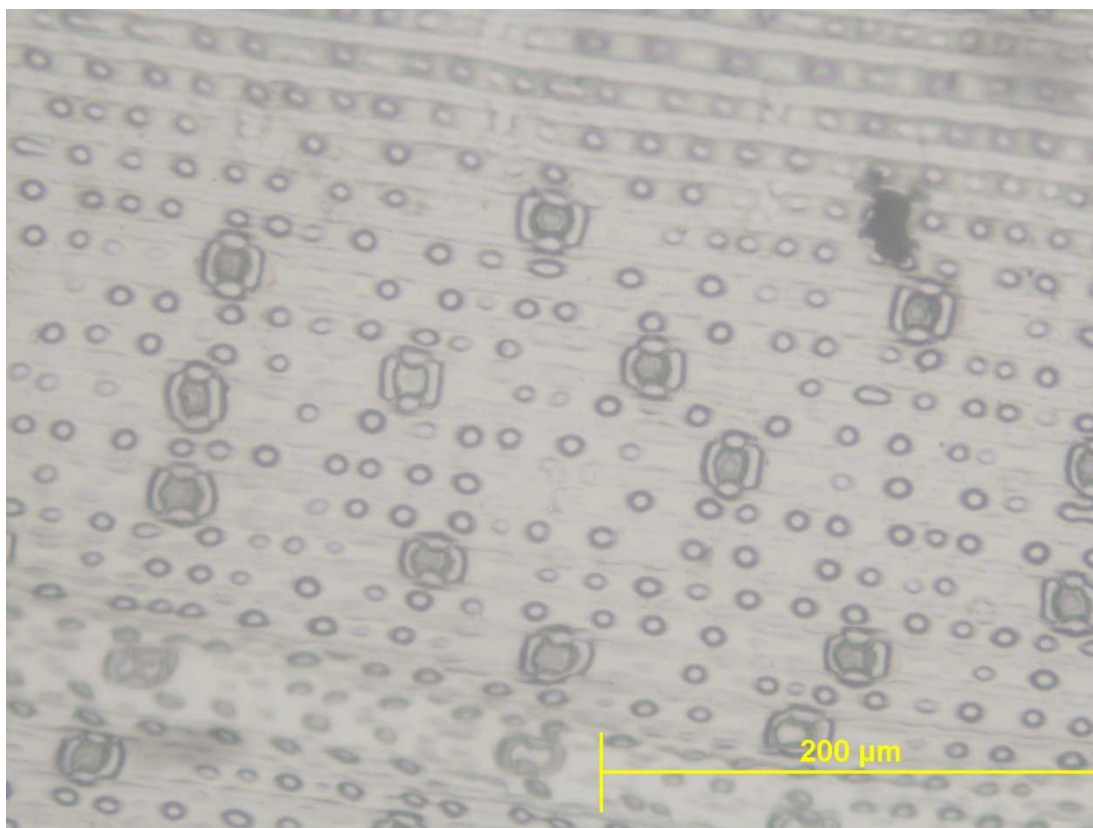
6.3 Fotografie listových průduchů s použitým měřítkem u 5x cytotypu *Allium oleraceum*.



