

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Botanika



Bc. Magdalena Hrdinová

Zhodnocení cytotypové a morfologické variability spolu s mírou hybridizace
u rodu stolítek (*Myriophyllum* L.) na území ČR a sousedních států

Evaluation of cytotype and morphological variability and hybridization rate in water-milfoils
(*Myriophyllum* L.) in the Czech Republic and adjacent territories

Diplomová práce

Vedoucí práce: Mgr. Ing. Pavel Trávníček, Ph.D.

Praha, 2015



Poděkování:

Moje poděkování patří mému školiteli Pavlu Trávníčkovi především za cenné rady v oblasti statistického zpracování dat. Velké zásluhy si jistě zaslouží i Jan Prančl, který byl se svojí radou vždy nablízku. Dále bych ráda poděkovala celému českobudějovickému týmu Biotechnologického centra ZF JČU za poskytnutá data ze Severní Ameriky a z odlehlejších částí Evropy, především Báře Kubátové a Tereze Kávové. Velký díky směřuji také Terezii Mandákové za zjištění chromozomových počtů stolístků. Děkuji rovněž všem dalším botanikům, kteří se podíleli na sběrech, z nich se nejvíce zasloužili Klára Kabátová, Jaroslav Rydlo a Zdeněk Kaplan. Za cenné rady rovněž děkuji celému osazenstvu herbářů na Katedře botaniky, jmenovitě Janě, Kristýně, Lence, Monice a Adamovi. Za neutuchající podporu až do samého konce děkuji také svému otci Pavlu Hrdinovi a příteli Janu Schafferovi.

Práce byla financována z prostředků programu *Kontakt II* MŠMT (identifikační kód LH12099).

Prohlášení:

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

V Praze, 12. srpna 2015

Magdalena Hrdinová

Obsah:

Abstrakt.....	8
Abstract:	9
1. Úvod.....	10
2. Literární přehled.....	13
2.1 Základní charakteristika rodu <i>Myriophyllum</i> L.....	13
2.1.1 Postavení v systému cévnatých rostlin.....	13
2.1.2 Morfologická charakteristika	13
2.1.3 Ekologie a růstové formy	14
2.1.5 Invazní chování	16
2.2 Reprodukční biologie.....	18
2.3 Mezidruhová hybridizace.....	20
2.4 Karyologická charakteristika rodu	22
2.5 Zástupci rodu <i>Myriophyllum</i> v České republice.....	24
2.5.1 <i>Myriophyllum spicatum</i> L. (stolístek klasnatý).....	25
2.5.2 <i>Myriophyllum verticillatum</i> L. (stolístek přeslenatý).....	28
2.5.3 <i>Myriophyllum alterniflorum</i> DC. (stolístek střídavokvětý).....	31
2.6 Další zástupci rodu <i>Myriophyllum</i> v Evropě.....	34
2.6.1 <i>Myriophyllum sibiricum</i> Kom. (stolístek severní).....	34
2.6.2 <i>Myriophyllum aquaticum</i> (Vell.) Verdc. (stolístek vodní).....	38
2.6.3 <i>Myriophyllum heterophyllum</i> Michx. (stolístek různolistý).....	41
3. Metodika	43
3.1 Sběr materiálu	43
3.2 Průtoková cytometrie	46
3.2.1 Zjišťování vnitropopulační variability	47
3.2.2 Měření absolutní velikosti genomu	47
3.2.3 Analýza dat	48
3.3 Morfometrické analýzy	49

3.3.1 Příprava a výběr herbariových položek.....	49
3.3.2 Morfometrická měření	50
3.3.3 Statistické zpracování morfometrických dat.....	55
3.4 Klíčící experiment.....	55
3.4.1 Režimy klíčení a postup zjišťování klíčivosti plůdků	56
3.4.2 Hodnocení klíčivosti plůdků	58
3.5 Ekologické nároky	58
4. Výsledky	60
4.1 Průtoková cytometrie	60
4.1.1 Cytogeografie.....	62
4.1.2 Velikost genomu	64
4.1.3 Srovnání velikosti genomu se severoamerickými populacemi	67
4.2 Morfometrické analýzy	70
4.2.1 Znaky na vegetativních orgánech.....	71
4.2.2 Znaky na generativních orgánech	94
4.3 Klíčící experiment.....	97
4.3.1 Zkušební experiment v roce 2013	97
4.3.1 Experiment v roce 2015	98
4.4 Ekologické nároky	105
4.4.1 Průhlednost vody (p1):.....	106
4.4.2 Největší hloubka, kde <i>Myriophyllum</i> rostlo (p2):	108
4.4.3 Struktura podloží (p3):	109
4.4.4 Tloušťka vrstvy bahna (p4).....	110
4.4.5 Rychlost proudění vody (p5).....	111
4.4.6 Nadmořská výška (p6)	112
4.4.7 Největší hloubka, kde <i>Myriophyllum</i> rostlo ku průhlednosti vody (p7):.....	113
4.4.8 Další vodní makrofyta (p8)	114
5. Diskuze.....	115
5.1 Rozšíření druhů v Evropě.....	115

5.2 Cytotypová variabilita a velikost genomu.....	117
5.3 Morfologická variabilita.....	120
5.4 Ekologické nároky	123
5.5 Potenciál <i>M. spicatum</i> ke generativnímu rozmnožování	125
5.5 Míra hybridizace a genetická variabilita	127
6. Závěr	128
7. Seznam citovaných zdrojů	129
7.1 Software	138
7.2 Obrázky	139
8. Přílohy.....	141

Abstrakt

Myriophyllum L. (stolístek) patří k jednomu z nejinvasivnějších rodů severní polokoule. Tři nejagresivnější druhy, z nichž jeden je v Evropě původní (*M. spicatum*), jsou rozšířeny na většině území Spojených států a dva z nich (*M. aquaticum* a *M. heterophyllum*) se stávají invazními také v několika státech Evropy. Z toho důvodu představují evropská stanoviště stolístků ideální místo, kde studovat procesy, které stojí za invazním chováním v rodu *Myriophyllum*. Předkládaná práce využívá metod průtokové cytometrie, morfometrických analýz a klíčících experimentů ke zhodnocení cytotypové a morfologické variability rodu *Myriophyllum* spolu s mírou hybridizace a potenciálu rodu množit se pohlavně.

V Evropě bylo zjištěno pět ploidních úrovní, vnitrodruhová cytotypová variabilita byla však nalezena pouze u druhu *M. sibiricum* (hexaploidní a nonaploidní) a v jedné populaci druhu *M. aquaticum* (hexaploidní a oktaploidní). Průtoková cytometrie se osvědčila v rozlišování druhů jiné ploidní úrovně a jejich potenciálních kříženců. Nicméně klíčové druhy *M. sibiricum* a *M. spicatum*, u nichž byly v nedávné době detekovány pravděpodobně ještě invazivnější kříženci, jsou oba hexaploidní. Průtoková cytometrie tudíž nemůže napomoci k rozlišení těchto morfologicky těžko uchopitelných druhů.

Ačkoliv morfometrické analýzy prokázaly, že všechny naše původní druhy jsou morfologicky dobře odlišitelné, nedokázaly určit spolehlivé znaky, ve kterých se liší jedinci *M. sibiricum* a *M. spicatum*. Vědci zabývající se touto skupinou by tudíž měli obrátit svou pozornost k optimalizaci molekulárních metod, než se spoléhat na morfologii těchto druhů jako takovou.

Porovnáním velikostí genomu severoamerických a evropských populací rodu *Myriophyllum* bylo zjištěno, že se mezi areály průkazně liší jedinci *M. spicatum*. Tento výsledek by mohl ukazovat na většinové zastoupení hybridů *M. spicatum* × *M. sibiricum* v severoamerických populacích v porovnání s původním invazním *M. spicatum*. Morfometrické analýzy nicméně ukázaly, že procento morfologicky dobře odlišených severoamerických jedinců patřících k druhu *M. spicatum* je stále poměrně vysoké, než aby bylo možno usuzovat na hybridní původ všech agresivně se chovajících jedinců v Severní Americe. Zjištěný potenciál *M. spicatum* ke generativnímu rozmnožování navíc není zanedbatelný a měl by se brát v úvahu jak v budoucích experimentech, tak i při plánování managementu ohrožených stanovišť s invazními populacemi stolístků.

Klíčová slova: *Myriophyllum*, stolístek, průtoková cytometrie, polyploidie, morfometrické analýzy, klíčící experimenty, ekologie, rozšíření.

Abstract:

Myriophyllum L. (watermilfoil) belongs to one of the most invasive genus of the Northern Hemisphere. The three most aggressive species, one of which is native to Europe (*M. spicatum*), are widespread throughout the majority of United states and two of them (*M. aquaticum* and *M. heterophyllum*) are becoming invasive in several European countries as well. Therefore, European populations of both native and invasive species, represents ideal place where to study processes which account for watermilfoils' invasiveness. In this study, flow cytometry, morphometric analyses and germination experiments were employed to evaluate cytotype and morphological variability of *Myriophyllum* along with its potential to hybridize and propagate generatively.

Five ploidy levels were detected in Europe, however no ploidy variability has been found within any species except for *M. sibiricum* (hexaploids and nonaploids) and one population of *M. aquaticum* (hexaploids and oktoploids). Flow cytometry proved to be useful tool for purposes of distinguishing species of different ploidy level and their potential hybrids. Nevertheless, the key species – *M. sibiricum* and *M. spicatum* – among which probably even more aggressive hybrids were recently identified, have similar hexaploid level. Thus flow cytometry cannot facilitate determination of these morphologically indistinct species.

