

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Katedra botaniky

Středoevropští zástupci rodu *Nymphaea*

(Central-European taxa from the genus *Nymphaea*)

Klára Kabátová

vedoucí práce: doc. RNDr. Jan Suda, Ph.D.



bakalářská práce

Praha 2009

12/2011
1129252

Poděkování

Ráda bych na tomto místě vyjádřila vděk těm, kteří mne odborně i neodborně podpořili při vzniku této práce, zejména svému školiteli Janu Sudovi.

Díky...



(Nymphaea candida)

Abstrakt	3
Abstract	4
1 Úvod	5
2 <i>Nymphaea</i> s. l.	5
2.1 Taxonomické zařazení:	5
2.2 Charakteristika rodu	5
2.2.1 Morfologie	6
2.2.2 Reprodukce	9
2.2.3 Reprodukční strategie leknínů	9
2.2.4 Stanoviště	11
2.2.5 Historie a užití	11
2.3 Centra diverzity, počty druhů, evoluce	12
2.3.1 Názory na postavení skupiny a fylogenezi	12
2.3.2 Vztahy uvnitř rodu	13
2.3.3 Fosilní záznam a datování	13
2.3.4 Fytogeografie	14
2.3.5 Obecné faktory v evoluci rodu	15
2.4 Cytologie	16
2.4.1 Polyploidie a změny počtu chromozomů	16
3 <i>Nymphaea</i> ve střední Evropě	18
3.1 Druhové zastoupení	18
3.1.1 <i>Nymphaea alba</i> L. – leknín bílý	18
3.1.2 <i>Nymphaea candida</i> J. PRESL – leknín bělostný	21
3.1.3 Determinace druhů	22
3.1.4 Původ <i>N. candida</i> a vztahy mezi evropskými zástupci	24
3.1.5 Hybridizace <i>N. alba</i> a <i>N. candida</i>	25
3.2 Fytocenologie	26
3.3 Ekologie	26
3.4 Druhová ochrana	27
4 Navazující diplomová práce: nezodpovězené otázky	28
4.1 Cíle	28
4.2 Metodické přístupy	29
4.3 Praktická část	30
5 Použitá literatura	32
6 Příloha:	36

Abstrakt

Nymphaea L. (leknín) je celosvětově velmi diverzifikovaný rod vodních makrofyt. Tato diverzita je výsledkem několika z biosystematického hlediska významných fenoménů, jako je hybridizace, polyploidie, různé typy reprodukčních mechanismů a značná fenotypová plasticita. Pro detailní porozumění mnohým těmto jevům ve střední Evropě zatím však chybí dostatečná evidence.

V ČR se vyskytují dva druhy leknínů, *N. alba* L. a *N. candida* J. Presl, oba jsou řazeny mezi kriticky ohrožené (kategorie C1) taxony. Z ochránářsko-biosystematického hlediska jsou velmi cenné, neboť lze za posledních několik desetiletí sledovat markantní úbytek nejen stanovišť, ale i jedinců obou přirozeně rostoucích taxonů. Situaci znepřehledňuje navíc jejich přirozená hybridizace, vedoucí k ještě většímu rozměňování hranic mezi druhy.

Oba taxony jsou morfologicky obtížně rozlišitelné, často se vyskytují nejasné či přechodné formy a historické determinace jednotlivých druhů mohou být z tohoto důvodu mnohdy zpochybnitelné. Oba taxony se však jednoznačně odlišují velikostí genomu (obsahem jaderné DNA). Problematika taxonů *N. alba* a *N. candida* tedy představuje ideální model pro biosystematické studium vodních rostlin.

Současná biosystematika disponuje řadou metod využitelných pro studium dané problematiky, např. průtokovou cytometrií, molekulárními metodami a mnohorozměrnými statistickými postupy, a umožňuje pokládat si otázky ohledně reálné diference a variability taxonů na úrovni morfologické, cytologické i molekulární.

klíčová slova: *Nymphaea*, polyploidie, mezidruhová hybridizace, průtoková cytometrie, morfologická variabilita

Abstract

Nymphaea L. (waterlily) is worldwide very diverse genus of water macrophyta. This diversity is a product of several, in biosystematic view, significant phenomena such as hybridization, polyploidy, various types of reproduction mechanisms, and considerable phenotypic plasticity. However, there is not enough evidence for sufficient understanding of these phenomena in central Europe.

In the Czech Republic two species of waterlilies occur, *N. alba* L. and *N. candida* J. Presl, both registered as critically endangered (C1 category) taxons. In term of protection biosystematics they are very valuable because of a rapid decrease of habitats as well as individuals of naturally occurring taxons in last decades. In addition natural hybridization complicates this situation leading to even harder distinguishing between the species.

Morphological distinction of the two species is relatively difficult. Uncertain or transit forms occur often and, and historical determinations of individual species could be therefore often impugnable. However, the taxons could be unambiguously distinguished by nuclear DNA content. The *N. alba* and *N. candida* taxons issue therefore represents an ideal pattern for biosystematical studies of water plants.

Contemporary biosystematics dispose of range of methods available to study this issue, for instance flow cytometry, molecular methods, and multidimensional statistical methods. This provide many new questions about factual taxon differentiation and variability at the morphological, cytological, and molecular level.

key words: *Nymphaea*, polyploidy, interspecific hybridization, flow cytometry, morphological variability

1 Úvod

Eurasijské druhy leknínů jsou výrazně polymorfní (Heslop-Harrisson 1955), což vede autory k uznávání různých počtů druhů, někteří dokonce uznávali ve střední Evropě pouze jeden polymorfní druh (*N. alba*). Nyní jsou rozpoznávány druhy dva (Heslop-Harrisson, 1955), avšak stále o nich nevíme vše. Základní otázkou je jejich morfologická diference. V odborné literatuře lze najít množství informací, které jsou nejednotné, a někdy dokonce protichůdné (uvádíme přehlednou tabulku). Je známo, že se druhy na území střední Evropy kříží, ale podrobnější informace jsou zlomkovité. Díky své zdobnosti jsou lekníny navíc oblíbeným materiálem pro šlechtitele a zahrádkáře a přirozeně není evidence o zplaňování v naší přírodě. Existuje mnoho důvodů, proč je důležité najít přístupy a metody ke spolehlivé orientaci v taxonech, v neposlední řadě je to silné ohrožení obou druhů leknínů na našem území. Druhová ochrana ve stávající situaci není plnohodnotná kvůli častým záměnám a dalším komplikovaným jevům.

2 *Nymphaea* s. l.

2.1 Taxonomické zařazení:

Krytosemenné rostliny – oddělení Magnoliophyta – třída Magnoliopsida – řád Nymphaeales – čeleď Nymphaeaceae = leknínovité (Tomšovic, 1988).

2.2 Charakteristika rodu

Rod *Nymphaea* L. (leknín) je v čeledi leknínovitých největší a nejrozšířenější rod, čítající 40 (Hříbal, 1985; Tomšovic, 1988; Wiersema, 1988) až 47 (Les et al., 1999; Löhne et al., 2007) druhů a početné formy vyskytující se v tropických i temperátních oblastech všech kontinentů kromě Antarktidy, Tichomořských ostrovů a Nového Zélandu (Heslop-Harrison, 1955).

Zástupci rodu jsou sladkovodní byliny s vytrvalými oddenky. Většina forem je pěstována pro okrasu (Heslop-Harrison, 1955; Tomšovic, 1988). Rozlišuje se 5 podrodů: australská *N.* subg. *Anephyta*, neotropická noční *N.* subg. *Hydrocallis*, paleotropická noční *N.* subg. *Lotos*, pantropická *N.* subg. *Brachyceras* a severní temperátní *N.* subg. *Nymphaea* (Conard, 1905).

Příslušnost k řádu Nymphaeales obecně značí např. vysoké přizpůsobení vodnímu životu, ztráta epidermálních olejových buněk a typické trojbuňčné uspořádání hydropot¹ (Carpenter, 2006). Mezi synapomorfii Nymphaeaceae figuruje konstituce rhizomů, přítomnost Astroskleroidů (Carpenter, 2006), alespoň 4 kališní lístky, spirálně uspořádané tyčinky s lístkovitými nitkami, synkarpie, dužnatý plod, početná semena, laminární placentace a přítomnost charakteristických chinolizidinové alkaloidů se vztahem k seskviterpenoidům (např. nymphein). Mimo jiné se rod *Nymphaea* vyznačuje přítomností rozvětvených idioblastů² v mezibuněčných prostorech a pletivech všech orgánů (Tomšovic, 1988).

2.2.1 Morfologie

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

Listy dlouze řapíkaté tří typů: nejpočetnější jsou plovoucí (natantní); vzdušné (emerzní) vznikají při přerůstání hladiny či poklesu vody; ponořené (submerzní) se na rozdíl od stulíku (*Nuphar*) vyskytují jen jako malé, šípovité, těsně přisedlé na oddenek (Hříbal, 1985).

Čepel listu bývá eliptická, řidčeji okrouhlá. Průměr listů 5–50, u tropických druhů až 60 cm. Hříbal (1985) zastává názor, že poměrem listové délky a šířky se dá dobře rozlišit většina temperátních druhů, ale recentní studie středoevropských zástupců tento znak nedoporučují

¹ **hydroputy** – buňky ve spodní listové epidermis, patrně homologní se stomaty; na rozdíl od trichomů v dřevnatých taxonech ANITA, hydroputy Nymphaeales mají sekretorní a absorpční funkce vysoce specializované na vodní prostředí;

² **idioblasty** – buňky odlišující se od ostatních, často s obsahem siličných, pryskyřičných, tříslivinných, olejových či jiných látek

(Volkova & Shipunov, 2007). Volkova (2006) navíc zjistila, že během herbářování longitudinální deformace nekorelují s těmi transversálními.

Okraje obvykle celokrajné, málokdy zvednuté, zřídka zvlněné, tropické lekníny mají však listy zubaté i silně zvlněné.

Zářez (sinus) mezi laloky sahá téměř do středu listu, od místa napojení řapíku pak pokračuje masivní hlavní žebro (tzv. šev listu) až k vrcholu čepele, který bývá mělce vykrojen, zřídka je zaokrouhlený. Poměr délky zářezu a žebra je dalším možným diagnostickým znakem (vysoký poměr mají např. stulíky). Kratší zářez obvykle souvisí s větším úhlem mezi listovými laloky. Laloky jsou zakončeny hroty různého tvaru a vnitřní stranou svírají pravý či ostrý úhel, zářez je tak v různé míře překrýván laloky, což je charakteristické pro jednotlivé druhy a hybridy. Mladé listy jsou celkově menší, okrouhlejší, méně se překrývají laloky a úhel zářezu je větší a hroty laloků ostřejší. Kormidlo (meč) listu tvoří zvednuté a o sebe opřené laloky, obvykle po celé délce zářezu; u některých hybridů je významným rozlišovacím znakem (Hříbal, 1985).

Hlavní žilky se rozbíhají nejvíce od místa vstupu řapíku a velmi málo (ve srovnání se stulíkem) ze středního žebra. Postranní žilky 1. řádu se nedělí dichotomicky, ale rozpadají se při okraji čepele v síť, jejíž charakter má rozlišovací hodnotu (Podubský & Štědranský, 1954; Tomšovic, 1988).

Líc je hladký, buněčné stěny svrchní pokožky ztlustlé, což dělá povrch tuhý, kožovitý a odolný vlivům deště a vln (Hříbal, 1985). Splývavé listy mají ve spodních vrstvách četné vzdušné kanálky, jako i další rostlinné části. Svrchní strana listů má voskovitý povlak nebo nesmáčivé trichomy a obsahuje mnoho průduchů, které zespondu zpravidla chybí (Podubský & Štědranský, 1954). Vrch je sytě zelený, spodek matnější a načervenalý. Některé druhy a hybridy mají na obou stranách barevné skvrny. Mladé listy jsou červenofialové, stočené do ruličky (Hříbal, 1985).

Řapík je na průřezu okrouhlý, široký 1,5–25 mm, délka odpovídá hloubce a volnému prostoru na hladině: od několika cm po více než 5 m. Řapíky jsou velmi pružné. Systém vzdušných kanálků hojně vyvinut v řapících i květních stopkách (Tomšovic, 1988).

Květy oboupohlavné, jednotlivé, na dlouhých stopkách, plovoucí či vynořené nad hladinu. Voskovitý povrch okvětí odpuzuje vodu. Části kalichu, koruny a tyčinky vyrůstají ve šroubovici na stěně semeníku (Tomšovic, 1988), nebo je mezi květními obaly a tyčinkami prázdná zóna (subgg. *Lotos* a *Anecphya*; Heslop-Harrison, 1955).

Kališní lístky (sepaly) 4(3–7), vejčité, na vrcholu zašpičatělé. Zvenčí zelené nebo červenohnědé, zevnitř v barvě petalů (Hříbal, 1985; Tomšovic, 1988; Wiersema, 1988).

Korunní plátky (petaly) oble kopinaté až vejčité, zbarvené z obou stran. Směrem ke středu přecházejí v nitky tyčinek nesoucí na vrcholu prašníky. Liší se odstínem, skvrnitostí, lesklostí; středové bývají tmavší a báze tmavší než špice. Podle tvaru a zakřivení petalů lze podle Hříbala (1985) odlišit jednotlivé druhy a hybridy, systém je však málo propracován. Počet kališních lístků od 7 (Heslop-Harrison, 1955) do 40 (např. Wiersema, 1988), u některých kultivarů i přes 100 (Hříbal, 1985).

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

Pylová zrna leknínů mohou být monokolpátní, megaporátní i trichotomokolpátní. Povrch exiny je převážně verrukátní s různými vzory a modifikacemi výběžků (Ansari, 2005). Zonisulkátní pyl (s aperturou objímající celé zrno), na povrchu hladký nebo s hrbovkovitou až hůlkovitou skulpturou (Tomšovic, 1988) se vyvinul nezávisle v několika rodech bazálních krytosemenných čeledí včetně Nymphaeaceae (Hesse, 2005).

Semeník polospodní, 5–35 (až 47; Wiersema, 1988) pestíků do kruhu spojených šálkovitým květním lůžkem a tvořících druhotně synkarpní (Heslop-Harrison, 1955), u středoevropských leknínů pseudocenokarpní až apokarpní gyneceum (Tomšovic, 1988). V každém plodolistu větší počet laminálně umístěných, obrácených dvouobalných vajíček (Tomšovic, 1988). Povrchy blizen vybíhají od středového kulovitého či válcovitého výrůstku a končí abaxiálně jako zřetelné volné výběžky, zuby (Heslop-Harrison, 1955; Tomšovic, 1988; Wiersema, 1988). Bliznový terč nálevkovitý, radiálně rýhovaný, kde počet rýh odpovídá počtu plodolistů (Tomšovic, 1988). Ve středu květu vuniká bazének stigmatické tekutiny, údajně obsahující surfaktant odpovědný za smývání pylu z těl hmyzu (Wiersema, 1988).