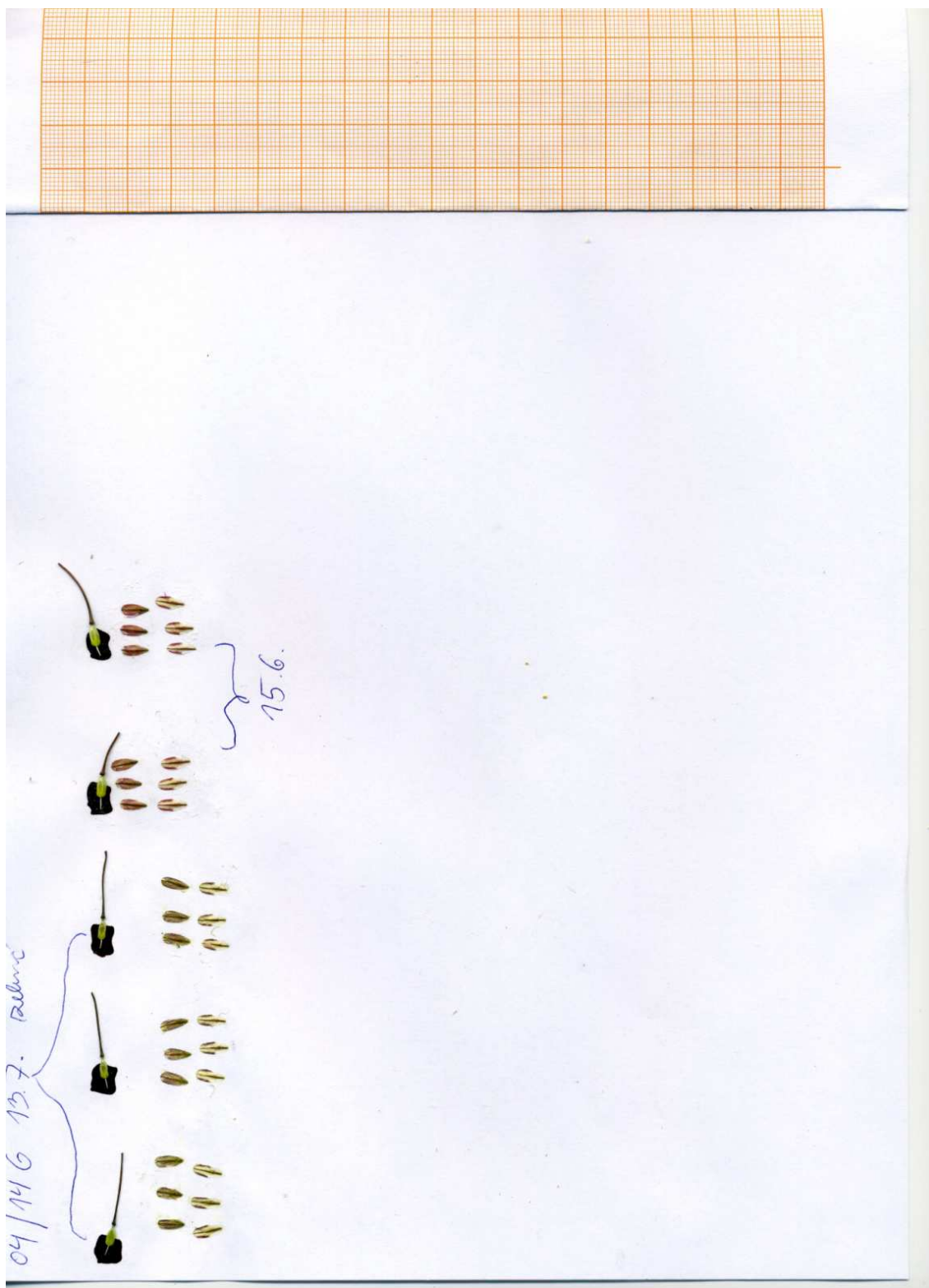
6.4 Fotografie listových průduchů s použitým měřítkem u 6x cytotypu *Allium oleraceum*.