Although morphometric analyses showed clear differentiation of all our native species, it did not help to reliably classify differences between *M. sibiricum* and *M. spicatum*. Hence, scientists should draw attention to optimizing various molecular methods rather than to morphology itself.

Comparing genome size of North American and European populations, a significant difference in genome size between both areas was detected in *M. spicatum*. This result could imply, that American populations are inhabited by hybrids *M. spicatum* × *M. sibiricum* rather than by pure *M. spicatum*. Yet, morphometrical analyses showed that, the percentage of morphologically distinct individuals of northamerican *M. spicatum* is still high to consider all aggressive individuals in North America of a hybrid origin. Moreover, the ascertained potential of *M. spicatum* to reproduce generatively is not negligible and it should be taken into account in designing future experiments as well as in planning management strategies for reducing invasive populations of watermilfoils.

Key words: *Myriophyllum*, watermilfoil, flow cytometry, polyploidy, morphometrical analyses, germination experiments, ecology, distribution.

1. Úvod

Rod *Myriophyllum* L. (stolístek) se nachází na všech kontinentech mimo Antarktidu, ale většina z přibližně 68 rozpoznávaných druhů má omezené geografické rozšíření (Moody & Les, 2010). Rod *Myriophyllum* zahrnuje pouze druhy se striktní vazbou na vodní prostředí (Chambers et al., 2008), čímž je spolu s rody *Proserpinaca* a *Meziella* v čeledi Haloragaceae R. Br. výjimečný (Moody & Les, 2007b). Jedná se o druhově nejbohatší rod celé čeledi a svým celosvětovým významem ostatní rody v podstatě převyšuje, neboť obsahuje jedny z nejinvasivnějších druhů vodních makrofyt severní polokoule (Global Invasive Species Database, 2015; Sheppard, Shaw & Sforza, 2006).

Zatímco eurasijský druh *Myriophyllum spicatum* L. (stolístek klasnatý) nepůsobí ve své domovině větší obtíže, na severoamerickém kontinentu je považován za vysoce „škodlivý plevel“ (*noxious weed*) v 17 státech Spojených států; v Connecticutu, Massachusetts a na Floridě je dovoz a pěstování *M. spicatum* dokonce zakázán (United States Department of Agriculture, 2015). Takovýto postoj je zajisté opodstatněný, protože *M. spicatum* vytlačuje původní vodní makrofyta a zároveň negativně ovlivňuje rozličné hospodářské a rekreační aktivity místních obyvatel (Aiken, Newroth & Wile, 1979). Velké obavy vzbuzuje zvláště jeho schopnost křížit se s holarktickým druhem *M. sibiricum* Kom. (s. severní; Moody & Les, 2002; Thum et al., 2011); zejména pak zjištění, že se hybridní jedinci v určitých případech chovají ještě agresivněji než invazní rodičovský druh (Roley & Newman, 2006). Situaci neulehčuje ani přítomnost dalších dvou invazních druhů – *M. heterophyllum* Michx. (s. různolistý) a *M. aquaticum* (Vell.) Verdc. (s. vodní), které již byly introdukovány také na území Evropy včetně států sousedících s Českou republikou (Höpflinger, 1948; Hussner et al., 2010).

Uvedené skutečnosti pokládají základy pro otázky, kterým se lze na našem území při studiu rodu *Myriophyllum* věnovat. Schopnost hybridizace, která byla detekována i u jiných severoamerických druhů (Moody & Les, 2002) zavdává důvod domnívat se, že se hybridizace může odehrávat i na našem území za účasti dalších, v Evropě původních, druhů *M. alterniflorum* DC. (s. střídavokvětý) a *M. verticillatum* (s. přeslenatý) u obou z nich byl v minulosti zaznamenán sympatrický výskyt s druhem *M. spicatum* (Doll, 1991; Rydlo & Vydrová, 2002) i *M. sibiricum* (Faegri, 1982; Warrington, 1985) a v případě druhu *M. sibiricum* byl již potenciál k jeho křížení s *M. verticillatum* diskutován (Patten, 1954) a u druhu *M. spicatum* dokonce mnohokrát prokázán (Moody & Les, 2002; Wu, Yu & Xu, 2013)

Studiem evropských populací lze dále objasnit důvody, které vedou k invaznímu chování druhu *M. spicatum* mimo jeho původní areál, neboť v evropských populacích k žádnému expanznímu šíření nedochází. Jedním z možných spouštěcích faktorů invazního chování, může být hybridizace následovaná polyploidizací (Ainouche et al., 2010; Ellstrand & Schierenbeck, 2000; Lafuma et al., 2003; Saad et al., 2011), protože lze u polyploidů vysledovat vyšší potenciál stát se invazními druhy

(Bennett, Leitsch & Hanson, 1998). A jelikož je nejen pro druh *M. spicatum* v literatuře udáváno více polyploidních chromozomových počtů (Harada, 1952; Májovský, Murín & Feráková, 1987; Měsíček & Javůrková-Jarolímová, 1992; Probatova & Sokolovskaya, 1995), může hrát proces polyploidizace v invaznosti druhů *Myriophyllum* skutečně svou roli.

Další oblastí, do které lze studiem evropských populací vnést světlo, je morfologická variabilita druhů *Myriophyllum*, jejíž znalost je podstatná pro případný ochranný management na stanovištích s invazními druhy stolístků. Jednotlivé druhy jsou od sebe těžko odlišitelné nejen z důvodu velké fenotypové plasticity, ale také kvůli časté absenci generativních orgánů, na kterých se nachází hlavní determinační znaky rodu (Kaplan, 2002). Morfologicky nejpodobnější jsou si druhy *M. spicatum* a *M. sibiricum* a nelze ani vyloučit, že byl druh *M. sibiricum* na území České republiky, případně okolních států doposud opomíjen. Ani odlišení *M. spicatum* od *M. alterniflorum* a *M. verticillatum* nemusí být vždy jednoznačné a může docházet k záměnám (např. v Husák, 1997, dle Grulich, 2011).

Rovněž detailní znalost reprodukčních způsobů může významnou měrou přispět k redukci počtů invazních jedinců a podpoření původních druhů *Myriophyllum* v populacích, kde dochází k narušování přirozené stability ekosystému. Rod *Myriophyllum* je výjimečný svou schopností rozmnožovat se vegetativně fragmenty lodyh či dokonce pouze jediným listem (Hussner, Weyer & Busch, 2009), ale ani množství vytvářených plůdků (merikarpíí) není zanedbatelné (Hartleb, Madsen, & Boylen, 1993). Studium klíčivosti plůdků *M. spicatum* pocházejících z evropských populací může tudíž přispět k odhalení faktorů lišící se mezi oběma areály a ovlivňující úspěšnost šíření *M. spicatum*.

Neméně důležité je stanovení ekologických nároků jednotlivých druhů *Myriophyllum*, jež může být přínosem nejen při řešení otázek týkajících se invazních druhů, ale také spolu se všemi ostatními uvedenými oblastmi rozšiřuje základní znalosti o druzích *Myriophyllum* rostoucí v České republice a přilehlých státech.

Na základě výše zmíněných úvah byly pro předkládanou práci stanoveny následující otázky:

- Jaká je ploidní variabilita a velikost genomu druhů *Myriophyllum* v České republice, resp. Evropě?
 - Jak jsou jednotlivé cytotypy distribuovány?
 - Je patrný rozdíl ve velikosti genomu mezi evropskými a severoamerickými populacemi?
- Dochází v evropských populacích ke vzniku kříženců druhů *Myriophyllum*?
- Jaká je úroveň morfologické variability vybraných druhů *Myriophyllum*?
 - Jaké morfologické znaky je možné využít k rozlišení problematických druhů *Myriophyllum*?
 - Je možné pozorovat rozdíly v morfologii mezi evropskými a severoamerickými jedinci?

1. Úvod

- Jaké vykazují druhy *Myriophyllum* ekologické nároky v ČR, resp. Evropě?
 - Liší se ekologické nároky evropských a severoamerických populací?
- Jaký je potenciál *M. spicatum* ke generativnímu rozmnožování?
 - Jaká je klíčivost plůdků *M. spicatum* za působení různých kombinací teplotních a světelných podmínek?

2. Literární přehled

2.1 Základní charakteristika rodu *Myriophyllum* L.

2.1.1 Postavení v systému cévnatých rostlin

Sytém APG III (Stevens, 2015) zařazuje rod *Myriophyllum* L. následovně:

Říše: Plantae (rostliny)

Angiosperms (krytosemenné)

Eudicots (dvouděložné)

Core eudicots (pravé dvouděložné)

Řád: Saxifragales (lomikamenotvaré)

Čeľad: Haloragaceae (zrnulovité)

Čeľad Haloragaceae R. Br. je specifická tím, že zahrnuje druhy s velmi odlišnými životními formami. V této čeledi nalezneme jak hydrofyty (rod *Haloragis* J.R.Forst & G.Forst, *Myriophyllum*, *Meziella* Schindl. a *Proserpinaca* L.), tak i suchomilné terofyty, hemikryptofyty, chamaefyty a fanerofyty (rody *Glischrocaryon* Endl., *Gonocarpus* Thunb., *Haloragis* a *Haloragodendron* Orchard; Moody & Les, 2007b). Rod *Laurembergia* stojí na přechodu mezi vodním a terestrickým prostředím a může být považován za halofilní rostlinu, která přečká i dlouhodobější zaplavení (Cook, 1996, in Moody & Les, 2007b).