Tvar květu je miskovitý, šálkovitý, hvězdicovitý či tulipánovitý aj. a s věkem a s hloubkou se mění. V plném rozevření se jeho průměr udává 2–30 cm (Heslop-Harrison, 1955).

Květy některých druhů jsou charakteristické četnými sklereidy, omezujícími herbivorii (Wiersema, 1988). (Více o květu v kap. *Reprodukce*.)

2.2.2 Reprodukce

Rostlina začíná kvést 2.–3. rokem (Hříbal, 1985).

Opylení je převážně entomogamní. Květní stopky, přizpůsobivější než u jiných rodů (Arber 1920), se po odkvětu spirálně stahují pod hladinu, kde dozrává **plod** – dužnatá tobolka. Počet přehrádek v tobolce odpovídá počtu plodolistů (Hříbal, 1985). Odumírající okvěti po sobě zanechává na plodu příčné jizvy a ten po 6–10 týdnech nepravidelně puká nabobtnáním interlokulárního slizu kolem semen.

Semena vejčitá nebo vzácněji kulovitá v počtu 7–30 000. Osemení obvykle hnědé nebo olivově zelené s jemně brázditým povrchem, hladké nebo s trichomy či papilami. Embryo malé a přímé, perisperm hojný, ale endosperm vyvinut slabě. Semena se uvolňují a nadnášena vakovitým míškem plavou ve shlucích několik dnů po hladině (Heslop-Harrison, 1955), kde se pasivně šíří a dochází i k jejich pozření a disperzi rybami a vodními ptáky. Obal míšku je časem rozrušen a semena klesnou na dno, kde přezimují. Klíčí na jaře v průběhu několika let (Hříbal, 1985).

Sliz pokrývající především mladé orgány je produkován sekrečními trichomy (Arber 1920). Hořká vrstvu slizu chrání ponořené části před herbivory (Hříbal, 1985).

2.2.3 Reprodukční strategie leknínů

Rod *Nymphaea* využívá několik způsobů rozmnožování. Významné je **rozmnožování vegetativní stolony** s hlízami (Arber, 1920; Podubský & Štědronský, 1954) či, u neotropických druhů, proliferací listové nebo květní tkáně, kdy se ve středu květu tvoří hlíza, z níž pak rostou listy a další květy. Později se oddělí a může i zakořenit. (Wiersema, 1988).

Pohlavní rozmnožování je zprostředkováno především entomogamicky a je ponejvíce proterogynické – květy jsou otevřené několik dnů, pyl se uvolní obvykle až druhý den, kdy se teprve květy otevrou plně a vyschne tekutina na blizně. Květy kvetoucí první den se otvírají později, aby opylovači nejprve nasbírali pyl (Wiersema, 1988).

Nejčastěji mají Nymphaeaceae velké květy s početnými částmi a jsou opylovány brouky. Malé květy bývají anemogamické (*Brasenia*) či opylovávané mouchami (*Cabomba*) (Friis et al., 2001). Temperátní druhy, které se při pohlavním rozmnožování spoléhají zpravidla na cizosprašení, pravděpodobně využívají širší škálu opylovačů (Wiersema, 1988).

Vyskytuje se **xenogamie**³, **geitonogamie**⁴ i čistá **autogamie**. S výjimkou autogamie u temperátní *N. alba* se týká výhradně tropických druhů (Wiersema, 1988). Vznik semen

³ xenogamie – oplození pylem jiného jedince

⁴ geitonogamie – oplození pylem z jiného květu téhož jedince

samosprašením probíhá jednak homogamii – brzké puknutí prašníků první den (*N. subg. Brachyceras, N. alba*); jednak přetrváním receptivity blizen více dnů (*N. subg. Hydrocallis*). Byla zaznamenána i občasná **kleistogamie**⁵ (Heslop-Harrison, 1955), např. u druhů *Euryale* a *Barclaya* (Friis et al., 2001). Žádný z druhů není agamospermní⁶.

BARVA KVĚTŮ. Variabilita v barvě koruny mezi druhy představuje především důsledky různých selekčních tlaků opylovačů. Obecně kvetou evropské druhy leknínů bíle, americké bíle, růžově a žlutě, africké modře, asijské červeně a velké australské a novoguinejské druhy (*N. gigantea*) kvetou všemi barvami (Vaněk & Stodola, 1987). Například u nočních květů podrodů *Hydrocallis* a *Lotos* a u temperátního podrodu *Nymphaea* jsou koruny zpravidla bílé (Conard, 1905). Výraznou výjimku zde představuje americký druh *N. mexicana* s květy žlutými. Přítomnost modré a žluté formy může být adaptací na opylování blanokřídlým (Hymenoptera) a dvoukřídlým (Diptera) hmyzem, který opylovává podobně barevné květy jiných skupin. (Bylo dokázáno, že stejné třídy opylovačů navštěvují stejné barvy květů; Wiersema, 1988).

VŮŇ KVĚTŮ. Mnoho autorů uvádí napříč druhy různou kvalitu i kvantitu květní vůně (např. Conard, 1905). Ta je např. u *N. odorata* a jejích variet a kříženců velmi silná, zatímco u našich leknínů podle většiny autorů charakteristická vůně chybí (Hříbal, 1985). Tento znak hraje roli především při opylování druhů kvetoucích v noci (Wiersema, 1988).

ČASOVÁNÍ KVETENÍ. Příčinu přerušení genového toku může způsobit rozdílná doba kvetení. Také výběžky pestíků mohou regulovat vstupu opylovačů na bliznu v čase tím, že se nad ní po nějaké době stočí a zakytí ji. Zřejmě též zvyšují pravděpodobnost zachycení cizího pylu v květu (Wiersema, 1988).

POVRCH SEMEN A PYLU. U *N. subg. Nymphaea* jsou semena zcela prostá povrchových papil, na rozdíl od tropických zástupců. Temperátní semena mají malou rezistenci k vyschnutí (Conard, 1905) a tropické zase ke zmrznutí. Papily s největší pravděpodobností chrání semeno před vyschnutím (Wiersema, 1988). Pyl druhů kvetoucích v noci a přednostně opylovaných brouky je hladší než u druhů opylovaných včelami a mouchami. Pylové typy jsou diagnostické pro druhy a ekosystémové stupně a zdá se, že mají v rámci rodu taxonomický a evoluční význam (Ansari, 2005).

⁵ kleistogamie – oplození vlastním pylem v uzavřených květech

⁶ agamospermie – vznik semene bez splynutí gamet; (Briggs & Walters, 2001)

2.2.4 Stanoviště

Leknín indikuje hlubší a teplejší stojaté vody se spíše bahnitým dnem. Vyhledává oslunění a vyhýbá se vodním proudům (Hejný, 2001).

Některé druhy, ocitnou-li se snížením hladiny na suchu, mohou vytvářet i terestrické formy. Jejich stonky a listy se přizpůsobí životu na suchu, jak u nás zdokumentovali např. Podubský a Štědronský (1954). Tato forma je podstatně menší (listy jsou krátce řapíkaté), schopná vegetovat celé léto bez ponoření (Arber, 1920). U pozemních forem leknínů se projevuje heterofylie (různolistost), tolik typická pro vodní makrofyta (Hříbal, 1985).

2.2.5 Historie a užití

Leknín byl od pradávna v mnohých kulturách zdrojem nejen inspirace, ale i surovin. V západní Africe, Austrálii, Japonsku, Finsku a Rusku byla požívána semena, listové pupeny, oddenky i hlízy. Ze semen se dokonce dělala mouka (Conard 1905) a náhražka kávy. Květní stopky se místy používají jako tabákové dýmky (Heslop-Harrison, 1955). Oddenky obsahují asi 40% škrobu. Na Hebridech byl vařením oddenků extrahován tanin a používán k barvení vlny (Heslop-Harrison, 1955). Oddenek obsahuje navíc některé alkaloidy (nymfein, drumin) a další látky. Obsažené trísloviny byly dříve používány k vydělávání kůží, z leknínů se vyráběla černá barva, připravovalo pivo apod.

Listy, stonky a květy měly mít podle některých tvrzení léčebné účinky (Hříbal, 1985). V medicíně našly využití především oddenky s obsahem alkaloidu nymphaezinu, užívaného jako adstringens (Podubský & Štědronský, 1954). Pomoc lekníny nabízejí i při bolestech močového měchýře; květy i semena snižují sexuální přecitlivělost (Hejný, 2000).

Mayové a Staří Egypťané používali rostliny *Nymphaea caerulea* Sav. a *N. ampla* DC. s obsahem psychoaktivního apomorfinu a aporfinu (alkaloidy příbuzné morfinu) jako narkotika (psychodysleptika) k navození extatického stavu při rituálech (Emboden, 1981, 1989). Podle nových objevů může být apomorfin nápomocný při erektilní dysfunkci (Bertol et al., 2004). Recentní pokusy na potkanech odhalily chemopreventivní účinek evropského druhu *Nymphaea alba* proti poškození ledvin (Khan & Sultan, 2005).

Pokožkové žlázy na orgánech které mají přímý kontakt s vodou akumulují těžké kovy, tj. existuje potenciál k využití leknínů pro čištění kontaminované vody (Lavid et al., 2001).

Z mezidruhových křížení vzniklo koncem 19. st. a začátkem 20. st. mnoho okrasných kultivarů, značených společným názvem *N. hybrida* = *N. h.* (Hříbal, 1985). Vyčerpávající seznam kultivarů pěstovaných u nás předkládá např. Vaněk & Stodola (1987).

2.3 Centra diverzity, počty druhů, evoluce

2.3.1 Názory na postavení skupiny a fylogenezi

Lekniny byly systematicky studovány desítky let v souvislosti se vznikem a evolucí krytosemenných rostlin, jako reprezentanti jedné z nejstarších skupin. Taxonomicky se jedná o malou skupinu, vztahy mezi rody ale unikaly objasnění a dlouho nebyla žádná klasifikace široce přijímána (Les et al., 1999).

Několik znaků, které jsou běžně interpretovány jako **autapomorfie**⁷ čeledi **Nymphaeaceae** (přítomnost mléčnic, složený semeník s laminární placentací, početná semena se zřetelnou apikální čepičkou a početné korunní lístky a tyčinky), by mohly představovat už **pleziomorfie**⁸ **Nymphaeales**. Jedinečné vlastnosti řádu vznikly díky ranému odvětvení od ostatních krytosemenných a výrazným fenotypovým změnám během adaptace na vodní život (Löhne et al., 2007), jako je např. ztráta kambia a sklerenchymu. Další novinky se vyvinuly při následné diverzifikaci leknínů – hydrofity a plovoucí semenné míšky (arily) (Borsch et al., 2008).

Postavení leknínů bylo někdy klasickými taxonomy hodnoceno jako mezistupeň jednoděložných a dvouděložných, a podle některých měly být dokonce Nymphaeales řazeny k jednoděložným, nebo alespoň k jejich předkům (Arber, 1920). Goremykin et al. (2004) afinitu jednoděložných k předchůdcům dnešních Nymphaeales nepotvrdili. Pomocí chloroplastové DNA bylo doloženo poměrně odvozené postavení jednoděložných a **bazální postavení větve *Amborella* + *Nymphaea*** (Goremykin & Hellwig, 2006).

Mnohaleté snahy dlouho nepřinesly rozřešení vztahů v celé skupině (Liu, 2005), teprve Löhne et al. (2007), kteří v rámci řádu zpracovali dosud patrně nejrozsáhlejší molekulární soubor, potvrdili několik předchozích hypotéz včetně monofylie čeledi Nymphaeaceae (potvrzuje též následně Borsch et al., 2008).

Čeled' Nymphaeaceae (leknínovité) zahrnuje 6 rodů ve zjednodušeném vztahu:

((((*Victoria* + *Euryale*) + *Nymphaea*) + *Ondinea*) + *Barclaya*) + *Nuphar*)

(podobně Les et al., 1999; Liu, 2005; Borsch et al., 2007, 2008) a asi 66 druhů (Les et al. 1999). Rody jsou typické svým rozšířením: ***Euryale*** ve východní Asii, ***Ondinea*** je endemitem

⁷ autapomorfie – znak unikátní pro jediný taxon;

⁸ pleziomorfie – původní, primitivní znaky;

sz. Austrálie, *Victoria* je neotropická, *Barclaya* jv-asijská a představiteli severního mírného pásma jsou *Nuphar* a *Nymphaea*.

2.3.2 Vztahy uvnitř rodu

Téměř globálně rozšířený rod *Nymphaea* představuje zhruba polovinu zástupců řádu Nymphaeales (Borsch et al., 2008).

HISTORIE. Linné (1753) rod pojmenoval po řecké bohyni jara Nymphé. V roce 1806 byl rod Salisburym rozdělen na *Nymphaea* L. a *Castalia* SALISB. Později se obě jména používala synonymně a stulíku (*Nuphar*) se dostalo samostatného rodového postavení (Britten, 1888).

KLASIFIKACE. Conardova klasifikace (Conard, 1905), stále většinou přijímaná (např. Wiersema, 1988), rozpoznává 5 podrodů, zmíněných již dříve: *N.* subg. *Anecphyta* (vč. *Ondinea*), *N.* subg. *Hydrocallis*, *N.* subg. *Lotos*, *N.* subg. *Brachyceras* a *N.* subg. *Nymphaea*.

PARAFYLETISMUS RODU. Borsch et al. (2007) představují poměrně mladou molekulárně-fylogenetickou studii, která zpochybnila monofylii rodu a rozdělila ho na **severní temperátní *N.* subg. *Nymphaea*** (větev sesterská ostatním druhům), větev ***N.* subgg. *Hydrocallis* a *Lotos*** a větev ***N.* subgg. *Anecphyta* a *Brachyceras***. Tím, že Löhne et al. (2007) zpracovali reprezentativnější počet vzorků než např. Les et al. (1999) a Borsch et al. (2007), potvrdili, že **rod *Nymphaea* je parafyletický⁹**: *Victoria* a *Euryale* jsou podle nich sesterské k větvi *Nymphaea* subgg. *Hydrocallis* a *Lotos* (také Borsch et al., 2008) a Australský endemický rod *Ondinea* tvoří jednu linii se členy australského *N.* subg. *Anecphyta*, morfologicky i geneticky. Podobně jako u Borsche et al. (2007) stojí *N.* subg. *Nymphaea* v sesterské pozici ke všem ostatním podrodům, jelikož se oddělili jako první. Kritické zhodnocení morfologických a anatomických znaků se zvláštním ohledem na variabilitu mezi subg. *Nymphaea*. obecně chybí (Löhne et al., 2007).