6.5 Fotografie listových průduchů s použitým měřítkem u 7x cytotypu *Allium oleraceum*.

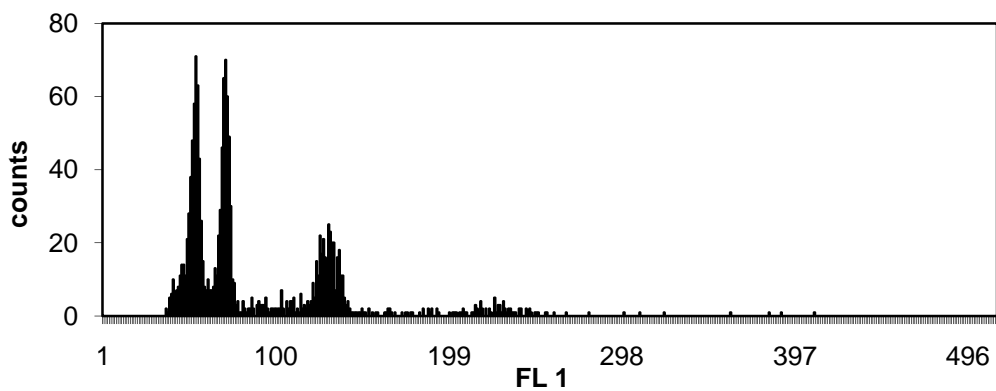


**Příloha 7:** Naskenovaný arch papíru s vylepenými částmi květů 5x cytotypu *Allium oleraceum*.

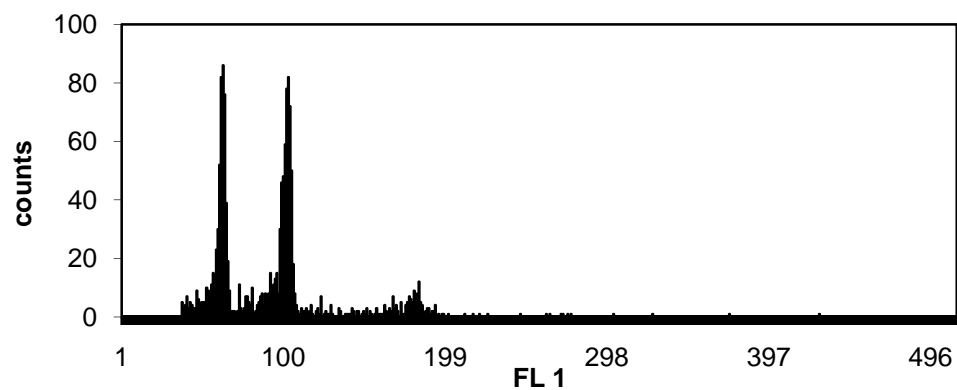


**Příloha 8.** Grafický výstup z měření průtokového cytometru CyFlow ML (Germany). Na ose y je počet analyzovaných částic, na ose x pak kanálková škála, dle které jsou hodnoceny jednotlivé polohy píků. Vlevo je zobrazen pík standardu, vpravo pík pro 3x, 4x, 5x a 6x cytotyp *Allium oleraceum*.

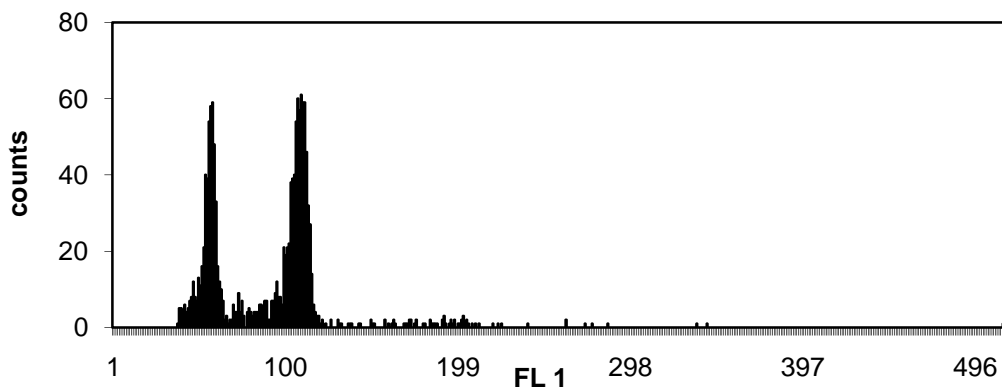
**3x**



**4x**



**5x**



6x