Centrum diverzity čeledi i rodu *Myriophyllum* se nachází v Austrálii, nicméně díky rodu *Myriophyllum* může být čeľad považována za kosmopolitní (Moody & Les, 2007b). Chen et al. (2014), kteří se věnují historii šíření rodu z Austrálie do dalších částí světa, míní, že druhy s areály zasahujícími i do České republiky se na severní polokouli rozšířily během miocénu po vytvoření pevninského mostu v oblasti Beringovy úžiny.

Morfologicky je čeľad Haloragaceae zvláštní nestálostí četnosti květních orgánů; oproti běžným pravým dvouděložným rostlinám obsahuje i druhy s dvoučetnými a trojčetnými květy; nejčastěji však s květy čtyřčetnými (Moody & Les, 2007b).

Vnitřním členěním rodu se podrobně zabývali Moody & Les (2010). Na základě sekvencí ITS a cpDNA vytvořili konsenzuální strom, který dělí rod *Myriophyllum* na tři podrody; pět sekcí a pět podsekcí. Na úrovni podrodů a sekcí se jim ale prozatím nepodařilo identifikovat unikátní znaky pro dané taxonomické úrovně. Taxonomické zařazení studovaných druhů je vyznačeno v Příloze 1.

2.1.2 Morfologická charakteristika

Rod *Myriophyllum* se v rámci čeledi liší tím, že se po dozrání jeho plody rozpadají na čtyři jednosemenné plůdky (merikarpia) a že u něj nalézáme jednopohlavné samičí květy postrádající korunní a často i kališní lístky (Moody & Les, 2007b).

2. Literární přehled

Morfologicky i anatomicky odpovídá rod *Myriophyllum* obecné charakteristice vodních rostlin (Sculthorpe, 1967) – pokožka je redukována nebo zcela chybí, neobsahuje průduchy, listy jsou většinou peřenosečné, aby byl kompenzován nedostatek světla, přísunu CO₂ a zvýšena odolnost proti proudění vody (Moody & Les, 2007b); lodyha obsahuje velké množství mezibuněčných prostor, které rostlinu ve vodě nadnáší a dopravují kyslík ke kořenům (Moody & Les, 2010).

Listy se podobají vzhledem peří (proto se některým stolístkům přezdívá parrot-feather), mají 5-40 párů niťovitých úkrojů a na lodyze jsou většinou uspořádány ve vstřícném nebo přeslenitém uspořádání po 3–6 listech v přeslenu (Aiken, Newroth & Wile, 1979, Sculthorpe, 1967). Během růstu často nejbazálnější listy z lodyhy opadávají nebo se rozloží (Aiken, Newroth & Wile, 1979, Hussner, 2008). U některých druhů se na konci větví vytváří kyjovité turiony (blíže viz kap. 2.2). Poměrně odlišné jsou některé miniaturní australské druhy (např. *M. lophatum* Hook. f., *M. voitschii* Schindl.), které mají čárkovité listy a často jim chybí diferencované ponořené listy (Moody & Les, 2010).

Květy jsou drobné, přisedlé, funkčně oboupohlavné a jednopohlavné s tendencí k dvoudomosti (jednodomé: *M. verrucosum* Lindl. – pouze oboupohlavné květy, *M. alterniflorum* a *M. spicatum* – jednopohlavné i oboupohlavné květy, *M. heterophyllum* – jen jednopohlavné květy; funkčně dvoudomé: *M. aquaticum* – funkčně dvoudomé; Scribailo & Alix, 2014; Sculthorpe, 1967). Pokud jsou květy dvoudomé, jsou samčí květy situovány v horní a samičí v dolní části květenství; mezi nimi se mohou vyskytovat na přechodu oboupohlavné květy (Aiken, Newroth & Wile, 1979; Aiken, 1981a; Sculthorpe, 1967). Květy jsou podpírány listenci a jsou přeslenitě uspořádány v koncová klasnatá květenství vyčnívající kolmo nad hladinu (Aiken, Newroth & Wile, 1979; Scribailo & Alix, 2014).

Kališní lístky jsou 4, korunní lístky 4 nebo 2 a zanedlouho opadávají, u samičích květů se kališní ani korunní lístky obvykle nevytvářejí vůbec. Tyčinek je 8 nebo 4, semeník je čtyřpouzdrý, blizny jsou často dřípené. Plody se po dozrání podélně rozpadají na 4 jednosemenné plůdky (Cook, 1968; Husák, 1997).

2.1.3 Ekologie a růstové formy

Většina druhů stolístků je vodních nebo obojživelných a roste v široké škále habitatů (Cook et al., 1974). Některé druhy mohou zasahovat až do hloubek pěti, vzácněji i deseti metrů (Aiken, Newroth & Wile, 1979), ale existují i druhy vázané spíše na bažinaté okraje vodních ploch (např. *M. lophatum* a *M. voitschii*; Moody & Les, 2010). Druhy *Myriophyllum* se vyskytují obvykle ve sladkých vodách, ale byly pozorovány také ve slabě brakických vodách (Lindholm, Rönnholm & Häggqvist, 2008; Martin & Valentine, 2014; Ostenfeld, 1908, in Arber, 1920).

Rod *Myriophyllum* spolu s několika dalšími rody (např. *Potamogeton*, *Isoetes* a *Zannichelia*) byl zaznamenán v nejvyšších nadmořských výškách u vodních rostlin vůbec (Chambers et al., 2008), konkrétně *M. cf. elatinoides* Gaud. (tj. *M. quitense* H.B.K) se v Peru vyskytovalo ve výškách 4 600–5 244 m.n.m. (Seimon, Halloy & Seimon, 2007).

Druhy *Myriophyllum* tolerují velké rozpětí různých vlastností vody a jejich výskyt je určen specifickým habitatem v místě růstu daného druhu; ten je důležitější než celkový charakter vodní nádrže a i ve zcela odlišných nádržích mohou existovat malé habitaty s téměř shodnými přírodními podmínkami (Warrington, 1985). Klosowski & Tomaszewicz (1989) zjistili, že hlavní určující faktor výskytu asociací přidruženým k druhům *M. alterniflorum*, *M. spicatum* a *M. verticillatum* je obsah vápníku a hořčíku ve vodě i v substrátu a pH vody. Kromě fyzikálních a chemických charakteristik prostředí může být výskyt stolístků značně ovlivněn také disturbancemi, např. kolísáním vodní hladiny (Sheldon, 1986).

Podobně jako mnoho dalších vodních rostlin (McCully & Dale, 1961; Prančl et al., 2014; Sculthorpe, 1967; Wallenstein & Albert, 1963), jsou i stolítky ve své morfologii do značné míry ovlivněny prostředím, což znesnadňuje jejich determinaci (Aiken & Piccard, 1980). Například Smith (1986) zjistil, že pokud jedinci druhu *M. spicatum* nemají ve svém substrátu dostatek fosforu, podobají se morfologicky jinak dosti odlišným plovoucím framentům a můžou být zaměňovány s jinými menšími druhy.

Důkazem obrovské fenotypové plasticity je také schopnost stolístků vytvářet terestrickou formu. Od běžné vodní formy se terestrická liší v morfologii i anatomii prýtlů. Zakrslé lodyhy se zmnoženými větvemi vytváří hustý porost, který hojně zakořeňuje adventivními kořeny z nodů; listy mají kratší a silnější úkrojky, kterých je menší počet (Aiken, Newroth & Wile, 1979; Arber, 1920). Terestrická forma má znaky, které jsou typické pro běžné terestrické dvouděložné: listy jsou dorziventrálně orientované oproti radiálně symetrickým ponořeným listům vodní formy; xylém je v terestrických lodyhách mnohem lépe vyvinut, pokožka nemá téměř chloroplasty, ale průduchy jsou v ní vytvořeny a tvar pokožkových buněk je sinusoidní (Aiken, Newroth & Wile, 1979; Arber, 1920; Schenck, 1885, in Sculthorpe, 1967).

Schopnost vytvářet terestrické formy je u submerzních vodních rostlin výjimečná, protože striktně submerzní rostliny povětšinou postrádají mechanická pletiva a jejich kutikula buď zcela chybí, nebo je jen velmi tenká, a rostliny tudíž nezvládnou omezit nadměrnou transpiraci a na vzduchu přežijí jen maximálně několik hodin (Sculthorpe, 1967).

Terestrická forma byla zdokumentována u všech původních druhů rostoucích v Evropě (nicméně u *M. sibiricum* se tvoří jen výjimečně, Aiken, Newroth & Wile, 1979; Aiken, 1981a; Šumberová, 2011) a také u několika dalších druhů, tj. *M. aquaticum*, *M. heterophyllum*, *M. humile*, *M. pinnatum* a *M. verrucosum* (Aiken, 1981b; Moody & Les, 2010). Pokud terestrická forma kvete, je zvláštní tím, že se na přechodu mezi fertillní a sterilní částí nenachází oblast několika málo uzlin s přechodovými typy listů, jako je tomu u květenství vodní formy. Tento jev byl zdokumentován u *M. aquaticum* a *M. verrucosum* (Sculthorpe, 1967).