2.3.3 Fosilní záznam a datování

Fosilní záznam řádu Nymphaeales odkrývá čas a povahu diverzifikace nejranějších kvetoucích rostlin (Gandolfo et al., 2004). Podle Corneta (2002) se jejich evoluce musela udát ještě před křídou a před migrací z Laurasie do Gondwany (Cornet, 2002). Současní Nymphaeales diverzifikovali do dvou hlavních kladů odpovídajících Cabombaceae a Nymphaeaceae během eocénu ($44,6 \pm 7,9$ mil. let; Yoo et al., 2005). Krytosemenné rostliny

⁹ parafyletický taxon – zahrnující předka, ne však všechny jeho potomky;

patrně vznikly v triasu a radiovaly v křídě za postupného rozpadu Pangey, zvýšení aridity v tropech a mizení bažin a deštných lesů v severní Gondwaně během jury. Současný shodný názor mezi botaniky je, že *Amborella* a Nymphaeaceae jsou geneticky nejprimitivnější žijící krytosemenné rostliny, ale jejich morfologické rozdíly jsou tak velké, že musely existovat i jiné typy a přechody, které vymřely na přelomu triasu a jury. Podle kladisticko-molekulárního fylogenetického stromu i fosilií žili zástupci Nymphaeaceae už dokonce na začátku pozdního triasu (Heslop-Harrison, 1955; Cornet, 2002).

Nález fosilních květů s tyčinkami, pestíky a pylem rostlin příbuzných skupině ANITA (Amborellales, Nymphaeales, Illiciales a Austrobaileyales) v Portugalsku spadá do časně křídě (125–115 mil. let), a napovídá, že květy raných krytosemenných nebyly příliš podobné těm dnešním, přesto fosilní květ pojí s Nymphaeaceae mnoho znaků. Ve spodní křídě byly již rozmanité vodní rostliny vedoucími krytosemennými (Friis et al., 2001).

Fosilie ze svrchní křídě (kolem 90 mil. let) se známkami čeledi, označená jako *Microvictoria svitkoana*, je blízce příbuzná dnešním rodům *Victoria* a *Euryale*, a zdá se, že již byla přizpůsobena k opylení brouky (Gandolfo et al., 2004). V terciéru se rod široce rozšířil v Evropě a zanechal fosilie až na Špicberkách (Conard, 1905). V terciéru a starším kvartéru zasahovaly do Evropy, včetně našeho území, i některé dnes exotické rody leknínovitých (*Brasenia schreberi* v posledním glaciálu) (Tomšovic, 1988).

Stáří celého rodu je datováno asi od středního terciéru (Wiersema, 1988). Nejranější známé fosilie které mohou jednoznačně být zařazeny do podrodu *Nymphaea* se datují na 15–20 mil. let (Borsch et al., 2002) a dnešní rody jsou staré $41,1 \pm 7,7$ mil. let (Yoo et al., 2005).

2.3.4 Fytogeografie

Předci Nymphaeales žili během eocénu na americkém a eurasijském kontinentu a současnému rozšíření předcházelo několik dispersí a extinkcí, které jsou doloženy fosilním záznamem (Yoo et al., 2005).

CENTRA DRUHOVÉ DIVERSITY jsou **sever Jižní Ameriky, Střední Amerika, africký region Zambezi a severní Austrálie**. Jacobs & Hellquist (2006) například v Austrálii nedávno popsali hned tři nové druhy.

DIVERSIFIKACE. Diverzifikace řádu započala na severní polokouli, v době kdy severní zemskou masu pokrývala tropická vegetace. Proběhly dvě odlišné radiální události. Jednak rychlá **diferenciace řádu** do dvou hlavních linií během paleocénu (nejstarší třetihory) a od pozdního oligocénu do středního miocénu třetihor pak probíhala **radiace leknínovitých**, která pravděpodobně započala (jak už bylo řečeno) na severní polokouli. Následující prostorové

oddělení a přesuny k jihu vedly k **disjunktní distribuci** některých dnešních linií (*Euryale* a *Victoria*; *Nymphaea* subgg. *Hydrocallis* a *Lotos*; Löhne et al., 2008). *Nymphaea* byla velmi rozšířeným představitelem středoevropské flory už v terciéru, což dokládají například nálezy v depozitu Švýcarských jezer (Heslop-Harrison, 1955).

TRANSOCEANICKÉ DISJUNKCE. Pro vodní rostliny jsou charakteristické velmi široké areály často s mezikontinentálními disjunkcemi. Les et al. (2003) pomocí molekulárních hodin zjistil, že za takovým rozšířením vodních taxonů nestojí pouze kontinentální drift. Disperze ptactvem na dlouhé vzdálenosti zůstává reálným vysvětlením široce disjunktních areálů, přestože taková disperse pravděpodobně znamenala kombinaci migračních cest pozemních i zaoceánských (Les et al., 2003).

N. SUBG. NYMPHAEA. Hlavní linie rodu *Nymphaea* vykazují charakteristické rozšíření. **Temperátní větve** asi sedmi druhů (odpovídající subg. *Nymphaea*) se podle molekulární analýzy dělí zvláště na druhy eurasijské a druhy severoamerické (Hellquista et al., 2003). Severoamerická *N. odorata* Aiton (s poddruhy *odorata* a *tuberosa*) a *N. mexicana* (jih USA a Mexiko) jsou v temperátní větvi bazální a eurasijská *N. alba* a *N. candida* pak tvoří sesterskou skupinu třem trpasličím druhům – *N. pygmaea*, *N. leibergii* a *N. tetragona*, z nichž poslední dva obývají boreální oblasti¹⁰. *N. leibergii* je endemická na severu Severní Ameriky (Borsch et al., 2002) a *N. tetragona* se vyskytuje na západě Severní Ameriky a v temperátní Eurasii (**Wiersema, 1996**).

N. pygmaea se popisem často neliší od *N. tetragona*, což vede někdy k používání obou názvů jako synonym (**Wiersema, 1996**). V pojetí Hellquista et al. (2003) se jako bazální druh jeví právě východoasijská *N. pygmaea*.

2.3.5 Obecné faktory v evoluci rodu

U vodních rostlin je běžný klonální růst a vzácné až ojedinělé pohlavní rozmnožování. **Vegetativní reprodukce** představuje významný evoluční katalyzátor, protože umožňuje udržení kříženců a netypických cytotypových variant (Les & Philbrick, 1993).

Jeden z nejvýraznějších znaků evoluce rodu *Nymphaea* je **slabý vývoj reprodukčně-izolačních mechanismů** odpovědný za značný sklon k přírodní i umělé hybridizaci. Izolaci druhů napomáhají ekologické faktory prostředí; geografická izolace byla také důležitá, např. při oddělení evropského druhu *N. alba* L. od severoamerického *N. odorata*. Podle Wiersemy (1988) mohla být příčinou genetické izolace a speciace **různá květní biologie** podrodů a

¹⁰ Morfologické rozdíly *Nymphaea tetragona* a *Nymphaea leibergii* jsou na herbářových položkách těžko viditelné a často je nelze rozpoznat bez podrobného rozboru květů.

koevoluce s odlišnými opylovači, to ale platí spíše pro tropické a subtropické druhy s vyššími četnostmi.

Květní členitost souvisí se způsobem opylování, podle Lese (Les et al., 1999) může množství květních orgánů představovat odpověď na herbivorii brouků, kteří fungují zároveň jako opylovači. Mnohadílný květ (*Nymphaea*, *Victoria*) byl dlouho považován za znak primitivního postavení mezi krytosemennými, ale ukazuje se, že **velký počet květních orgánů nereprezentuje primitivní, ale spíše odvozené postavení** (Les et al., 1999; Borsch et al., 2008; Friis et al., 2001; Endress & Doyle, 2009).

Úspěch rodu je dán několika faktory. Jedním z nich může být jeho stáří, nicméně jiné nymphoidní rody srovnatelného stáří tak evolučně diverzifikované nejsou. Dalším faktorem může být specializovaná, ale široce dostupná nika. Žádný z podobných druhů ale nedosáhl podobné druhové radiace a globálního rozšíření. Ve shodě s Guptou (Gupta, 1978, 1980) hrály v evoluci rodu důležitou roli **polyploidie, strukturální chromozomové změny**¹¹ a **genové mutace** (Wiersema, 1988) – viz kap. *Polyploidie*.

2.4 Cytologie

Základní chromozomové číslo rodu se uvádí $x = 7$ (Tischler, 1950), nebo častěji $x = 14$ (Gupta, 1978, 1980; Hossain et al., 2009). Druhy tvoří polyploidní série ($n=14, 28, 42, 56$ a 112), např. *N. gigantea* je hexadekaploid. Platí, že morfologicky primitivnější rody mají více chromozomů. Tyto malé chromozomy ($0.5\text{--}2.0\ \mu\text{m}$) se obtížně počítají klasickými metodami (Heslop-Harrison, 1955; Gupta, 1980).

2.4.1 Polyploidie a změny počtu chromozomů

Krytosemenné rostliny podstoupily časně během své evoluční historie (nevíme přesně kdy) dvě celogenomové duplikace, které byly klíčové pro vznik mnoha důležitých vývojových a regulačních genů (Soltis & Soltis, 2000). Tyto starobylé polyploidizační události mohly mít důležitou úlohu ve vzniku a diversifikaci krytosemenných (Bodt et al., 2005; Soltis et al., 2008).

¹¹ Genomové přestavby mohou být společným atributem polyploidů. Lze je zaznamenat metodami “genome *in situ* hybridization” (GISH), “restriction fragment length polymorphism” (RFLP) analysis a chromozomovým mapováním (Soltis & Soltis, 2000).

Polyploidizace hrála dominantní roli také při speciaci leknínů (Gupta, 1978). Problémy s reprodukcí, které s sebou polyploidie nese, jsou u vytrvalých vodních rostlin snadno překlenutelné vegetativním množením (Briggs & Walters, 2001), a zřejmě proto je u leknínů zastoupení polyploidů více než 85% (Gupta, 1980).

Zástupci původní diploidní skupiny představují rozličné euploidní formy od 2x až po 16x, mezi nimiž je nejvyšší frekvence hexaploidů; ti se vyvinuli buď křížením diploida a tetraploida následovaným zdvojením chromozomů, nebo křížením tetraploida s oktoploidem. Vzhledem k polytopickému vzniku jsou některé hexaploidní druhy plodné, zatímco jiné jsou sterilní. Tetraploidní druh mohl vzniknout buď přímo z diploidů, nebo skrze hybridizaci mezi diploidem a hexaploidem (Gupta, 1980), viz **Příloha 1**.

Kromě těchto euploidních forem *N. candida*, *N. alba* a *N. tetragona* byla zaznamenána **aneuploidie** (Gupta, 1978, 1980; Hossain et al., 2009). Široká distribuce rodu je patrně důsledkem těchto jevů, o nichž je známo, že mohou zvyšovat toleranci a umožňovat taxonům přežití v extrémním klimatu (Gupta, 1978; Briggs & Walters, 2001). Aneuploidie a chromozomové přestavby mají velký význam především pro saltační speciaci (Briggs & Walters, 2001).

Polyploidi vyšších řádů se běžně vyznačují variabilitou chromozomálních čísel, což je způsobeno převážně průběhem meioze (Briggs & Walters, 2001). **Nepravidelnosti v meioze** zahrnují např. multivalentní konfigurace u tetra- a hexaploidů a nesynchronní segregace způsobující vznik asymetrických spor v abnormálních tetrádách či polyádách. Výskyt různých počtů multivalentů v polyploidních taxonech odhaluje jejich **segmentálně allopolyploidní povahu**. Ve většině taxonů leknínů je meioza charakteristická **segregačními nepravidelnostmi**, které mohou být přičteny hybridnímu původu (Gupta, 1978). Často byly pozorovány **neredukované nebo aberantní gamety**. Ty daly v minulosti vznik některým polyploidním taxonům. Primárně je ale u polyploidů běžná **sterilita pylu a absence semen** (Gupta, 1980).

Kromě sexuálně vznikající polyploidie se objevuje i **eusomatie** a **aneusomatie** v buňkách, které se mohou vegetativně šířit (Gupta, 1980). Neredukované gamety však údajně hrají při polyploidizaci důležitější roli než somatická zdvojení (Briggs & Walters, 2001). Polysomie se občas projeví např. v souvislosti s hexaploidii. Některé druhy jsou charakteristické výskytem syncytií, během jejichž dělení může vznikat vysoce polyploidní jádro (Gupta, 1980).

Následně mohly probíhat mutace a přestavby nadbytečných chromozomů a posunout tak vývoj druhu významným způsobem vpřed (Gupta, 1980).

3 *Nymphaea* ve střední Evropě

3.1 Druhové zastoupení

V Evropě se vyskytují, alespoň podle některých autorů, 4 druhy leknínů se širokou ekologickou amplitudou (minerální až organické sedimenty, kyselé až zásadité vody): *N. alba*, *N. candida*, *N. tetragona* a *N. lotus Willdenow (L.)*, z nichž *N. tetragona* nezasahuje do střední Evropy a *N. lotus* je omezena pouze na některé termální prameny v Maďarsku a Rumunsku, kde přetrvala jako reliktní květeny třetihor (Hegi, 1965; Vaněk & Stodola, 1987; Muntendam et al., 1996). Variabilita však ztěžuje taxonomické určení natolik, že s různými přístupy lze rozlišit v Evropě 1 až 10 (Heslop-Harrison, 1955), ale i 12 (Volkova & Shipunov, 2007) druhů. Bylo např. popsáno mnoho variet a poddruhů *N. alba*, z nichž je vhodné zmínit dva: *N. alba var. minor DC.* roste v chladnějších severních oblastech podobně jako *N. candida* (Hegi, 1965). Druhou je *N. alba ssp. occidentalis (Ostenfeld) Moss*, rostoucí v irských a skotských jezerech (Heslop-Harrison, 1955). Podle všeho se variety liší jen výskytem a jejich malý vzrůst je dán málo úživným prostředím. Obě jsou často zaměňovány s *N. candida*.

3.1.1 *Nymphaea alba* L. – leknín bílý

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

MORFOLOGIE. (Viz **Příloha 2: Tabulka znaků.**) Černý tlustý oddenek je převážně horizontálně ponořen v bahně a téměř se nevětví (Heslop-Harrison, 1955). Tloušťka se pohybuje mezi 5–7 cm, délka 30–60 cm. V porovnání se stulíkem (*Nuphar*) je oddenek svislejší a okrouhlejší (Podubský & Štědranský, 1954). Palisty jsou jednoduché, blanité, kořínky bílé s černou čepičkou (Heslop-Harrison, 1955).

Fylogenie vysokého řádu: 13/34 (Conard, 1905) nebo 8/21 (Heslop-Harrison, 1955). Řapík 50–250 cm válcovitý se 4 vzdušnými kanálky. Submerzní listy se netvoří (Vaněk & Stodola, 1987). Čepel vejčité okrouhlá, celokrajná zesponu červenofialová nebo bledě zelená, shora

tmavě zelená (Podubský & Štědronský, 1954; Heslop-Harrison, 1955; Tomšovic, 1988). Laloky jsou různě rozestálé, dlouhé 15–30 a široké 12–25(30) cm (Vaněk & Stodola, 1987)

Kvete od časného června do pozdního srpna (Heslop-Harrison, 1955; Vaněk & Stodola, 1987; Tomšovic, 1988). Květní části vyrůstají ve spirále až do dvou třetin pestíku nebo výše. Kališních lístků je tradičně 3–5. Lístky koruny jsou dlouhé 2,1–8,5 cm, početné, čistě bílé nebo do růžová, nikdy však červené¹². Tyčinek je 46–125, vnější mají širokou bílou petaloidní nitkou, směrem ke středu užší a žluté. Vnější prašníky praskají dříve. (Heslop-Harrison, 1955).

Pylové zrno s víčkem a hrbolky na povrchu (Heslop-Harrison, 1955). U *N. alba* se vyskytují obecně velmi vzácná trichotomokolpátní pylová zrna s gemátními a bakulátními výrůstky. Povrch exiny verrukátní (Ansari et al., 2005).

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

Plodem je kulovitá tobolka (také Vaněk & Stodola, 1987) velká 3–4 cm, přehrádkovaná, vyplněná dužninou s četnými hnědočervenými lesklými semeny s bělavým obalem (Podubský & Štědronský, 1954) v počtu více než 1700 na plod (průměrně 500; Heslop-Harrison, 1955). Plod dozraje pod vodou, semena vyplují na hladinu a během 2–3 se šíří pasivně vodou. Podobají se žabímu potěru a lákají vodní ptáky, kteří mohou být důležití pro disperzi. Semena požírají také ryby, které mohou být uloveny rybožravými ptáky, ti se pak stávají nepřímými šířiteli. Pasivně se šíří vodou. Semena která byla přes zimu na suchu příští rok neklíčí, ale zmrznutí semena vydrží dva týdny. Chlad urychluje budoucí klíčení, které bývá nepravidelné (Heslop-Harrison, 1955).

CYTOLOGIE. Předpokládaná chromozomová čísla jsou $2n = 64, 96, 48, 84, 105, 112$. Většina britských rostlin je nejspíš hexaploidní, ale jsou zde i údaje o oktoploidii (Heslop-Harrison, 1955).

V Bangladéši určili Hossain et al. (2009) u leknínu bílého $2n = 5x = 70$, mohl zde vzniknout zkřížením *Nymphaea rubra* $2n=56$ (4x) a *Nymphaea pubescens* $2n = 84$ (6x).

U nás je *N. alba* **tetraploid** (Volkova et al., in prep.) s $2n = 84$ (Tomšovic, 1988).

¹² Hříbal (1985) uvádí v chladných švédských vodách divoce rostoucí *N. alba* var. *rubra* = var. *rosea*.

VARIABILITA. Velmi proměnlivý druh, odchylky mají status forem, variet i druhů, nelze jim však přisuzovat taxonomickou hodnotu. Proměnlivost se projevuje (kromě nestálých ekomorfóz) v barvě bliznového terče, tvaru pestíku a plodu, barvě plodu aj. (viz kap. Určení) Existují nejrůznější kombinace těchto znaků vznikající zřejmě alogamicky a mohou se autogamicky nebo vegetativně lokálně udržovat. V ČR jeví *N. alba* náznak určité hlubší diferenciace: rostliny z termofytika se vyznačují nižším počtem bliznových zubů (nejčastěji 10–16), užším bliznovým terčem (v poměru k šířce pestíku) a obecně se více podobají *N. candida*. Typické znaky (jih areálu) lze zjistit hlavně u rostlin z mezofytika, u nichž je však často podezření, že byly v minulosti introdukovány. V českém a hlavně panonském termofytiku a v j. Slovensku se objevují rostliny typu „minoriflora“ (subspecie). Vztah k *N. alba* var. *minor* rostoucí v sz. části stř. Evropy a v Alpách a k *N. occidentalis* (OSTENFELD) Moss ze sz. Evropy je nejasný, vzhledem k blízké morfologii, ale odlišným ekologicko-cenologickým charakteristikám. Tomšovic (1988) soudí, že taxonomické zhodnocení není možné v rámci naší republiky, ale v celém areálu, a to studiem živého materiálu.

Terestrická forma, *N. alba* – *forma terrestris* byla popsána několikrát, listy mají stočené okraje a výška nepřesahuje 0,5 m. Rostliny se vrátí k normálu, když se ocitnou ve vodě (Heslop-Harrison, 1955). Např. v Irsku se objevuje jako semiterestrická rostlina (Heslop-Harrison, 1955).

VÝSKYT. Roste ve vodách sladkých i brakických různě kyselých, oligotrofních i dystrofních. Často i v horských jezerech, např. v Alpách (Vaněk & Stodola, 1987). V planárním stupni na eutrofních, jinde též mezo- až oligotrofních stanovištích a zpravidla vyžaduje vrstvu humózního bahna. Roste nejvíce v hloubce 70–150 cm v polohách chráněných před vlnobitím (Tomšovic, 1988). Nesnáší nadměrnou turbiditu. Obvykle toleruje stín a často se objevuje v porostech rákosu (*Phragmites*), kde je až o 50% světla méně (Heslop-Harrison, 1955). Podle Conarda (1905) sice roste až do hloubky 5m, zřídka však překročí 2,5 m (limit světla při klíčení, dále jen vegetativní výhonky; Heslop-Harrison, 1955).

CENOLOGIE. Tvoří charakteristická společenstva např. s rdesty (*Potamogeton natans*) a stulíky (*Nuphar lutea*) (Vaněk & Stodola, 1987). Ve společenstvech svazu *Nymphaeion albae* je diagnostickým druhem, s optimem ve společenstvu *Nupharo lutei-Nymphaeetum albae*. Přesahuje též do rozvolněných společenstev řádu *Phragmition* (Tomšovic, 1988). Zdá se, že *N. alba* toleruje kyselejší vodu než *Nuphar* – pH 5–8,5 (Heslop-Harrison, 1955), často však rostou společně, hojněji ve skupinách obyčejně vzdálenějších od břehu (Podubský & Štědranský, 1954). Stulík spíše preferuje živinami bohatší stanoviště a snáší větší pohyb vody (Heslop-Harrison, 1955).

CELKOVÉ ROZŠÍŘENÍ (Viz **Příloha 4b: Mapa**) *N. alba* má široký latitudinální rozsah, vyskytuje se v celé Evropě kromě nejsevernější (ve Skandinávii pouze na jihu a západě; v s. a stř. části bývalého evropského SSSR vzácný nebo chybí). Zasahuje také do sz. Afriky, Sýrie, Palestiny, Zakavkazska, s. Íránu a Kašmíru (Conard, 1905; Tomšovic, 1988). Jižní hranice *N. alba* je v Alžíru, vyskytuje se na mnoha středomořských ostrovech. Severní hranice ve Skandinávii je 61° s. š. (Vaněk & Stodola, 1987). Hranice jsou v Kašmíru a Himálaji.

ROZŠÍŘENÍ V ČR. (Viz **Příloha 3: Mapa**) Původní je nepochybně v úvalech j. a stř. Moravy a v Polabí, jinde může částečně souviset s dřívějším vysazením. V Čechách je výskyt leknínu bílého řídký, daleko vzácnější než leknín bělostný. Výškově se soustřeďuje do stupně planárního, méně častý je ve stupni kolinním (max. Jindřichův Hradec, 480 m) (Tomšovic, 1988).

„*N. alba* je *Nymphaea par excellence* klasické botaniky.“ (Conard, 1905)

3.1.2 *Nymphaea candida* J. PRESL – leknín bělostný

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

MORFOLOGIE. Původní Preslův popis není zcela jednoznačný a zapadl, ale identita je zřejmá z jeho vyobrazení (Conard, 1905; Tomšovic, 1988). *N. candida* v podstatě představuje výsek variability *N. alba* ve většině znaků. (Viz **Příloha 2, Tabulka znaků**)

Bliznové paprsky končí obvykle 3 zuby na bázi každé čnělky (Conard, 1905). Plod si zanechává 4hrannou bázi původního květu (Tomšovic, 1988).

CYTOLOGIE. $2n=112$ (Tomšovic, 1988). Jedná se nejspíše o **hexaploida** (Volkova et al., in prep.).

VARIABILITA. Druh velmi proměnlivý, především ve tvaru a barvě plodu a v barvě bliznového terče. Vyskytují se různé kombinace těchto znaků, které nemají taxonomickou hodnotu, obdobně jako u *N. alba*. Často uváděné neúplné otevření květů může představovat pouze stadium v jejich vývinu (Tomšovic, 1988). Široká proměnlivost znaků měla za následek množství synonymních označení (Conard, 1905).

EKOLOGIE A CENOLOGIE. L. bělostný roste hojně ve stojatých vodách mezo- až oligotrofních, větš. s vrstvou humózního nebo rašelinného bahna, zřídka na minerálním

podkladu. Je **citlivý k eutrofizaci a znečištění**. Roste nejčastěji v hloubce 70 – 170 cm. Odlišný je výskyt v Polábí v mrtvých ramenech převážně eutrofního charakteru a zcela atypický výskyt ve stř. Labi (Tomšovic, 1988). Doba kvetení je stejná jako u leknínu bílého, tj od června do srpna (Tomšovic, 1988) až do září (Podubský & Štědranský, 1954).

VYUŽITÍ. *Nymphaea candida* obsahuje fenolické složky s výrazně antioxidačním účinkem. Byl také prokázán významný účinek hepatoprotektivní (Zhao et al., 2009) a neuroprotektivní (Liu et al., 2007).

CELKOVÉ ROZŠÍŘENÍ (Viz Příloha 4a: Mapa): Severní a stř. Evropa (k západu do sz. NSR a snad i Holandska a Belgie, k jihu do Bavorska, Salcburska, Dol. Rakouska, na z. a s. Moravu a po Karpaty), v. Evropa (kromě krajního severu, na jih do s. Ukrajiny), Zakavkazsko, Kazachstán a jz. Sibiř po Bajkal. (Tomšovic, 1988). Conard (1905) a Heslop-Harrison (1955) udávají výskyt až do Himálaje. Západní hranici představuje ± linie Rýnu. V západním Německu se *N. candida* vyskytuje pouze v horách (Meusel, 1965).

N. alba a *N. candida* mají ve Skandinávii téměř vikariantní distribuci (viz mapa Muntendam, 1996), *N. candida* obecně zasahuje severněji (66°s. š.), ale izolované lokality *N. alba* se vyskytují ještě dál (69°s. š.). Ve Skandinávii dosahuje vyšších poloh než v Británii (přes 500 m), max. 1660 m ve Švýcarsku a 1500 m v Kašmíru (Conard 1905).

ROZŠÍŘENÍ V ČR. (Viz Příloha 5, Mapa) V celém území kromě stř. a jv. Moravy (j. hranice areálu) převážně v mezofytiku, méně v termofytiku, v oreofytiku ojediněle a okrajově. Těžiště výskytu je v suprakolinním a submontánním stupni (nejhojněji rybníční pánve), v planárním a kolinním stupni řídkěji, hlavně v údolích velkých řek (min.: Kly u Mělníka, 159 m; max.: Plánička u Hořic na Šumavě, 750 m) (Tomšovic, 1988).

3.1.3 Determinace druhů

Fenotypově stojí *N. candida* mezi *N. alba* a *N. tetragona*, ale často dochází k záměnám, především při užití pouze jednoho určovacího znaku, a to kvůli vysoké morfologické plasticitě evropských leknínů, spíše než kvůli nedostatečné diferenciaci.

Ačkoli se dříve myslelo, že velikost rostlinných orgánů silně závisí na hydrologických a edafických podmínkách (Heslop-Harrison 1955), **vzrůst** je asi ve skutečnosti dán spíše věkem rostliny (Volkova & Shipunov, 2007), je tedy vhodné jej při určování zcela odfiltrovat.

N. alba i *N. candida* byly intenzivně studovány po morfologické stránce mnoha autory (např. Conard. 1905; Heslop-Harrison, 1955; Volkova et al., in prep.) a zjištěná variabilita popsána i nedávnou detailní studií čerstvého materiálu (Volkova & Shipunov, 2007). Za

pomoci geometrické morfometriky s vyloučením vlivu absolutní velikosti orgánů se ukázalo, že *N. alba* a *N. candida* jsou relativně dobře separovatelné několika makromorfologickými znaky (viz Příloha 2: Tabulka znaků). Ovšem navzdory tvrzení (např. Muntendam et al., 1996; Wayda, 2000), že lze druhy odlišit na základě velikosti, tvaru a exinové skulptury pylových zrn, Volkova & Shipunov (2007) došli k závěru, že se **pylovými charakteristikami** významně neliší. Pylová velikost patrně do jisté míry souvisí s ploidním stupněm či počtem chromozomů, což by vysvětlovalo výskyt větších pylových zrn u *N. candida*, pozorovaný už Conardem (1905) (Muntendam et al., 1996).