2. Literární přehled

2.1.5 Invazní chování

Z přibližně 68 druhů *Myriophyllum* je jich 19 považováno v různých částech světa za nepůvodní či invazní druhy (Sheppard, Shaw & Sforza, 2006), avšak agresivní invazní chování bylo doposud zaznamenáno pouze u druhů *M. aquaticum* (původní v Jižní Americe), *M. heterophyllum* (původní na JV Severní Ameriky) a *M. spicatum* (původní v Eurasii).

Druh *M. spicatum* patří k nejproblematičtějším submerzním rostlinám Severní Ameriky (Smith & Barko, 1990). Porosty *M. spicatum* jsou tak husté (viz Obr. 1), že plovoucí prýty zastíní všechna ostatní makrofyta, což má za následek úbytek druhové diverzity na stanovišti; negativně ovlivňují také dopravu a rekreační aktivity místních obyvatel (Aiken, Newroth & Wile, 1979; Cilliers 1999; Madsen et al. 1991; Moody & Les 2002; Sturtevant et al. 2009). Naplavené fragmenty rostlin se navíc usazují podél břehů, kde se rozkládají a znepríjemňují tak pobyt i mimo vodní prostředí (Aiken, Newroth & Wile, 1979).



Obr. 1: Rozvinutý porost *M. spicatum* v jižním Německu (zdroj: archiv autorky).

Do Severní Ameriky byl druh *M. spicatum* introdukován na začátku 20. století, pravděpodobně vyvažovací vodou z lodí (Aiken, Newroth & Wile, 1979). Zuellig & Thum (2012) s využitím metody AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) zjistili, že *M. spicatum* v Severní Americe se dělí na dvě odlišné linie, což interpretují jako důkaz opakované introdukce tohoto druhu na severoamerický kontinent. V současnosti se nachází ve třech kanadských provinciích a ve všech státech USA mimo států Wyoming, Nevada, Oklahoma a Idaho (PLANTS, 2015b). Na potlačení severoamerických populací *M. spicatum* bylo již vynaloženo obrovské množství finančních prostředků (Aiken, Newroth & Wile, 1979, Getsinger et al. 2002), a přesto se jejich stavy příliš nemění.

Některé druhy *Myriophyllum* jsou pro svůj atraktivní vzhled oblíbenými akvariijními rostlinami zajišťující prokysličování vody. Na druhou stranu obchodováním s nimi, případně likvidací akvárií nebo cíleným vysazováním poblíž domů se tyto druhy rozšířily do mnohých koutů světa, kde se staly invazními. Tak tomu bylo i v případě *M. aquaticum* a *M. heterophyllum* (Orchard, 1981, Wimmer, 1997).

Druh *M. aquaticum* je nejinvazivnější v Severní Americe a od konce 19. stol. ho nacházíme i v Evropě (Cook 1968; Thiébaud 2007), kde zdomácněl již nejméně ve třech státech Evropy (Hussner et al., 2010; Moreira, Monteiro & Ferreira, 1999; Thiébaud, 2007). V invazních areálech se vyskytují pouze samičí jedinci a k vytváření plodů nedochází (Orchard, 1981).

Druh *M. heterophyllum* je původní na jihovýchodě severní Ameriky, odkud se však od konce 20. století invazně šíří na západ a severovýchod Severní Ameriky (Les & Mehrhoff, 1999; Thum et al., 2011) a v 50. letech 20. století byl introdukován také do Evropy (Stricker, 1962 in Hussner et al., 2010). Od té doby byl zaznamenán již nejméně v devíti evropských zemích (Barina, 2006; Cirujano & Medina, 1997; Cook, 1968; Dutartre et al., 1997; Egloff, 1974; Höpflinger, 1948; Lebreton, 2013).

Hussner (2008) provedl pokus s kontrolovanými podmínkami prostředí, z jehož výsledků vyplývá, že oba druhy *M. aquaticum* i *M. heterophyllum* jsou dobře přizpůsobeny podmínkám ve střední Evropě a v budoucnu můžeme proto očekávat jejich šíření i do dalších částí Evropy.

Určitou evoluční výhodu může druhům *M. spicatum* a *M. aquaticum* poskytovat schopnost alelopatie, díky níž je inhibován růst některých sinic (např. *Microcystis aeruginosa* Kützing; Gross et al., 1996; Nakai et al., 2012; Saito et al., 1989). Bylo zjištěno, že u *M. spicatum* z více jak 50 % mají na tomto efektu podíl vylučované polyfenoly a mastné kyseliny. Schopnost alelopatie byla prokázána také u druhu *M. verticillatum* (Hilt, Ghobrial & Gross 2006).

V boji proti invazním stolístkům byly nasazeny různé metody od (i) používání herbicidů (Aiken, Newroth & Wile, 1979; Moreira et al., 1999), přes (ii) vysazení herbivorů (nosatec *Euhrychiopsis lecontei* Dietz napadající *M. spicatum*; Sheldon & Creed, 1995 a mandelinka rodu *Lysathia* živící se *M. aquaticum*, ale ne *M. spicatum*; Cilliers 1999), (iii) snižování vodní hladiny a pokrývání dna pískem (Nichols, 1975), až po (iv) mechanické odstraňování (Nichols, 1975; Nichols & Cottam 1972). Pokusy o využití vytěžené organické hmoty jako hnojivo, kompost nebo krmivo (alespoň u *M. spicatum*) dopadly poměrně neúspěšně (Anderson, Brown & Rappleye, 1965; Muztar, Silinger & Burton, 1976; Wile et al., 1978). Cock et al. (2008) ve svém review o přirozených nepřítelích *M. spicatum* poukazují na mezery ve výzkumu a potenciální nebezpečí použití neprostudovaných druhů v biologickém boji. Zároveň upozorňují, že je potřeba detailně zhodnotit chování *M. sibiricum* a *M. spicatum* v jejich původním areálu výskytu a ověřit, zda v přirozeném areálu jejich sympatrického výskytu dochází také ke křížení, popř. zhodnotit, z jaké části světa pocházejí invazní severoamerické rostliny a podle toho hledat příslušné vektory pro biologický boj.

Ačkoliv druhy *M. sibiricum*, *M. spicatum* a *M. verticillatum* nejsou ve svém původním areálu považovány za škodlivá vodní makrofyta, jsou zdokumentovány případy, kdy vážně ovlivnily přínos

2. Literární přehled

vodních děl pro ekosystém a lokální obyvatele (Caffrey, 2001, in Caffrey & Monahan, 2006; Lindholm, Rönholm & Häggqvist, 2008). V těchto případech byly prováděny zásahy se snahou o redukci jejich populací, např. v irských plavebních kanálech, ve finském jezeře na ostrově Åland nebo v severních Čechách v Břežyňském rybníce (Caffrey & Monahan, 2006; Lindholm, Rönholm & Häggqvist, 2008; Adamec & Husák, 2001).

2.2 Reprodukční biologie

Literatura udává, že druhy *Myriophyllum* se množí převážně vegetativně a podíl generativního rozmnožování je nízký (Aiken, Newroth & Wile, 1979). Buďto rostliny vůbec netvoří květy, resp. plody, a nebo naklíčené plůdky nepřezijí, neboť v přírodě nebyly pozorovány žádné semenáčky mladých rostlin (Aiken, Newroth & Wile, 1979; Hartleb, Madsen & Boylen, 1993). Zuellig & Thum (2012) nicméně z výsledků jejich studie soudí, že pohlavní i nepohlavní rozmnožování je u severoamerických populací *Myriophyllum* stejně důležité – klonálně se stolístky šíří v rámci jezer, ale pomocí plůdků obsazují nové lokality

Pokud *Myriophyllum* obsadí nějakou vodní nádrž, dokáže se bočními výhony lodyh postupně rozšířit po celém vodním tělese (Aiken, Newroth & Wile, 1979). Vegetativní rozmnožování na delší vzdálenosti je zajištěno dvojím způsobem – fragmenty lodyh a turiony.

V případě fragmentace se jedná buďto o cílený proces pomocí tzv. autofragmentace, nebo je fragmentace lodyh způsobena různými disturbancemi včetně aktivit člověka. Autofragmentace je nejlépe zdokumentovaná u druhu *M. spicatum* – v místě budoucího odlomení lodyhy se vytvoří oddělovací vrstva lignifikovaných buněk a na konci vegetační sezóny se z mateřské rostliny oddělí nesčetné množství cca 10–20 cm dlouhých fragmentů, které mají již v uzlinách vytvořené adventivní kořeny (Aiken, Newroth & Wile, 1979; Grace & Wetzel, 1978).

Turiony jsou živě zelené kyjovité útvary na lodyhách některých druhů *Myriophyllum*, které umožňují rostlinám přežít nepříznivé podmínky (tvorba turionů je nepříznivými podmínkami přímo indukována) a zároveň se jimi šíří na krátké i dlouhé vzdálenosti. Jedná se o velice specializované rostlinné orgány, které jsou tvořeny mnoha zkráceným lodyhami s výrazně přitisknutými listy (Weber & Noodén, 2005)

Z původních druhů rostoucích v Evropě nalézáme turiony u druhu *M. sibiricum* a *M. verticillatum* (Aiken, Newroth & Wile, 1979; Weber & Noodén, 2005). Turionům podobné útvary byly také pozorovány u druhu *M. heterophyllum* (Aiken, 1981b), ale Scribailo & Alix (2014) se domnívají, že se jednalo pouze o nově vznikající výhony.