J. Presl původně odlišil leknín bělostný od leknínu bílého především na základě **absence tyčinek na vrcholu semeníku** (Conard, 1905). Semeník celý pokrytý tyčinkami byl nalezen i u *N. alba* var. *occidentalis* (Heslop-Harrison, 1955). Rozlišování druhů však staví od té doby různí autoři na nejrůznějších znacích. Například **poměr šířky nitek a šířky prašníků nejvnitřnějších tyčinek**, který jako určovací znak prosazoval Muntendam (1996), je podle Waydy (2000) zavádějící a místo toho upřednostňuje **vzhled listových žilek** (také např. Heslop-Harrison, 1955 a Kaplan, 2002) a zároveň prosazuje určování čerstvého materiálu. Zajímavý je nálezh, že květy *N. candida* jsou méně barevné pod UV světlem, což je činí méně přitažlivé pro opylovače, především včely a pestřenky (Muntendam et al., 1996).

Mnoho důležitých znaků se bohužel mění nebo mizí i po pečlivém herbářování. Mezidruhové rozdíly v **tvaru čepelí** se herbářováním zmenšují (Volkova 2008). *N. alba* a *N. candida* se liší tvarem čerstvých listů, ale tyto rozdíly nejsou jednoznačné a nedoporučují se jako diagnostický znak (Volkova & Shipunov, 2007). Také **barva** je natolik variabilní veličinou, že je lépe od ní při určování abstrahovat (Wayda, 2000).

Vzhledem k míře překryvu morfologických znaků je tedy primárně důležitá spíše jejich **kombinace**. Pokud se najednou vyskytuje odchylných či nevyhraněných znaků více, jde patrně o hybrida (Tomšovic, 1988). I při zřetelném vymezení obou druhů komplexem znaků v některých pravech se někdy vyskytne jednotlivý znak, příklánějící se k druhému druhu. Příčinu lze podle Tomšovice (1988) spatřovat v introgresi.

Nyní, když máme některé novější informace o reprodukční biologii (Wirsema, 1996) i rostoucí poznatky z karyologie (např. Hossain, 2009), můžeme očekávat vysvětlení variability druhů.

3.1.4 Původ *N. candida* a vztahy mezi evropskými zástupci

VZNIK *N. CANDIDA*. *N. candida* vnikla jako **allopolyploid** mezi spíše evropskou *N. alba* a převážně Asijskou *N. tetragona*. Vznik se udal polytopicky¹³, alespoň dvakrát v překryvových zónách rodičovských druhů (donorem chloroplastů, neboli mateřským druhem je převážně *N. alba*). Alespoň jednou se to stalo ve východní části areálu obou taxonů, odkud pak *N. candida* expandovala daleko na západ, a podruhé na severozápadě, odkud se zatím nešíří.

ÚZEMNÍ EXPANZE. Po pleistocénních chladných a suchých periodách bylo šíření leknínů rychlá takřka stejně jako ústup ledovce, což tehdy umožnila větší kontinuita vodních biotopů napříč Eurasií (Volkova et al., in prep.). Vznik *N. candida* je datován nejpozději do posledního severoevropského glaciálu (Volkova et al., in prep.). Šíření na jih proběhlo v souvislosti s růstem ledovce, zatímco *N. alba* tou dobou přežívala v jižnějších oblastech a pak se opět rozšířila k severu. Dokládá to nahodilejší výskyt *N. candida* směrem k jihu (Conard, 1905; Muntendam et al., 1996).

CHROMOZOMOVÁ ČÍSLA. Pozorovaná variabilita počtu chromozomů v Rusku (48, 52, 56, 64, 84, 96, 105, 108, 112 a 160 u *N. alba*; 112 a 160 u *N. candida*) naznačuje, že chromozomové číslo podrodu *Nymphaea* není druhově specifickým znakem, a spíše odráží komplexitu populační struktury a historii rodu; např. ve východní Evropě nejspíše všechny tři druhy volně hybridizují¹⁴ (Volkova et al., in prep.). I když, jak už bylo uvedeno dříve, počty chromozomů v literatuře mohou být nepřesné kvůli velkému počtu a nepatrné velikosti chromozomů (Heslop-Harrison, 1955) a záměnám druhů (vč. introdukovaných a zplaňujících).

VELIKOST GENOMU. Z těchto důvodů je cenný poznatek, že **evropské taxony jsou navzájem jasně odděleny obsahem jaderné DNA**, viz *Příloha 8*, (Volkova et al., in prep.). Relativní obsah DNA *N. alba* je oproti *N. tetragona* více než dvojnásobný, její příspěvek v genomu *N. candida* je proto znatelnější. Skutečnost, že jsou *N. candida* a *N. alba* hůře odlišitelné, může být také důsledkem vyššího **genového toku** mezi hexaploidní *N. candida* a tetraploidní *N. alba*. Reprodukčně izolační bariéry vzniklé na diploidní úrovni (*N. tetragona*) se polyploidizací hroutí běžně (Briggs & Walters, 2001) a vznikají obtížně interpretovatelné polyploidní komplexy.

¹³ Polytopický (tj. na více místech) původ polyploidů je běžný, dobře pozorovatelný s pomocí molekulárních metod, jako např. RFLP (Briggs & Walters, 2001).

¹⁴ Polyploidní speciace nemusí vyústit v okamžitou a úplnou reprodukční izolaci, jak se často uvádělo. Postpolyploidizační hybridizace a introgrese jsou běžné a mohou významně přispívat ke genetické variabilitě nově vzniklého polyploida (Slotte et al., 2008).

Vysoká genetická variabilita v populacích leknínů ukazuje na význam cizosprášení, i když vodní rostliny se běžně množí spíše vegetativně, což bývá ostatně typické i pro polyploidní taxony (Briggs & Walters, 2001). Tato evoluční dynamika je tedy výsledkem kombinace pohlavního a nepohlavního rozmnožování (Volkova et al., in prep.).

3.1.5 Hybridizace *N. alba* a *N. candida*

Vznik přírodních lze očekávat, pokud se příbuzné druhy leknínů vyskytují na jedné lokalitě (Conard, 1905). Druhy, které mají intermediární morfologii mezi středem (typická *N. candida*) kontinua od *N. alba* po *N. tetragona* a jeho okrajovým morfotypem, mohou být interpretovány jako hybridy *N. alba* x *N. candida* = *N. x borealis* Camus (leknín severní)¹⁵ (Volkova & Shipunov, 2007). Ovšem jak se v praxi ukazuje, výskyt takových jedinců je spíše vzácností, nebo se týká pouze jednotlivých znaků, jako je např. společná přítomnost páskovitých a rozšířených tyčinek v témž květu udávaná u kříženců (Tomšovic, 1988).

Střední formy mezi *N. alba* a *N. candida* byly zaznamenány např. v Pomořansku, Brandenbudgu a ve východním Prusku (Conard 1905). Citlivé metody nepřímé analýzy DNA (AFLP fingerprinting) doložily hybridizaci na několika lokalitách v Německu a Švédsku (Werner & Hellwig, 2006).

U nás je kříženec hlášen dosti řídko z oblasti výskytu *N. candida*, někdy možná v souvislosti s introdukcí *N. alba*, a to v Třeboňské pánvi, Šluknovské pahorkatině (Tomšovic, 1988) a na rybníku Vajgar u Jinřichova Hradce (Podubský & Štědranský, 1954).

Podle různých sledování má kříženec *N. alba* x *candida* výrazně oslabenou produkci semen (Conard, 1905), či obecně nižší plodnost (Heslop-Harrison, 1955). Velikost hybridních semen byla shledána jako značně variabilní a ke klíčení docházelo pouze u semen střední a větší velikosti (Conard, 1905). Volkova & Shipunov (2007) přezkoumali pylovou fertilitu rostlin s neobvyklými kombinacemi morfologických znaků, a shledali pyl téměř vždy vysoce fertilní. Informace o experimentálním křížení a zpětném křížení druhů nejsou známy.

Kříženec původních druhů je sice udáván jako celkově intermediární, při obtížném rozlišování obou rodičovských druhů je jeho rozpoznání obtížné, a komplikuje tak situaci. Je možné, že hybridy vykazují jiné ekologické nároky než rodičovské druhy (Briggs & Walters, 2001).

¹⁵ Je též znám kříženec *N. tetragona* x *N. candida* = *N. x sundvikii* (Volkova & Shipunov, 2007). Conard (1905) zmiňuje také křížence *N. tetragona* x *alba* = *N. pygmaea alba* Marl., *N. alba* x *candida* = *N. alba candidissima* Hort (velmi robustní bílá volně kvetoucí, avšak sterilní varieta).

Přírodní hybridy byly dokumentovány také v Severní Americe (Hellquist et al., 2003). Běžně zde v přírodě hybridizuje *N. mexicana* a *N. odorata*, jinde pak *N. odorata* a *N. tuberosa* (vznik fertálních populací kříženců) a území největšího zájmu leží na překryvu nativních trpasličích druhů (popsal Wiersema, 1996) *N. leibergii* a *N. tetragona*. Jejich kříženci v Manitobě zřejmě plodní nejsou, zrovna tak *N. tetragona* x *N. tuberosa* (bez tvorby semen). Polytopicky vznikají kříženci *N. leibergii* x *N. odorata*. Ti dali dokonce v případě tří populací vznik fertálních populacím s většími semeny než mají rodičovské druhy. Díky vysoké fertilitě a morfologické odlišnosti se nyní jedná o jejich zařazení na druhovou úroveň (Hellquist et al., 2003) a kolektiv Borsch, Hellquist, Wiersema a jiní dále pracuje na popisu fertálních hybridních druhů Severní Ameriky (pers. com.).

Odhalení těchto vztahů v americké větvi potvrzuje Conardovu domněnku, že kříženci mohou vznikat kdekoli, kde se dva druhy překrývají. Většina hybridů byla sterilní, některé skupiny však produkují normální pyl a semena (Hellquist et al., 2003).

3.2 Fytocenologie

Vodní rostliny s plovoucími listy jsou v Evropě typickou složkou litorální vegetace stojatých vod. Jak leknín bílý, tak leknín bělostný rostou ve stojatých nebo mírně tekoucích vodách, jako jsou mrtvá říční ramena s bahnitým dnem, vodní příkopy, rašelinná jezírka, tůňe, břehy menších toků a rybníky (Podubský & Štědronský, 1954; Tomšovic, 1988). Preferují nezastíněnou hladinu a polohy chráněné před vlnobitím.

Oba druhy mají společný výskyt ve splečenstvech svazu *Nymphaeion albae*, s největším rozvojem ve společenstvu *Potamogetono natantis-Nymphaeetum candidae* a pronikají i do rozvolněných společenstev svazu *Phragmition* (Tomšovic, 1988). Asociace *Nymphaeetum candidae* je nejvíce zastoupena v mezotrofních vodách, zatímco *Nupharo-Nymphaeetum albae* se vyskytuje v širokém spektru většiny typů habitatů. Obě asociace indikují odlišné typy litorálních habitatů (Szańkowski & Kłosowski, 1999).

3.3 Ekologie

N. alba s. l. (vč. *N. candida*) je infra-oligohalobní, maximální salinita kterou toleruje je 1–1½ ‰. Obvyklá je ve vodě 0,5–3m hluboké, v bahně, usazeninách či rašelině. Obsah organických látek v substrátu se pohybuje kolem 25,7%. Důležité je zastoupení nitrátů (Conard 1905). *Nymphaea candida* a jí formované fytocenózy jsou odkázány především na **mezotrofní měkké vody a na užší rozpětí většiny vodních komponent a substrátových**

vlastností. *Nymphaea alba* a jí formované fytoocenózy se vyznačují širokou ekologickou amplitudou a výskytem v eutrofnějších vodách (Wayda, 2000). *N. alba* se nachází někdy ve vodách kyselých, zatímco *N. candida* nikdy (Muntendam, 1996). V Polsku se druhy natolik liší ekologickými preferencemi, že se téměř nikde nevyskytují spolu (Wayda, 2000).

V chráněných klidných mírně eutrofních vodách dosahují jedinci značné velikosti a mají i více než 12 květů za sezónu, jelikož období kvetení je dlouhé – od května do října. V kyselejší oligotrofní vodě jsou květy a listy menší a méně početné, přesto produkce semen zůstává zachována. Také deficit dusíku má na svědomí malý vzrůst. Značný pohyb vody či poničení vodním ptactvem zabraňuje kvetení. V malých komunitách jsou listy často vynořené a stočené (Heslop-Harrison, 1955).

U pěstovaných rostlin bylo doloženo stáří minimálně 50 let, avšak rozrůstání kolonií volně rostoucích leknínů naznačuje stáří mnohem větší. Každoroční přírůstky jsou dány souhrnem mnoha činitelů, jako jsou vlastnosti druhu, věk a zdravotní stav, hloubka, objem substrátu a poměr živin, fotoperioda, teplota, množství kyslíku a dalších látek ve vodě (Hříbal, 1985).

Živočichové (herbivoři a parazité) asociovaní s *N. alba* v Británii jsou převážně hmyz z řádů Homoptera, Lepidoptera, Coleoptera, Diptera, dále plži, ptáci a ryby (Heslop-Harrison, 1955).

3.4 Druhov^á ochrana

N. alba i *N. candida* jsou zákonem chráněné, silně ohrožené druhy, vedené jako C1 rostliny (Procházka, 2001), které v přírodě mizí následkem ztráty míst vhodných k růstu a jejich znečišťováním.

N. alba je u nás na ústupu, zdá se, že je mnohem vzácnější než dříve velice hojná *N. candida*. Ta však nyní také vyžaduje přísnou ochranu. V přírodě bývá vytlačována stulíkem žlutým (Hříbal, 1985; Hejný, 2000).

Přímé ohrožení habitatů spočívá například v narušení vodního režimu a následném vyschnutí lokality, eutrofizaci, úpravách říčních niv, regulaci toků, nevhodném rybničním hospodaření, vyhrnování a používání herbicidů na vodní rostliny. Optimální management v těchto habitatech je bezzásahový, únosná je citlivá revitalizace říčních systémů (zejména obnova poříčních tůní). U rybníků je důležitá kontrola zarybnovacích plánů a výlovu, činnost husté kapří obsádky je pro rostliny silně omezujícím faktorem (Háková et al., 2003).

Přirozená stanoviště leknínů jsou v posledních desetiletích vystavena mnohým negativním vlivům. Udávaná rozšíření byla zpracovávána často na základě herbářových dokladů, popř.

starších terénních výzkumů a na mnohých takových lokalitách se v současnosti lekníny již nevyskytují (Tomšovic, 1988 + vlastní pozorování).

V zahradních nádržích se pěstují kromě obou domácích druhů i další bělokvěté zimovzdorné lekníny (*Nymphaea tetragona* GEORGI, *N. odorata* AITON a *N. tuberosa* PAYNE). Jedná se o hybridogenní kultivary většinou neznámého rodičovského původu (Tomšovic, 1988). Jelikož dochází k introdukci okrasných leknínů o které nejsou záznamy do umělých i přirozených vodních stanovišť, výskyt původních druhů je o to méně vyzpytatelný.