Turiony *M. verticillatum* se formují během srpna až listopadu; na každé rostlině se vytvoří 4–12 turionů velikosti 2–6 cm (Arber, 1920; Caffrey & Monahan, 2006). Po dozrání se oddělí od mateřské rostliny a plují na vodní hladině, většinou i s částí lodyhy, která je nadnáší; na zimu klesají ke dnu. Jakmile se v únoru zvýší teplota vody, začnou turiony klíčit a vyrostou v deseticentimetrové

rostlinky, které se zakoření do začátku dubna a k jejich plnému vyvinutí v dospělé jedince dojde do konce května (Caffrey & Monahan, 2006).

V případě generativního rozmnožování existovaly dohady, zda jsou druhy *Myriophyllum* anemogamní nebo entomogamní. Sculthorpe (1967) míní, že přizpůsobení k anemofilii je zřejmé ze stavby květů, jelikož květy *Myriophyllum* mají nenápadný kalich i korunu (u samičích květů koruna většinou chybí), tyčinky jsou dlouhé tak, že volně visí z květů a blizna je pýřitá. Udává však, že květy jsou protandrické, což odporuje tvrzení Aiken, Newroth & Wile (1979) o proterogynii květů. V rámci rodu *Myriophyllum* se nicméně pravděpodobně vyskytuje také hydrogamie, jelikož existují druhy vytvářející květenství pod vodou (tj. *M. dicoccum*, *M. farwelli* a *M. humile*; Meijden, 1969, in Moody & Les, 2010).

Vzniklé plody (viz Obr. 2) se rozpadají na 4 jednosemenné plůdky (merikarpia), které jsou nepukavé a mají tvrdý sklerenchymatický endokarp. Mikropyle plůdku je uzavřeno zátkou funikulárního původu a dokud se zátky neuvolní nebo endokarp neuhnije, semeno nevyklíčí (Aiken, Newroth & Wile, 1979; Arber, 1920).



Obr. 2: Plody druhu *M. verticillatum* (zdroj: archiv autorky).

Podíl generativního rozmnožování u druhu *M. spicatum* byl několikrát diskutován, jelikož často vytváří velké množství plůdků – udává se, že z jedné rostliny je možné získat při 100% fertilitě 112 plůdků (Madsen & Boylen, 1988, in Hartleb, Madsen & Boylen, 1993) a klíčivost plůdků je poměrně vysoká (cca 60 %; Aiken, Newroth & Wile, 1979; Hartleb, Madsen, & Boylen, 1993, 1993; Patten 1955; Xiao et al., 2010). V názoru na to, zda plůdky vyžadují skarifikaci se autoři různí. Patten (1955) udává, že nejlepší klíčivost je dosaženo, pokud se plůdky namočí a nechají se zmrazit na dva týdny; nejhůře plůdky klíčí, pokud žádné skarifikaci nejsou podrobena. Hartleb, Madsen & Boylen (1993) a Xiao et al. (2010) zase přisuzují velký podíl na úspěšnosti klíčení tomu, zda jsou plůdky při klíčení pokryty sedimentem či nikoliv, neboť se vzrůstající vrstvou sedimentu klesá rapidně klíčivost

2. Literární přehled

plůdků. Co se týče teplot, při kterých plůdky nejlépe klíčí, se z výsledku experminetů Hartleb, Madsen & Boylen (1993) zdá nejvhodnější režim 20 °C a fotoperioda 14:10 hod (den:noc; klíčivost v 30 °C nebyla zjišťována), případně podle studie Xiao et al. (2010) režim 25 °C a 30 °C (ve stabilní fotoperiodě 12:12 hod).

2.3 Mezidruhov^á hybridizace

Mezidruhov^á hybridizace byla detekována doposud pouze v Severní Americe (Moody & Les, 2002) a v Číně (Wu et al., 2015). Je však možné, že s rozvojem využití vhodných molekul^ári^{ch} markerů bude tento proces objeven i v jiných částech světa.

Prvním případem je hybridizace druhů *M. heterophyllum* a *M. laxum*, která byla zjištěna na jihovýchodě spojených států, kde jsou oba druhy původní (Thum et al., 2011). *Myriophyllum laxum* Shuttl. ex Cham. je endemický druh v jihovýchodní části Spojených států a morfologicky se od *M. heterophyllum* téměř neliší (Moody & Les, 2010). Podle výsledků práce Moody & Les (2002) je vzniklý kříženec v některých místech vitálnější a zabírá větší plochu než rodičovský druh *M. heterophyllum*. Moody & Les se tudíž domnívají, že údajné invazní *M. heterophyllum* na severovýchodě a západě USA je ve skutečnosti kříženec *M. heterophyllum* × *M. laxum*. Thum et al. (2006) při analýze invazních populací *M. heterophyllum* ve státě New Hampshire identifikovali pouze „čisté“ *M. heterophyllum*, a tuto domněnku nepotvrdili. Tento nález může být vysvětlen výsledkem studie Thum et al. (2011), kde autoři objevili v rámci „čistých“ jedinců *M. heterophyllum* dvě rozdílné linie, z nichž jedna je svou invazností téměř stejná jako hybridní rostliny *M. heterophyllum* × *M. laxum* (Tavalire et al., 2012).

Dalším zjištěným křížencem je hybrid druhů *M. heterophyllum* a *M. hippuroides* (Thum et al., 2011). *Myriophyllum hippuroides* Nutt. ex Torr. & A. Gray je také endemický druh Severní Ameriky, který se nachází převážně na západním pobřeží a rovněž ve státech Wisconsin, Illinois, Texas a Oklahomadle (PLANTS, 2015). Jejich křížení je umožněno právě introdukcí *M. heterophyllum* na západ spojených států.

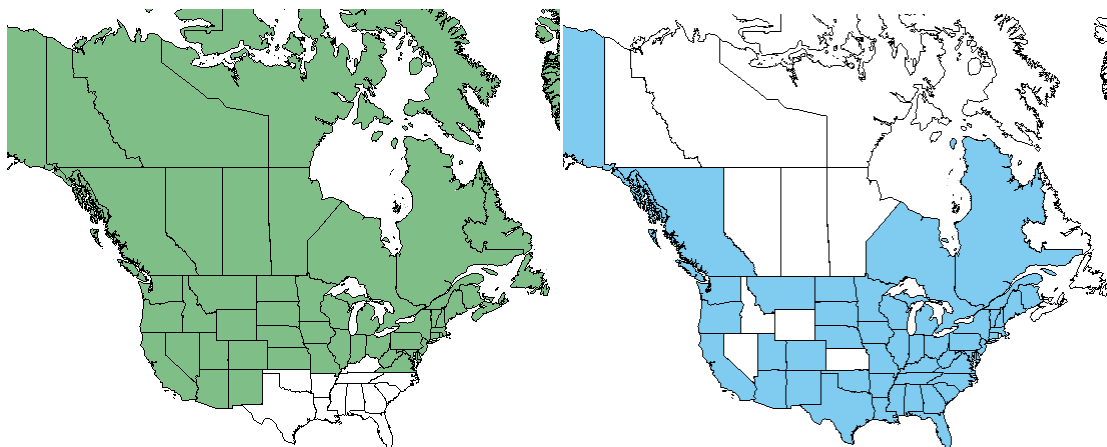
Posledním z identifikovaným kříženců je kříženec druhů *M. sibiricum* a *M. spicatum*. Již v roce 1977 se podařilo experimentálně zkřížit tyto dva druhy a vzniklé plůdky měly více než 30% klíčivost (Aiken, Newroth & Wile, 1979). Molekulární analýzy poté potvrdily, že křížení se odehrává také *in situ* (Moody & Les, 2002). Zjištění kříženci pocházeli ze tří jezer v Minnesotě a Wisconsinu na severovýchodě Spojených států. V práci Moody & Les (2007a) došlo k odhalení dalších 30 hybridních populací napříč pěti státy severovýchodních Spojených států; pouze 7 jezer obsahovalo „čisté“ *M. spicatum*. Autoři však nebyli schopní určit, zda také dochází ke zpětnému křížení s *M. sibiricum*. Další práce LaRue, Grimm & Thum (2013) byla zaměřena na studium klíčivosti plůdků vzniklých křížením *M. sibiricum* a *M. spicatum*. LaRue, Grimm & Thum pomocí metody AFLP zkoumali, zda

dochází ke vniku i F2 generace kříženců a v jedné z populací se prokázalo, že v 70 % případů je tomu skutečně tak.

U kříženců *M. spicatum* × *M. sibiricum* byla rovněž zjišťována odolost proti herbivorii nosatcem *Euhrychiopsis lecontei*, který je využíván v biologickém boji proti invaznímu rodičovskému druhu *M. spicatum*. Výsledky studií se různí – v práci Moody & Les (2002) autoři prohlašují, že se herbivoři křížencům vyhýbají stejně jako původnímu druhu *M. sibiricum*, v práci Roley & Newman (2006) autoři zjistili, že kříženec není zcela odolný vůči herbivorii, přesto však vykazuje vyšší rezistenci než *M. spicatum* a nakonec Borrowman, Sager & Thum (2014) nenašli žádné rozdíly v míře herbivorie druhů *M. spicatum* a kříženců.

Další práce se zabývaly odolností kříženců proti herbicidům (převážně 2,4-D – kyselina dichlorofenoxyoctová a triclopyr – kyselina 3,5,6-trichloro-2-pyridyloxyoctová). Výsledky prací jsou opět velice rozdílné. Podle LaRue et al. (2013) kříženci rostou rychleji a jsou odolnější vůči herbicidům než *M. spicatum*, navíc se po čase stanou rezistenčními; Poovey, Slade & Netherland, (2007) naopak tvrdí, že kříženci a *M. spicatum* se nijak průkazně neliší a Glomski & Netherland (2010) míní, že reakce hybridů jsou v různých situacích rozdílné.

Autoři Wu et al. (2015), kteří detekovali hybridní jedince v Číně, analýzou chloroplastové DNA zjistili, že hybridizace je obousměrná a že k hybridizaci došlo opakovaně v několika kontaktních zónách rodičovských druhů. Podobné závěry vyplývají i z výsledků práce Moody & Les (2002) a Zuellig & Thum (2012). Wu et al. z výsledků studie usuzují, že hlavním důvodem, proč dochází k hybridizaci, jsou překrývající se klimatické niky rodičovských druhů. Na základě těchto údajů vyvozují, že dlouhodobě izolované severoamerické populace *M. sibiricum* mohou mít jiné klimatické nároky než eurasijské populace *M. sibiricum*, které se mnohem více překrývají s optimem invazního *M. spicatum* a může tak docházet k hybridizaci. Výskyt obou druhů v Severní Americe ilustruje Obr. 3.



Obr. 3: Porovnání současného rozšíření *M. sibiricum* (zeleně) a *M. spicatum* (modře) v Severní Americe (zdroj: PLANTS, 2015a,b).

2.4 Karyologická charakteristika rodu

Pro rod *Myriophyllum* není známo mnoho chromozomových počtů (Moody & Les, 2010) a u již existujících počtů, je potřeba brát některé údaje s rezervou, jak dokládá opravování počtu chromozomů druhu *M. spicatum* v článku Löve (1961). Chromozomové počty udávané v literatuře, popř. získané prostřednictvím databáze CCDB (Rice et al., 2015) jsou shrnuty v Tab. 1; doposud byl počet chromozomů zjištěn u 13 druhů stolítků.

Tab. 1: Doposud zjištěné chromozomové počty u rodu *Myriophyllum* ($x = 7$); nejčastěji zjištěná chromozomová čísla jsou tučně zvýrazněna ($2n$ – počet chromozomů; * aneuploidní jedinec).

Druh	2n	Ploidie	Zdroj
<i>M. alterniflorum</i>	14	2x	Harris, Maberley & Abbott, 1992; Mandáková, unpubl.; Löve & Löve & Löve, 1961; Scheerer, 1939; <i>In Rice et al, 2015</i> : Miceli, Spazzafumo & Garbari, 1978; Larsen, 1965b; Jorgensen et al., 1958.
<i>M. farwellii</i>	14	2x	Mandáková, unpubl.; Scribailo & Alix, 2014
<i>M. propinquum</i>	14	2x	Lange, Murray & Datson, 2004
<i>M. tenellum</i>	14	2x	Löve & Löve, 1961; Mandáková, unpubl.
<i>M. heterophyllum</i>	14	2x	Mandáková, unpubl.
	21	3x	Mandáková, unpubl.
<i>M. humile</i>	14	2x	Mandáková, unpubl.
<i>M. laxum</i>	14	2x	Mandáková, unpubl.
<i>M. pinnatum</i>	14	2x	Mandáková, unpubl.
<i>M. ussuriense</i>	14	2x	Probatova & Sokolovskaya, 1981, in Ceska, Ceska & Warrington, 1986
	21	3x	Ceska, Ceska & Warrington, 1986; Mandáková, unpubl.
<i>M. voitschii</i>	21	3x	Lange & Murray, 2002
<i>M. pedunculatum</i> subsp. <i>novae-zelandiae</i>	28	4x	Lange, Murray & Datson, 2004
<i>M. robustum</i>	28	4x	Lange, Murray & Datson, 2004
<i>M. verticillatum</i>	28	4x	Mandáková, unpubl.; Měsíček & Javůrková-Jarolímová, 1992; Probatova & Sokolovskaya, 1995; Scheerer, 1940
	42	6x	Harada, 1952
<i>M. spicatum</i>	14	2x	Bennett et al., 1998
	28	4x	Probatova & Sokolovskaya 1995; <i>In Rice et al, 2015</i> : Aquaro, Peruzzi & Cesca, 2004
	36	5x*	Májovský et al. 1987
<i>M. sibiricum</i>	42	6x	Aiken, 1978a; Bhat et al., 1975; Löve & Löve, 1961; Mandáková, unpubl.; Měsíček & Javůrková-Jarolímová, 1992; Pogan et al., 1989; Silvestre, 1980
	63	9x	Mandáková, unpubl.
<i>M. quitense</i>	42	6x	Ceska, Ceska & Warrington, 1986
	56	8x	Mandáková, unpubl.
<i>M. triphyllum</i>	42	6x	<i>In Rice et al, 2015</i> : Dawson, 2013
<i>M. aquaticum</i>	42	6x	Mandáková, unpubl.
	56	8x	Mandáková, unpubl.

Udávaná základní chromozomová čísla jsou dvojí: $x = 7$ (Löve & Löve 1948) a $x = 6$ (Löve & Löve 1961), z nichž první je obecně přijímáno jako správné (Ceska, Ceska & Warrington, 1986; Lange & Murray, 2002; Moody & Les, 2010). U zájmových druhů se jako nejpravděpodobnější jeví chromozomové počty: *M. alterniflorum* – $2n = 2x = 14$; *M. verticillatum* – $2n = 4x = 28$; *M. spicatum*

– $2n = 6x = 42$ a *M. sibiricum* = $2n = 6x = 42$. Údaje o *M. aquaticum* a *M. heterophyllum* nejsou v literatuře k dispozici.

Je zajímavé, že druh *M. spicatum* má teoreticky čtyři ploidní úrovně (tj. cytotypy). Údaje $2n = 2x = 14$ a $2n = (5x) = 36$ byly zjištěny pouze jednou, nicméně druhý údaj byl získán z jedince pocházejícího z poměrně blízké slovenské lokality na okraji Bratislavy a je možné ho ověřit. Počet $2n = 36$ je možné interpretovat jako aneuploidního jedince odvozeného od pentaploida s $2n = 35$.

Další dva cytotypy $2n = 4x = 28$ a $2n = 4x = 42$ byly publikovány již vícekrát a je možné, že *M. spicatum* skutečně vykazuje ploidní variabilitu alespoň v těchto cytotypech. Pozoruhodný je také nález triploidních jedinců, z nichž *M. voitschi*, endemický druh Austrálie, je pravděpodobně částečně schopný rozmnožovat se pohlavně (Lange & Murray, 2002).

Procesem polyploidizace v rámci rodu *Myriophyllum* se mnoho studií nezabývalo, pouze Aiken (1981a) diskutovala vznik druhů původních v Evropě. Diskutuje možnost, že jsou *M. alterniflorum* ($2n = 14$), *M. verticillatum* ($2n = 28$), *M. sibiricum* ($2n = 42$) a *M. spicatum* ($2n = 42$) součástí polyploidní série. Na základě přítomnosti turionů u *M. sibiricum* usuzuje, že se jedná o allohexaploida vzniklého zkřížením diploidního *M. alterniflorum* a tetraploidního *M. verticillatum*. Druh *M. spicatum* turiony netvoří, ale ve vegetativním stavu vypadá jako velká forma *M. alterniflorum* a tudíž se může jednat o autohexaploida odvozeného právě z *M. alterniflorum*. Struktura pylových zrn však tuto domněnku nepotvrzuje, jelikož každá ploidie má svůj specifický tvar pylových zrn (Aiken, 1978b).

Moody & Les (2010) interpretují vztahy v této skupině jiným způsobem – jelikož podle sekvence ITS druh *M. verticillatum* není sesterskou větví zbývajících tří druhů, nemůže být součástí polyploidního komplexu. Navíc ze sekvencí ITS polyploidních taxonů nemohou usuzovat na allopolyploidní vznik polyploidních druhů neboť se ve většině případů ITS sekvence v rámci jedince téměř neliší, a pokud se liší (např. u *M. sibiricum*), vytváří monofyletickou linii. Zároveň však upozorňují na to, že se může jednat o výsledek koncertované evoluce a allopolyploidní vznik druhů nelze zavrhnout. Co se týče role *M. alterniflorum*, autoři nevyklučují, že hexaploidní potomci diploidního druhu *M. alterniflorum* mohli skutečně dát vzniknout druhům *M. sibiricum* a *M. spicatum*, jelikož jsou všechny tři taxony sesterské. Pro porovnání rozmístění ploidních úrovní v rámci rodu *Myriophyllum* byly dostupné ploidní úrovně namapovány na kosenzuální strom autorů Moody & Les (2010) v Příloze 1.

2.5 Zástupci rodu *Myriophyllum* v České republice

V České republice nalézáme tři druhy *Myriophyllum* – *M. spicatum*, *M. verticillatum* a *M. alterniflorum*. Jejich rozšíření v ČR na základě údajů Databanky flóry ČR (po roce 1990) ukazují Obr. 5, 8 a 10. Rozšíření druhů v celosvětovém měřítku zobrazují Obr. 6, 9 a 11. Jejich morfologické charakteristiky zde nejsou uváděny, neboť byly předmětem bakalářské práce autorky. K dohledání morfologických znaků lze doporučit práce: Aiken, 1981a; Aiken, Newroth & Wile, 1979; Cook, 1968; Husák, 1997; Fernald, 1919 či Yu et al., 2002).