Za zmínku stojí, že na rozdíl od situace v České Republice je *N. candida* v Polsku vzácná, vyskytuje se pouze v severovýchodní části Polska, zatímco *N. alba* je na celém území běžná. Ovšem i zde druhy pomalu mizí v důsledku lidských aktivit a zvyšující se eutrofizace vod. Je důležité najít řešení k lepší ochraně druhů (Wayda, 2000).

4 Navazující diplomová práce: nezodpovězené otázky

4.1 Cíle

Diplomová práce se pokusí zodpovědět alespoň některé okruhy otázek:

- Jaká je morfologická diference *N. alba* a *N. candida* v podmínkách střední Evropy?
- Existují znaky, které lze použít jako univerzální markery pro determinaci taxonů v terénu a v herbářových položkách?
- Jaká je variabilita ve stupni ploidie a obsahu jaderné DNA obou taxonů? Lze tento marker použít k jejich snadné determinaci?
- Jak často se vyskytují hybridní typy a jak jsou morfologicky rozeznatelní od rodičovských druhů? Vyskytují se zpětní kříženci?
- Jaká je reálná distribuce původních druhů a frekvence kříženců a zplanělých typů v České republice, resp. v regionu střední Evropy?
- Lze odlišit nepůvodní typy od původních velikostí genomu a jak častá je introgrese genů do původních druhů?
- Odráží genetická variabilita populací reprodukční způsoby?
- Je možné aplikovat výsledky do účelnější ochrany jednotlivých taxonů (např. vytipováním populací určených k primární ochraně)?

4.2 Metodické přístupy

Hlavní metodický přístup práce zde představuje **průtoková cytometrie**, umožňující získat v krátkém čase velké množství kvalitních výsledků. Průtoková cytometrie našla široké uplatnění i v systematice a ekologii rostlin hlavně díky:

- rychlosti - možnost analyzovat desítky vzorků v jednom dni a sledovat tak variabilitu rozsáhlého souboru materiálu;
- nedestruktivnosti – potřebné je pouze velmi malé množství rostlinných pletiv, což otevírá jedinečnou možnost studovat ohrožené taxony bez nebezpečí poškození jejich populací;
- přesnosti – detekovatelné jsou již několikaprocentní rozdíly v množství DNA způsobené např. aneuploidii nebo mezidruhovou hybridizací (v konkrétním případě by velmi pravděpodobně bylo možné odlišit i zpětné křížence);
- nezávislosti na mitoticky aktivních buňkách – výhodné u skupin, jejichž meristémy vykazují nízkou dělivou aktivitu;
- možnosti odhalení směsných vzorků – vhodně využitelné při rychlém screeningu populační struktury, kdy lze analyzovat větší počet jedinců současně (Doležel & Bartoš, 2005).

Morfologická diferenciace *N. alba* a *N. candida* bude studována pomocí **mnohorozměrných statistických metod**. Díky vymezení taxonů (na základě ploidní úrovně a velikosti genomu) odpadají problémy *s a-priori* stanovením operačních jednotek nutných např. pro diskriminační analýzy (Klecka, 1980). Mnohorozměrné statistické techniky tak představují vhodný nástroj pro kritické zhodnocení morfologické variability a výběr druhově-specifických charakteristik (eliminují subjektivní pohled taxonomů), poskytují robustní informace o proměnlivosti jedinců či populací a často dovolují odlišení i zdánlivě nediferencovaných typů (Marhold & Suda, 2002). Měření budou znaky jak na vegetativních (listy), tak i na generativních částech rostlin (květy).

Pro identifikaci druhově-specifických markerů, stanovení míry genového toku nebo zjištění příbuzenských vztahů lze velice výhodně použít postupy, které detekují polymorfismus na úrovni celého genomu – zejména **AFLP** (Vos et al. 1995). **Analýza chloroplastové DNA**, jež je nerekombinantní a u většiny krytosemenných rostlin přenášena pouze po mateřské linii (Harris & Ingram, 1991), pak může sloužit k odhalení směru

hybridizace nebo – u polyploidů – ke stanovení četnosti jejich vzniku a odlišení jednotlivých vývojových linií.

4.3 Praktická část

V rámci pilotní studie byl proveden screening velikosti genomu na 7 lokalitách, kde byla v minulosti popsána *N. alba*:

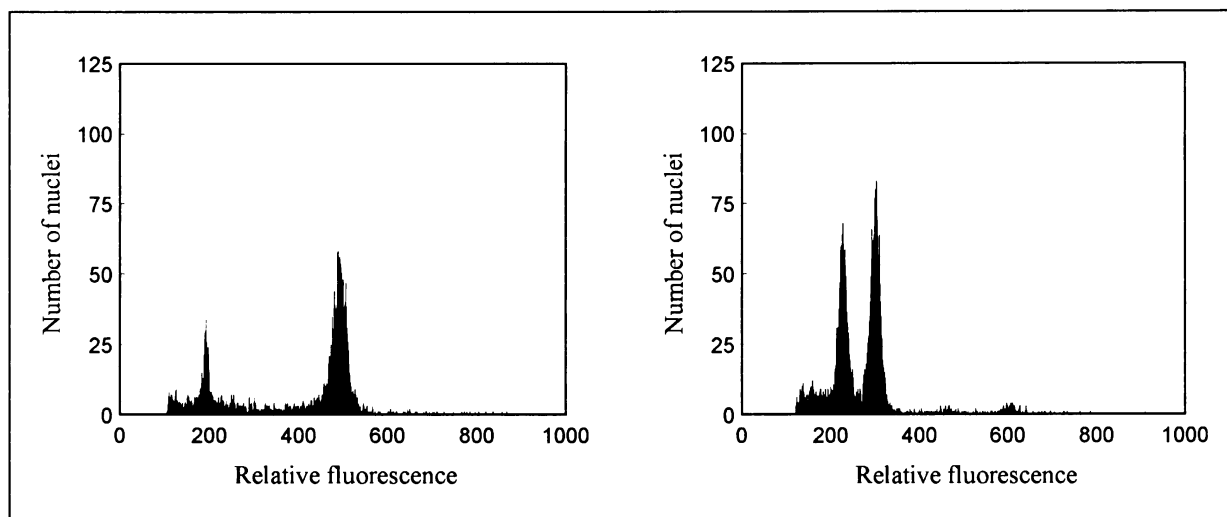
1. 11b. Poděbradské Polabí; /17/ Libický luh: /105/ louka U Starého Labe /u Vel.Oseka/; 5957a; 0 mnm; / /1991; ; Str:122; ; Rydlo J. (1993).
2. 11b. Poděbradské Polabí; CHPV Tonice - Bezedná: Lokalita se nachází na P břehu Labe 1,7km ZJZ až 2,8km JZ od nádraží ve Vel.Oseku, v polích mezi Veltrubským a Libickým luhem, asi 13ha rozloh., zahrnuje tůň Bezedná, Okrouhlík a Tonice; 5957a; 190 mnm; / /1989; ; Str:108; ; Rydlo J. (1991).
3. 11b. Poděbradské Polabí; Velký Osek: rybník 1 km JZ od nádraží. Šumberová K., Řepka R., Husák Š. et Čáp J. (1995).
4. 18a. Dyjsko-svratecký úval; /548/ Rakvice: jezírko Kutnar, 3km JZ; 7166d; 0 mnm; / /1987; Grulich V.; Str:61; ; Danihelka J., Grulich V., Šumberová K., Řepka R., Husák Š. et Čáp J. (1995).
5. 18a. Dyjsko-svratecký úval; /549/ Břeclav: jezírko Bruksa, 1km SZ náměstí; 7267a; 0 mnm; / /1994; Grulich 1987, Husák; Str:61; ; Danihelka J., Grulich V., Šumberová K., Řepka R., Husák Š. et Čáp J. (1995).
6. 78. Bílé Karpaty lesní; 7. Rybník nad prvním rybníkem (lok.č.6) nad koupalištěm nad pivovarem v Brumově (betonové t.č.vypuštěné); 6974a; 0 mnm; / /1995; ; Str:88; Elsnerová a spol.1982; Rydlo J. (2000).
7. 12. Dolní Pojizeří; 388. Lhotka u Mělníka, vodní nádrže a louky při silnici na JV okraji obce;*S Kirschner.; 5653a; 0 mnm; 10/ 7/1993; Kirschner.; Str:26; ; Hrouda L., Mandák B. et Hadinec J. (1996).

ANALÝZA. Celkem bylo analyzováno 42 rostlin pomocí průtokové cytometrie, dle standardní metodiky (Otto, 1990, Doležel et al., 2007) s fluorescenčním barvivem propidium jodid na průtokovém cytometru Partec CyFlow. Jako interní standard byla použita soja (*Glycine max* cv. Polanka, 2C = 2.50 pg), kvůli blízké velikosti genomu k analyzovaným rostlinám.

VÝSLEDKY. Na žádné z lokalit se nevyskytovaly smíšené populace. Cytometricky byly zjištěny tři typy populací; rostliny na lokalitě č. 3 měly vonné narůžovělé květy a i cytometricky se ukázaly jako hůře zařaditelné; jedná se o zplanělý či vysazený kultivar.



Grafický výstup z průtokového cytometru rostlin z lokality č. 1 (vlevo). Pík vzorku je v 2,575 násobku standardu. CV *Glycine* (první pík) = 3,15; CV vzorku (druhý pík) = 3,22. Vpravo grafický výstup z průtokového cytometru rostlin na lokalitě č. 6. Pík vzorku je v 1,318 násobku standardu. CV *Glycine* (první pík) = 3,79; CV vzorku (druhý pík) = 3,19.



Tabulka – výsledky měření velikosti jaderného genomu na sedmi lokalitách. (CV – koeficient variance)

populace	poměr ke standardu	Průměr CV	obsah jaderné DNA [pg]
1	2,546	2,60	6,364
2	1,799	3,00	4,499
3	1,368	2,38	3,42
4	1,766	3,12	4,416
5	1,755	3,31	4,388
6	1,317	3,74	3,293
7	1,764	3,02	4,41
směrodatná odchylka	0,402		1,004

Velikost genomu je nejvyšší v populaci č. 1, nejmenší v populaci č. 6. Ostatní rostliny (kromě č. 3) se blíží intermediární hodnotě mezi populacemi č. 1 a 6. Rozdíly v obsahu jaderné DNA bude však nutné v rámci diplomové práce ověřit klasickou karyologií, tj. spočtením různých cytotypů pomocí počítání chromozomů .

Výsledky jsou očekávány především v souvislosti s morfometrickým zpracováním současně získávaných dat, které by mělo vyústit v jejich rozdělení do jednotlivých taxonů, odpovídajících naměřeným cytotypům.

ZÁVĚRY. Podle nasbíraných dat nebyly doposud vyvozeny konkrétní závěry o výskytu jednotlivých druhů či kříženců na lokalitách. Zásadní a do budoucna podnětný je fakt, že populace vykazují očekávané rozdíly v obsahu jaderné DNA i na našem území.

Podle předpokladu, že se výskyt druhů u nás mění, především ve smyslu úbytku populací, na mnoha navštívených lokalitách s dříve hlášeným výskytem nebyla v současnosti po leknínech známka, zatímco velmi hojný je v tomto typu prostředí příbuzný rod stulík (*Nuphar lutea*).

5 Použitá literatura

- Ansari R., Jeeja G., Jayalakshmi S. K. (2005): Pollen morphology of *Nymphaea* Linn. Journal of Palynology, 41.
- Arber A. R. (1920): Water plants; a study of aquatic angiosperms. Cambridge University Press. London.
- Bertol E., Fineschi V., Karch S. B., Mari F. & Riezzo I. (2004): *Nymphaea* cults in ancient Egypt and the New World: a lesson in empirical pharmacology. The Royal Society of Medicine, 97: 84–85.
- Bodt S. D., Maere S., de Peer Y. V. (2005): Genome duplication and the origin of angiosperms. Trends in Ecology & Evolution, 20: 591-597.
- Borsch T., Hilu K. W., Wiersema J. H., Löhne C., Barthlott W. & Wilde V. (2007): Phylogeny of *Nymphaea* (Nymphaeaceae): Evidence from Substitutions and Microstructural Changes in the Chloroplast *trnT-trnF* Region. International Journal of Plant Sciences, 168(5):639–671.
- Borsch T., Hilu K., Wiersema J. H., Neihaus K., Hellquist C. & Wilde V. et al. (2002): Water-Lilies (*Nymphaea*) in Northern Hemisphere: What Do Dna, Morphology, and Fossils Tell Us About Their Origin, Migration and Diversification? In: Abstracts of Evolutionary Biology Meeting at Marsielle.
- Borsch T., Löhne C. & Wiersema J. (2008): Phylogeny and evolutionary patterns in Nymphaeales: integrating genes, genomes and morphology. Taxon 57: 1052-4E(-1047).
- Briggs D. & Walters S. M. (2001): Proměnlivost a evoluce rostlin. Olomouc.
- Britten, J. (1888): The nomenclature of *Nymphaea*, &c. Journal of Botany (London), 26: 6-11.
- Carpenter K. J. (2006): Specialized structures in the leaf epidermis of basal angiosperms: morphology, distribution, and homology. American Journal of Botany, 93: 665-681.
- Collins B. S., Sharitz R. R. & Coughlin D. P. (2005): Elemental composition of native wetland plants in constructed mesocosm treatment wetlands. Bioresource technology, 96(8): 937-48.
- Conard H. S. (1905): The waterlilies: a monograph of the genus *Nymphaea*. Carnegie institution of Washington.
- Cornet B., (2002): When Did Angiosperms First Evolve? [online] poslední aktualizace 10. 10. 2008 [cit. 2009-06-15]. Dostupné z WWW: <http://www.unifiedworlds.com/cornet/Why02/why.htm> .
- Doležel J., Bartoš J. (2005): Plant DNA Flow Cytometry and Estimation of Nuclear Genome Size. Annals of Botany, 95: 99-110.
- Dostál J. (1958): Klíč k úplné květeně ČSR. ČSAV, Praha.
- Emboden W. A. (1981): Transcultural use of narcotic water lilies in ancient Egyptian and Maya drug ritual. Journal of Ethnopharmacology. 3(1): 39-83.
- Emboden W. A. (1982): The mushroom and the water lily: literary and pictorial evidence for *Nymphaea* as a ritual psychotogen in Mesoamerica. Journal of Ethnopharmacology. 5(2): 139-48.
- Emboden W. A. (1989): The sacred journey in dynastic Egypt: shamanistic trance in the context of the narcotic water lily and the mandrake. Journal of Psychoactive Drugs, 21(1): 61-75.