Synonymika je udávána na základě údajů z The Plant List (2015).

Pro druhy *Myriophyllum* rostoucí v České republice existuje jen málo dostupné literatury zabývající se systematicky jejich nároky na chemické složení vody a substrátu. Jedná se o práci Hutchinson (1970), ve které se autor zabývá druhy *M. alterniflorum*, *M. spicatum* a *M. verticillatum* a o práci Klosowski & Tomaszewicz (1989), v níž jsou charakterizována společenstva přidružená k těmto druhům. Ve druhé práci je zmiňován jako vynikající zdroj informací pro dané druhy také práce Pietsch (1982)¹, kterou však autorka bohužel neměla k dispozici.

¹ Pietsch, W., 1982. Makrophytische Indikatoren für ökochemische Beschaffenheit der Gewässer. In: Breitig, G. and W. von Tümpling [eds.] *Ausgewählte Methoden der Wasseruntersuchung*, Bd. 2. *VEB Gustav Fischer Verlag*, Jena: 67-88.

2.5.1 *Myriophyllum spicatum* L. (stolístek klasnatý)

Syn.: *M. spicatum* var. *spicatum*

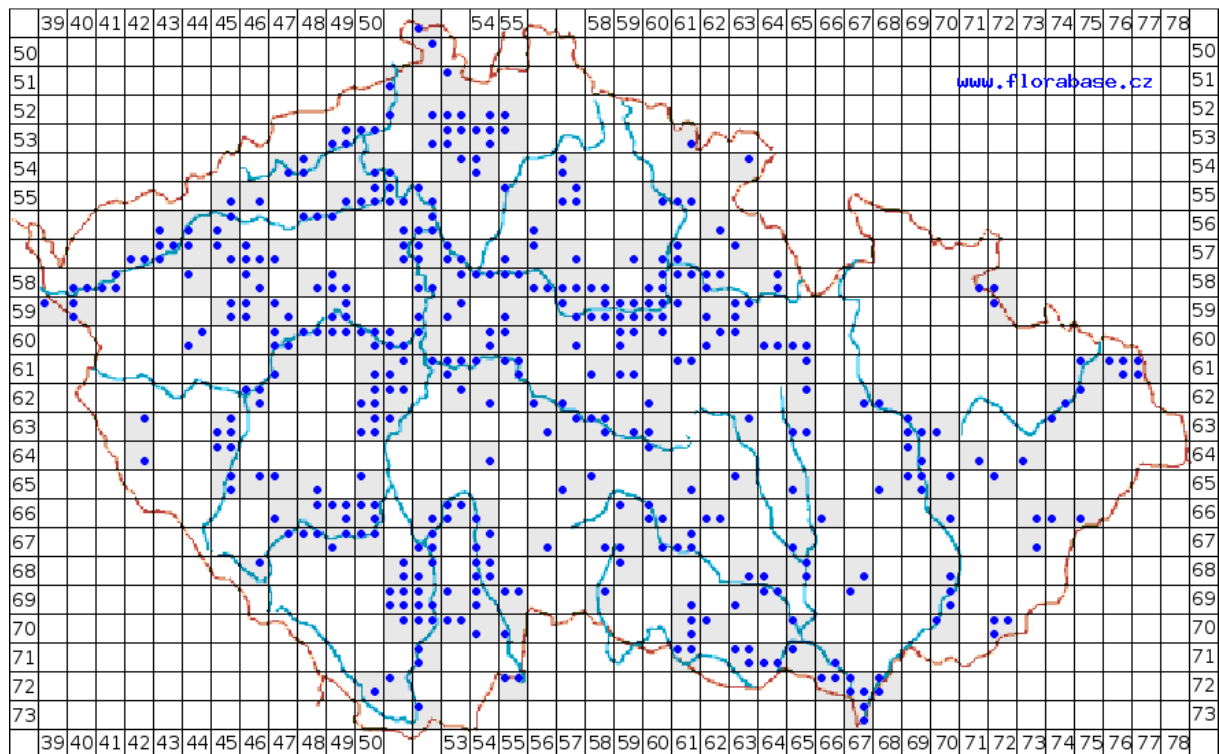
Morfologie: *Myriophyllum spicatum* (stolístek klasnatý) je druhem s nejrozvinutějším větvením lodyh z našich druhů (viz Obr. 4a), a který v našich podmínkách nejčastěji kvete. V rychle tekoucích vodách však kvete jen výjimečně (Arshid & Wani, 2011). Květenství jsou 4–16 cm dlouhá a korunní lístky samčích květů jsou vínově červené (Kaplan, 2002, Šumberová, 2011, viz Obr. 4c). Listy se většinou nachází ve čtyřčetných přeslenech a mají obvykle 13–38 úkrojků (Kaplan, 2002, viz Obr. 4b). Kvete od června do srpna (Kaplan, 2002).



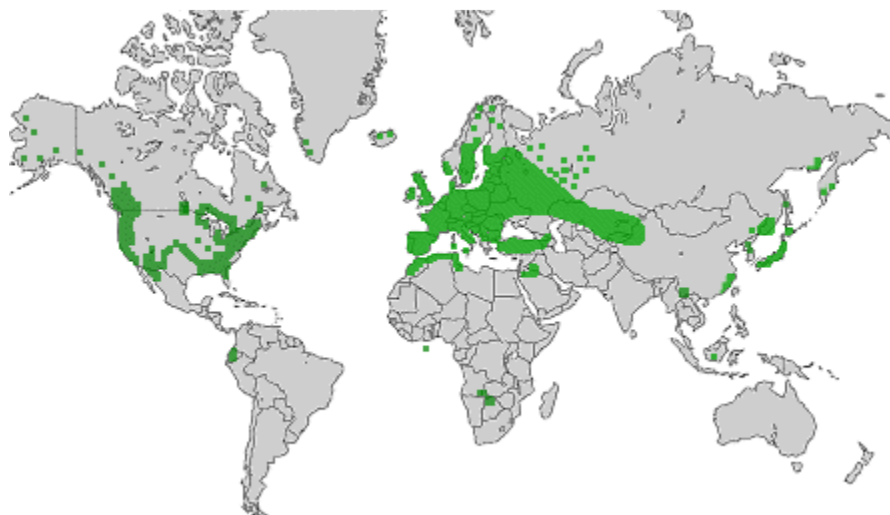
Obr. 4: Morfologie *M. spicatum*– a: submerzní lodyhy s emerzními klasnatými květenstvími, b: přesleny listů, c: koncová část květenství (zdroj: a,b – archiv autorky, c – Cameron, 2015c).

2. Literární přehled

Rozšíření: Druh je původní v temperátní a mediteránní zóně Eurasie, místy zasahuje i do boreální zóny a v Asii i do subtropů (Arshid & Wani, 2011; Šumberová, 2011). V současnosti má invazní arely po celém světě mimo Antarktidu (viz Obr. 6). Jedná se o náš nejhojnější druh stolístků – jeho populace se nachází roztroušeně na většině území České republiky (viz Obr. 5).



Obr. 5: Lokalizace lokalit druhu *M. spicatum* po roce 1990 v ČR (zdroj: Databanka flóry ČR, 2015b).



Obr. 6: Současné rozšíření *M. spicatum* ve světě (zdroj: Dijkstra, 2015c).

Společenstvo: Je diagnostickým druhem asociace *Potamo pectinati-Myriophylletum spicati* Rivas Goday, kde tvoří druhově chudé a často i jednodruhové porosty. Pokryvnost se pohybuje v rozmezí 60–90 % (Šumberová, 2011).

Ekologické nároky: Z našich druhů vykazuje *M. spicatum* nejširší ekologickou amplitudu, dokáže růst sympatricky jak s *M. alterniflorum*, tak i s *M. verticillatum* (Doll, 1991; Klosowski & Tomaszewicz, 1989; Rydlo & Vydrová, 2000).

- **Biotop:** Vyhledává biotopy v raném stádiu sukcese nebo stanoviště s pravidelným mechanickým narušováním, tj. střední a dolní toky řek, pískovny, rybníky, mrtvá ramena a kanály (Šumberová, 2011).
- **Výška vodního sloupce:** Většinou se vyskytuje v hloubkách 20–100 cm (Šumberová, 2011), ale byl zaznamenán i v pěti metrech v evropských populacích (Doll, 1991) a v severoamerických dokonce v deseti metrech (Aiken, Newroth & Wile, 1979). Dokáže tolerovat fluktuace vodní hladiny v rozmezí 0 ± 60 cm, optimální je však amplituda v rozsahu ± 15 až ± 30 cm (Zhang, Liu & Ding, 2013).
- **Charakteristika vody:** Roste v oligotrofních až silně eutrofních vodách, s optimem v eutrofní vodě (Klosowski & Tomaszewicz, 1989). Je schopný tolerovat mírně až středně zakalenou vodu (Murphy, 2002; Šumberová, 2011). Druh byl nalezen rovněž v mírně brakických vodách (Martin & Valentine, 2014; Ostenfeld, 1908, in Arber, 1920). Naměřené pH vody se v literatuře pohybuje v rozmezí 6.8–8.7 (Hutchinson, 1970, Klosowski & Tomaszewicz, 1989; Murphy, 2002) Během fotosyntézy zvládne využít kromě oxidu uhličitého také hydrogenuhličitan přítomný ve vodě (Gessner, 1959, in Hutchinson, 1970) a díky tomu toleruje i vysoce zásadité vodní prostředí.
- **Charakteristika substrátu:** Obsazuje jílovité, štěrkovité až kamenité dno, které je často pokryto vrstvou organického bahna (Šumberová, 2011).
- **Nadmořská výška:** u nás se vyskytuje převážně v nížinách a teplejších pahorkatinách, ale vystupuje i do podhorského stupně (Šumberová, 2011). Husák (1997) uvádí maximální zjištěnou nadmořskou výšku cca 600 m.n.m. u Žďáru nad Sázavou. V Britské Kolumbii v Kanadě byla jedna populace nalezena i v nadmořské výšce 1 100 m.n.m. (Warington, 1986).