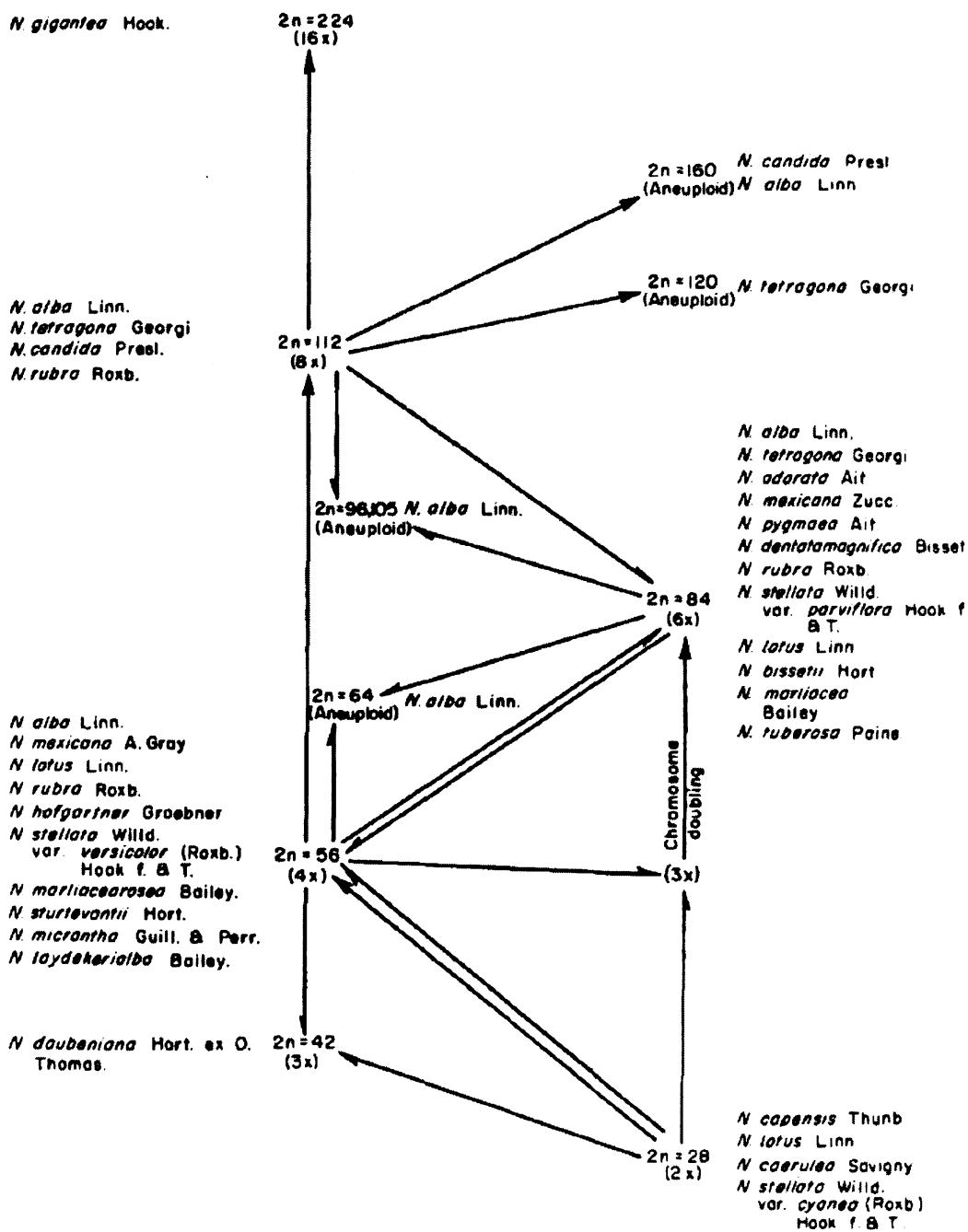
- Endress P. K., Doyle J. A. (2009): Reconstructing the ancestral angiosperm flower and its initial specializations. *American Journal of Botany*, 96: 22-66.
- Friis E. M., Pedersen K. R., Crane P. R. (2001): Fossil evidence of water lilies (Nymphaeales) in the Early Cretaceous. *Nature*, 410: 357-60.
- Gandolfo M. A., Nixon K. C. & Crepet W. L. (2004): Cretaceous flowers of Nymphaeaceae and implications for complex insect entrapment pollination mechanisms in early Angiosperms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 21: 8056-8060.
- Goremykin V. V., Hirsch-Ernst K. I., Wölf S. & Hellwig F. H. (2004): The Chloroplast Genome of *Nymphaea alba*: Whole-Genome Analyses and the Problem of Identifying the Most Basal Angiosperm. *Molecular Biology and Evolution*, 21(7):1445-1454.
- Goremykin V. V., Hellwig F. H. (2006): A new test of phylogenetic model fitness addresses the issue of the basal angiosperm phylogeny. *Gene*, 381: 81-91.
- Gupta P. P. (1978): Cytogenetics of Aquatic Ornamentals II. Cytology of Nymphaeas. *Cytologia*, 43: 477-484.
- Gupta P. P. (1980): Cytogenetics of Aquatic Ornamentals VI. Evolutionary trends and relationships in the genus *Nymphaea* I. *Cytologia*, 45: 307-314.
- Háková A.(ed.), Sádlo J., Klauisová A., Fišer B., Pokorný J., Hofhanzl A. & Zdražil V. (2003): *Zásady péče o nelesní biotopy v rámci soustavy NATURA 2000*. Planeta XII/8, MP ČR, Praha.
- Harris S. A. & Ingram R. (1991): Chloroplast DNA and biosystematics - the effects of intraspecific diversity and plastid transmission. *Taxon* 40: 393-412.
- Hegi E. (1965): Familie Nymphaeaceae. *Illustrierte Flora von Mitteleuropa, Band III*, pp.1-29. Carl Hansen Verlag, Wien.
- Hejný S. a kol. (2000): *Rostliny vod a pobřeží*. East West Publishing Company, Praha.
- Hellquist C., B., Borsch T. & Wiersema J. H. (2003): Hardy Water-lilies (*Nymphaea*) species and their Natural Hybrids. *Water Garden Journal*, 18: 20-21.
- Heslop-Harrison, Y. (1955): *Nymphaea* L. em. Sm. (nom. conserv.). *The Journal of Ecology*, 43(2): 719-734.
- Hesse M., Zetter R. (2005): Ultrastructure and diversity of recent and fossil zona-aperturate pollen grains. *Plant Systematics and Evolution*, 255: 145-176.
- Hossain A., Kabir G., Ud-deen M. M. & Alam A. M. S. (2009): Cytological studies in *Nymphaea* species available in Bangladesh. *Journal of Bio-Science*, 15: 7-13.
- Hříbal V. (1985): *Voda v zahradě a vodní rostliny*. SZN v Praze.
- Jacobs W. L. S. & Hellquist C. B. (2006): Three new species of *Nymphaea* (Nymphaeaceae) in Australia. *Telopea*, 11(2): 155-160.
- Kaplan Z. (2002): *Nymphaea* L. In: Kubát K., Hrouda L., Chrtek J. jun., Kaplan Z., Kirschner J. & Štěpánek J. [eds.] (2002): *Klíč ke květeně České Republiky*. Academia, Praha.
- Khan N, Sultana S. (2005): Inhibition of potassium bromate-induced renal oxidative stress and hyperproliferative response by *Nymphaea alba* in Wistar rats. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 20(3): 275-83.
- Klecka W.R. (1980): *Discriminant analysis*. (Sage University Papers, Series: Quantitative applications in the social sciences, no. 19). Sage Publications, Beverly Hills and London.

- Lavid N., Barkay Z. & Tel-Or E. (2001): Accumulation of heavy metals in epidermal glands of the waterlily (Nymphaeaceae). *Planta*, 212: 313-322.
- Les D. H. & Philbrick C. T. (1993): Studies of hybridization and chromosome number variation in aquatic angiosperms: evolutionary implications. *Aquatic Botany*, 44: 181-228.
- Les D. H., Crawford D. L., Kimball R. T., Moody M. L. & Landolt E. (2003): Biogeography of Discontinuously Distributed Hydrophytes: A Molecular Appraisal of Intercontinental Disjunctions. *International journal of plant sciences*, 164(6): 917-932.
- Les D. H., Schneider E. L., Padgett D. J., Zanis M., Soltis D. E. & Soltis P. S. (1999): Phylogeny, Classification and Floral Evolution of Water Lilies (Nymphaeaceae; Nymphaeales): A Synthesis of Non-molecular, rbcL, matK, and 18S rDNA Data. *Systematic Botany*, 24(1): 28-46.
- Liu R. N., Wang W., Ding Y., Xie W. D., Ma C. & Du L.J. (2007): A new flavonol glycoside and activity of compounds from the flower of *Nymphaea candida*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 9(3-5): 333-8.
- Liu Y. L., Xu L. M., Ni X. M. & Zhao J.R. (2005): Phylogeny of the Nymphaeaceae inferred from ITS sequences. *Acta Phytotaxonomica Sinica*, 43(1): 22-30.
- Löhne C., Borsch T. & Wiersema J. H. (2007): Phylogenetic analysis of Nymphaeales using fast-evolving and noncoding chloroplast markers. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 154: 141-163.
- Löhne, C., Yoo M. J., Borsch T., Wiersema J., Wilde V., Bell Ch. D., Barthlott W., Soltis D. E. & Soltis P. S. (2008): Biogeography of Nymphaeales: extant patterns and historical events. *Taxon*, 57(4): 1123-19E(-1103).
- Marhold K. & Suda J. (2002): Statistické zpracování mnohorozměrných dat v taxonomii (Fenetické metody). Karolinum, Praha.
- Meusel H. E., Jäger E. & Weinert, E. (1965): *Vergleichende Chorologie der zentraleuropäischen Flora*, VEB Gustav Fischer Verlag, Jena.
- Moseley M. F., Schneider E. L. & Paula S. :Phylogenetic interpretations from selected floral vasculature characters in the Nymphaeaceae sensu lato. *Aquatic botany*, 44(2-3): 325-342.
- Muntendam J. B., Povel G. D. E. & van der Velde G. (1996): Morphometric patterns in the *Nymphaea alba-candida* complex. *Acta Botanica Neerlandica*, 45(3): 279-302.
- Otto F. (1990): DAPI staining of fixed cells for high-resolution flow cytometry of nuclear DNA. In: Crissman H. A. & Darzynkiewicz Z. (eds.): *Methods in Cell Biology*, 33: 105-10. Academic Press, New York.
- Podubský V. & Štědrný E. (1954): *Vodní, bažinné a pobřežní rostliny*. Státní zemědělské nakladatelství, Praha.
- Procházka F. (ed.) 2001: Červený a černý seznam cévnatých rostlin České republiky (stav v roce 2000), Příroda, Praha.
- Schneider E. L., Carlquist S., Beamer K. & Kohn A. (1995): Vessels in Nymphaeaceae: Nuphar, Nymphaea, and Ondinea. *International Journal of Plant Sciences*, 156: 857-862.
- Schneider E. L. & Chaney T. (1981): The floral biology of *Nymphaea odorata* (Nymphaeaceae). *The Southwestern Naturalist*, 26(2): 159-165.
- Slavík (1986): *Fytokartografické syntézy ČSR 1*, Průhonice.

- Slotte T., Huang H., Lascoux M. & Ceplitis A. (2008): Polyploid Speciation Did Not Confer Instant Reproductive Isolation in *Capsella* (Brassicaceae). *Molecular Biology and Evolution*, 25(7): 1472-1481.
- Soltis D. E., Bell C. D., Kim S. & Soltis P. S. (2008): Origin and early evolution of angiosperms. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1133: 3-25.
- Soltis P. S. & Soltis D. E. (2000): The role of genetic and genomic attributes in the success of polyploids. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 13: 7051-7057 .
- Szańkowski M. & Kłosowski S. (1999): Habitat conditions of nymphaeid associations in Poland. *Hydrobiologia*, 415: 177–185.
- Takhtajan, A. 1980: Outline of the classification of flowering plants (Magnoliophyta). *Botanical Review*, 46:225–359.
- Tischler G. (1950): W. Die Chromosomenzahlen der Gefässpflanzen Mitteleuropas. Junk, S'Gravenhage.
- Tomšovic P. (1988): Nymphaeaceae. In: Květena České socialistické republiky I. Academia, Praha.
- Vaněk V. & Stodola J. (1987): Vodní a vlhkomilné rostliny. Státné zemědělské nakladatelství, Praha.
- Volkova P. A., Trávníček P. & Brochmann Ch. (In prep.): Evolutionary dynamics across the discontinuous Eurasian aquatic system: vast expansion and multiple polyploid origins in white water-lilies (*Nymphaea*).
- Volkova P. A. & Shipunov A. B. :Morphological variation of *Nymphaea* (Nymphaeaceae) in European Russia. *Nordic Journal of Botany*, 5-6: 329-338.
- Volkova P. A. (2006): Changes of sizes and shape of pollen grains and leaves of *Nymphaea alba*, *N. candida* and *N. tetragona* (Nymphaeaceae) after traditional means of treatment of fresh plants. [online]. Poslední aktualizace 20. 09. 2008. Přístupné na WWW: http://herba.msu.ru/shipunov/belomor/english/2006/nym_ch.htm .
- Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., Van De Lee T., Hornes M., Frijters A., Pot J., Peleman J., Kuiper M & Zabeau M. (1995): AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 23: 4407-4414.
- Wayda M. (2000): The distribution of *Nymphaea candida* C. Presl. (Nymphaeaceae) in Poland. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 69(1): 75-78.
- Werner K. & Hellwig F. (2006): Hybridization between *Nymphaea alba* and *Nymphaea candida* investigated by AFLP fingerprinting and morphological data. In: Abstracts of 17th Symposium Biodiversity and Evolutionary Biology, Bonn, p. 227.
- Wiersema J. H. (1988): Reproductive biology of *Nymphaea* (Nymphaeaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 75(3): 795-804.
- Wiersema J. H. (1996): *Nymphaea tetragona* and *Nymphaea leibergii* (Nymphaeaceae): Two Species of Diminutive Water-Lilies in North America. *Brittonia*, 48(4): 520-53.
- Yoo M. J., Bell Ch. D., Soltis P. S. & Soltis D. E. (2005): Divergence Times and Historical Biogeography of Nymphaeales. *Systematic Botany*, 30(4) :693-704.
- Zhao J., Liu T., Ma L., Yan M., Gu Z., Huang Y., Xu F. & Zhao Y. (2009): Antioxidant and Preventive Effects of Extract from *Nymphaea candida* Flower on In vitro Immunological Liver Injury of Rat Primary Hepatocyte Cultures. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine. [online] Přístupné od 5. 2. 2009 na WWW: <http://ecam.oxfordjournals.org/cgi/content/full/nep003v1> .

6 Příloha:

1. Schéma hybridizace a změn chromozomových čísel mezi ploidními úrovněmi u druhů leknínů (*Nymphaea*) vyskytujících se v Indii; (Gupta, 1980). Šipky představují směr vývoje.

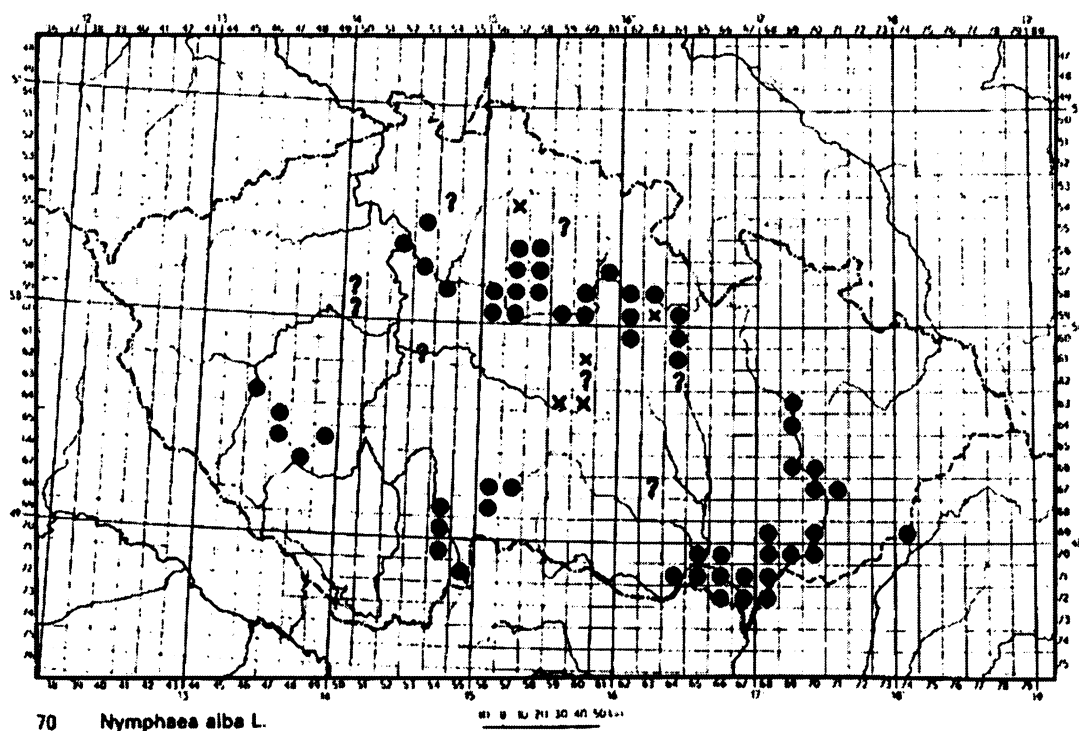


2. Tabulka znaků považovaných různými autory za diagnostické; uvedeny jsou i protichůdné názory.

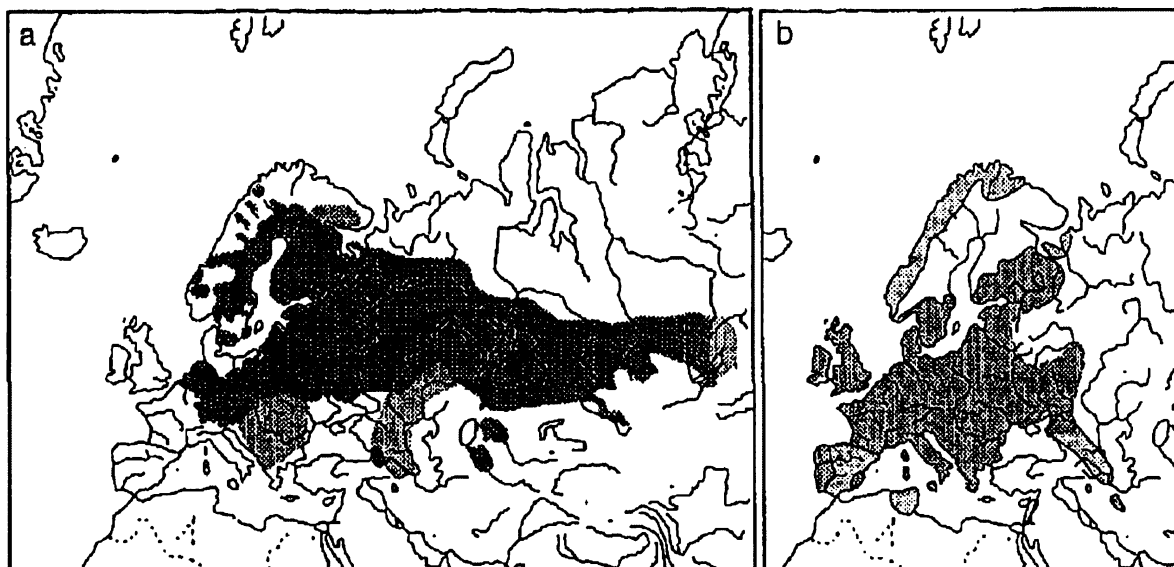
znak	<i>N. alba</i>	<i>N. candida</i>	
květní báze zespoďu	kulatá, taoblená	více hranatá, čtvercová	Heslop-Harrison, 1955; Dostál, 1958; Tomšovic, 1988; Muntendam et al., 1996; Hejný, 2000; Wayda, 2000; Kubát, 2002; Volkova & Shipunov, 2007
květy	plně otevřené	nikdy plně otevřené	Wayda, 2000
počet korunních plátků	(12) 19–25 (44)	15–20; 26(Hřibal, 1985)	Podubský & Štědrorský, 1954; Heslop-Harrison, 1955; Vaněk & Stodola, 1987
korunní plátky	stejně dlouhé jako kališní/delší	stejně dlouhé/kratší než kališní	Vaněk & Stodola, 1987; Tomšovic, 1988
nitky vnitřních tyčinek	lineární, páskovité, čárkovité	kopinaté (vprostřed rozšířené)	Dostál, 1958; Tomšovic, 1988; Hejný, 2000; Kubát, 2002; Volkova & Shipunov, 2007
gyneceum, počet bliznových paprsků a zubů	(7) 8-20 (23); bývá > 13	6-14 (20); bývá <13	Volkova & Shipunov, 2007
	(9–) 14–20 (–25)	(5–) 8–12 (–16)	Podubský & Štědrorský, 1954; Dostál, 1958; Tomšovic, 1988; Hejný, 2000; Kubát 2002
	> 15, vzácně méně	běžně < 15	Wayda, 2000
bliznový terč	téměř rovný, mírně konkávní	silně konkávní	Conard, 1905; Podubský & Štědrorský, 1954; Volkova & Shipunov, 2007
	žlutý, lesklý	žlutý, oranžový, červený (zelený u mladých květů); matný	Conard, 1905; Podubský & Štědrorský, 1954; Heslop-Harrison, 1955; Hřibal, 1985; Wayda, 2000; Volkova & Shipunov, 2007
	žlutý nebo načervenalý	červený nebo načervenalý	Tomšovic, 1988
	stejně široký/o málo užší než pestík	o 1/3 až 1/2 užší než pestík	Tomšovic, 1988
centrální bliznový výčnělek	silný, nejvýš 2x vyšší než široký; krátký, sférický	tenký, nejméně 2x tak vysoký jako široký; delší, kónický	Tomšovic, 1988; Volkova & Shipunov, 2007
průměr květu (cm)	(3) 5-15 (20)	(3) 5-11 (16)	Volkova & Shipunov, 2007
semeník	pokryt tyčinkami až k vrcholu	zužuje se směrem ke stigmatu	Conard, 1905; Podubský & Štědrorský, 1954; Dostál, 1958; Volkova & Shipunov, 2007
	není celý pokryt tyčinkami	celý pokryt tyčinkami	Muntendam et al., 1996
pestík	nejširší v horní polovině	nejširší v dolní polovině	Tomšovic, 1988; Podubský & Štědrorský, 1954
plod	kulovitý, shora stlačený/polokulovitý	kulovitý/velčítý	Conard, 1905; Vaněk & Stodola, 1987; Tomšovic, 1988

vrchol poupěte	tupý	ostrý	Tomšovic, 1988; Volkova & Shipunov, 2007
hlavní žilky listových laloků	téměř rovné	ohnuté podél celé délky	Volkova & Shipunov, 2007
	spíše rozbíhavé	výrazně sbíhavé	Heslop-Harrison, 1955; Wayda, 2000
	mírně obloukovité/téměř přímé (v první třetině vždy téměř přímé)	obloukovitě prohnuté, především v první třetině	Tomšovic, 1988; Hejný, 2000; Kubát, 2002
žilnatina	větvi se až po okraje	nesahá až po okraj listu	Kaplan, 2002
délka listové čepele (cm)	(10) 15-30 (35)	(6) 12-26 (30)	Volkova & Shipunov, 2007
	(16-) 25-31 (-38)	(13-) 20-30 (-33)	Tomšovic, 1988
šířka listové čepele (cm)	(8) 14-27 (35)	(8) 12-24 (30)	Volkova & Shipunov, 2007
	(15-) 24-27 (-30)	(11-) 17-27 (-29)	Tomšovic, 1988
listové laloky	rozestálé, tupé až uťaté a na vnitřní straně pravouhle špičaté	sblížené, někdy až překrývající se, na špičce zašpičatěle elipčité s vnitřními stranami někdy rovnoběžnými	Podubský & Štědranský, 1954; Dostál, 1958
	zaoblené; překrývají se/souběžné/rozestupují se	-	Heslop-Harrison, 1955
listový zářez	> 1/3 délky listu	-	Heslop-Harrison, 1955
listy	občas vystupují nad hladinu	nikdy nevystupují nad hladinu	Hejný, 2000; Volkova & Shipunov, 2007
velikost pylového zrna (µm)	(24) 30-32 (46)	(29) 34-36 (49)	Tomšovic, 1988
povrch exiny pylu	bakulátní	verrukátní (výběžky širší než vyšší)	Volkova & Shipunov, 2007
	gemátní	Bakulátní	Ansari, 2005
	hůlkovité výrůstky	hrbolkovité výrůstky	Tomšovic, 1988
	tlusté, řídké rozptýlené papily	papily úzké a hustší	Wayda, 2000
délka semene (mm)	2-3 (5)	3-4	Heslop-Harrison, 1955; Podubský & Štědranský, 1954; Tomšovic, 1988; Hejný, 2000; Kubát 2002
oddenek	horizontální, typ <i>Alba</i>	vertikální, typ <i>Marliac</i>	Hřibál, 1985

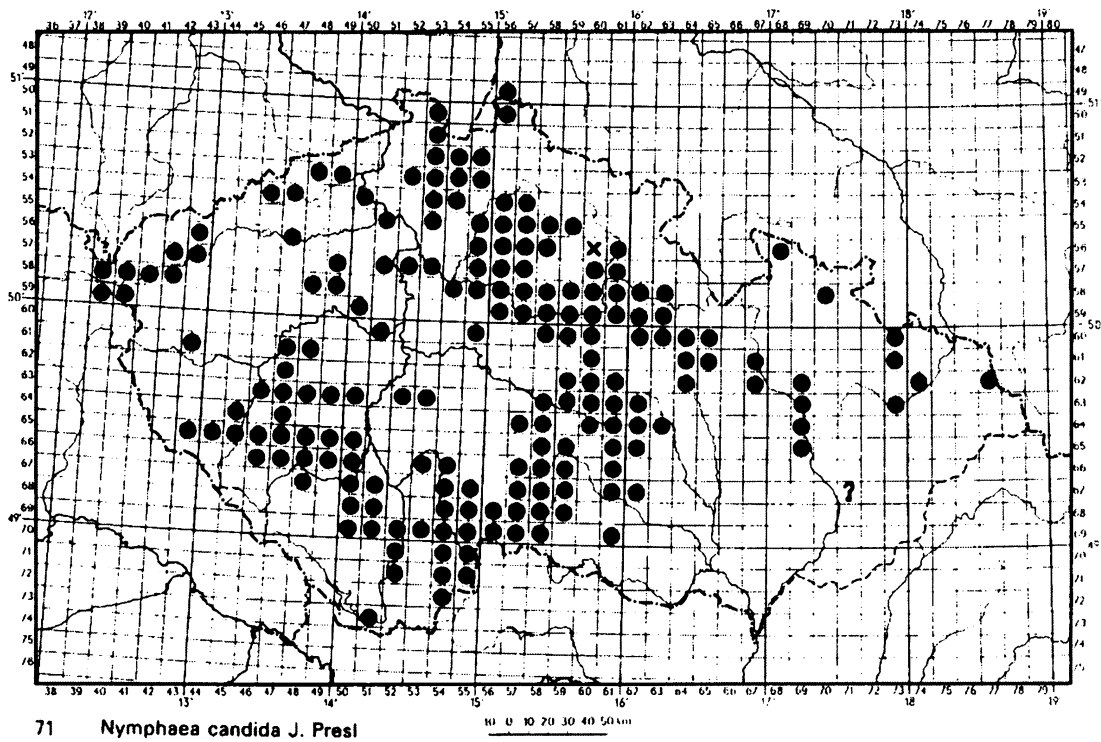
3. Mapa rozšíření *N. alba* v České republice, (Slavík, 1986).



4. Mapa, (Muntendam et al., 1996): a) rozšíření *N. candida*; b) rozšíření *N. alba*.



5. Mapa rozšíření *N. candida* v České republice. (Slavík, 1986)



8. Relativní obsah DNA (vyjádřen v relativních intenzitách fluorescence v poměru k internímu standardu) u eurasijských leknínů. (Volkova et al., in prep.) Dokládá, že velikost genomu je marker použitelný k odlišení evropských druhů.