2. Literární přehled

2.5.2 *Myriophyllum verticillatum* L. (stolístek přeslenatý)

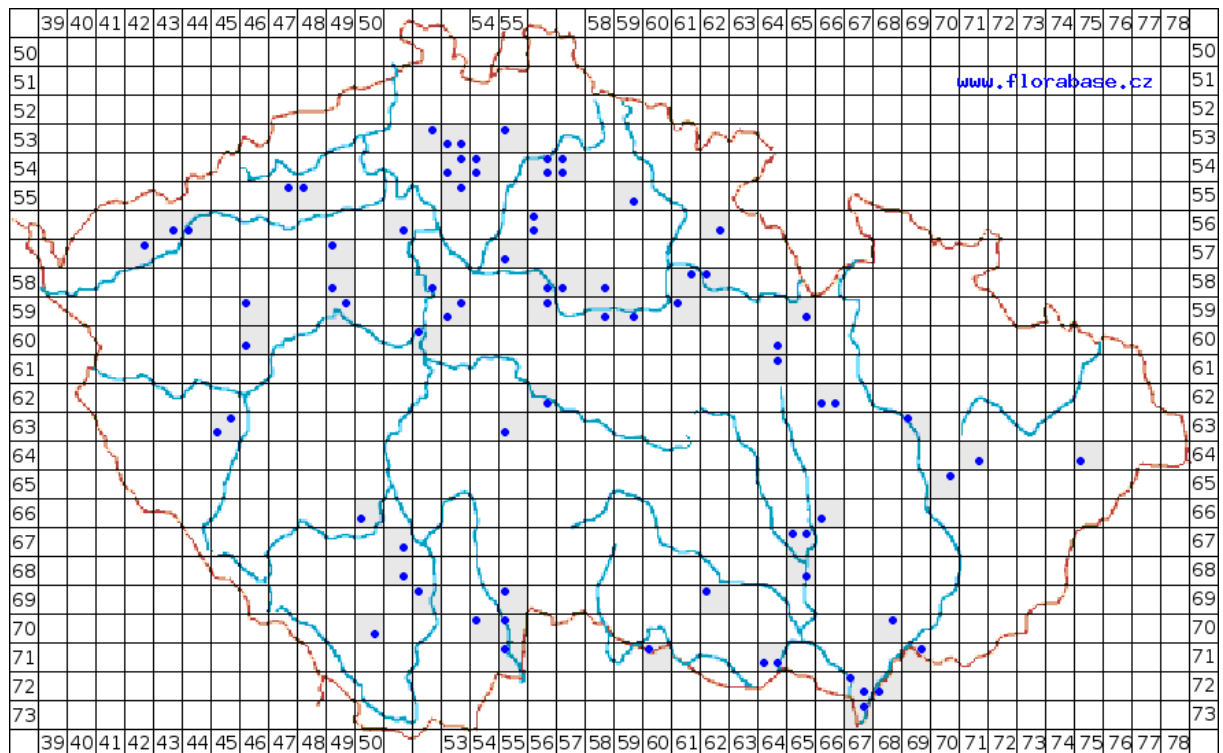
Syn.: *Myriophyllum limosum* Hectot ex DC.; *M. pectinatum* DC.; *M. verticillatum* var. *cheneyi* Fassett;
M. verticillatum var. *intermedium* W.D.J. Koch

Morfologie: *Myriophyllum verticillatum* (stolístek přeslenatý) je naším nejmohutnějším druhem stolístků (viz Obr. 7a). Listy jsou většinou v pěti až šestičetných přeslenech a mají obvykle 15–40 úkrojků (viz Obr. 7b). Květenství jsou 4–16 cm dlouhá, korunní lístky jsou bledavě zelené a jsou přítomné u obou pohlaví (Aiken, 1981b; viz Obr. 7c). Kveté během června až srpna (Kaplan, 2002). Jako jediný z našich druhů vytváří turiony (viz Obr. 7b) a také u něj nejčastěji najdeme terestrické formy (Šumberová, 2011).



Obr. 7: Morfologie *M. verticillatum* – a: submerzní lodyhy s emerzními klasnatými květenstvími, b: přesleny listů s vyvinutým turionem, c: koncová část květenství (zdroj: Cameron, 2015d).

Rozšíření: V Evropě je rozšířen především v temperátní zóně, v Severní Americe roste téměř ve všech státech USA a ve všech kanadských provinciích. V Asii zasahuje až do subtropů, ale nejčastěji se nachází temperátním pásem táhnoucím se od Kavkazu až po Japonsko (PLANTS, 2015, Šumberová, 2011, viz Obr. 9). u nás je jeho rozšíření vázáno převážně na střední Čechy, Polabí a jižní Moravu, jinde mají lokality roztroušený charakter (viz Obr. 8). V Červeném seznamu je uveden jako ohrožený druh (C3, Grulich, 2012).



Obr. 8: Lokalizace lokalit druhu *M. verticillatum* po roce 1990 v ČR (zdroj: Databanka flóry ČR, 2015c).



Obr. 9: Současné rozšíření *M. verticillatum* ve světě (zdroj: Dijkstra, 2015b).

2. Literární přehled

Společenstvo: *M. verticillatum* je diagnostickým druhem asociace *Myriophylletum verticillati* Gaudet ex Šumberová, kde často vytváří monocenózy, popř. je doprovázen druhy jako *Ceratophyllum demersum*, *Lemna minor*, *Myriophyllum spicatum* a *Spirodela polyrhiza*. Narozdíl od *Potamopectinati-Myriophylletum spicati* je asociace vázána na stanoviště v pokročilejším stádiu zazemnění, zatímco v nedávno vzniklých vodních nádržích se neobjevuje (Doll, 1991; Šumberová, 2011).

Ekologické nároky:

- **Biotop:** Vyhledává stojaté a mírně tekoucí vody, nejvíce mrtvá ramena, aluviální tůň, menší rybníky, kanály a klidné úseky dolních toků řek (Caffrey & Monahan, 2006, Šumberová, 2011).
- **Výška vodního sloupce:** Většinou roste v mělkých vodách v hloubkách 40–100 cm s přesahem až do tří metrů (Doll, 1991; Dostál, 1989).
- **Charakteristika vody:** Vyskytuje se v mezotrofních až eutrofních vodách (Caffrey & Monahan, 2006; Klosowski, 2006; Klosowski & Tomaszewicz, 1989), které jsou chudé na dusičnanový dusík, fosforečnany a draslík. Obsazuje vody s pH v rozmezí 7.1–8.2 (Klosowski & Tomaszewicz, 1989). Nižší zjištěné hodnoty než u *M. spicatum* jsou vysvětlovány tím, že nedokáže za zdroj uhlíku pro fotosyntézu využívat hydrogenuhličitan jako *M. spicatum*, ale pouze oxid uhličitý (Gessner, 1959, in Hutchinson, 1970).
- **Charakteristika substrátu:** Vyhledává jílovitý, hlinitý nebo štěrkovitý substrát, který je obvykle překryt silnou vrstvou organického bahna (Šumberová, 2011) Substrát je bohatý na organickou hmotu, vápník, celkový dusík, rozpuštěný oxid křemičitý a železo (Klosowski 2006; Klosowski & Tomaszewicz, 1989).
- **Nadmořská výška:** u nás roste v nížinách a teplých pahorkatinách (Šumberová, 2011); Husák (1997) udává maximální nadmořskou výšku cca 500 m.n.m. u Jihlavy. V Britské Kolumbii v Kanadě je většina populací (79 %) omezena na nadmořské výšky 0–700 m. n. m., vystupuje ale do výšek 1 400 m.n.m. (Warrington, 1985).

2.5.3 *Myriophyllum alterniflorum* DC. (stolístek střídavokvětý)

Morfologie: *Myriophyllum alterniflorum* (stolístek střídavokvětý) je nejmenším z našich stolítků (viz Obr. 10a). Listy se většinou nachází ve čtyřčetných přeslenech a mají 6–18 úkrojků (Kaplan, 2002). Květenství jsou nejvýše 3 cm dlouhá, květy jsou ve střídavém postavení; korunní lístky samčích květů jsou nažloutlé (Yu et al., 2002; Kaplan, 2002, viz Obr.10b). Rostliny kvetou v druhé polovině července a v srpnu (Moravec, 1973).



Obr. 10: Morfologie *M. alterniflorum* – a: submerzní lodyhy (hnědě zbarvené rostliny), b: květenství s květy ve střídavém postavení (zdroj: Cameron, 2015a).

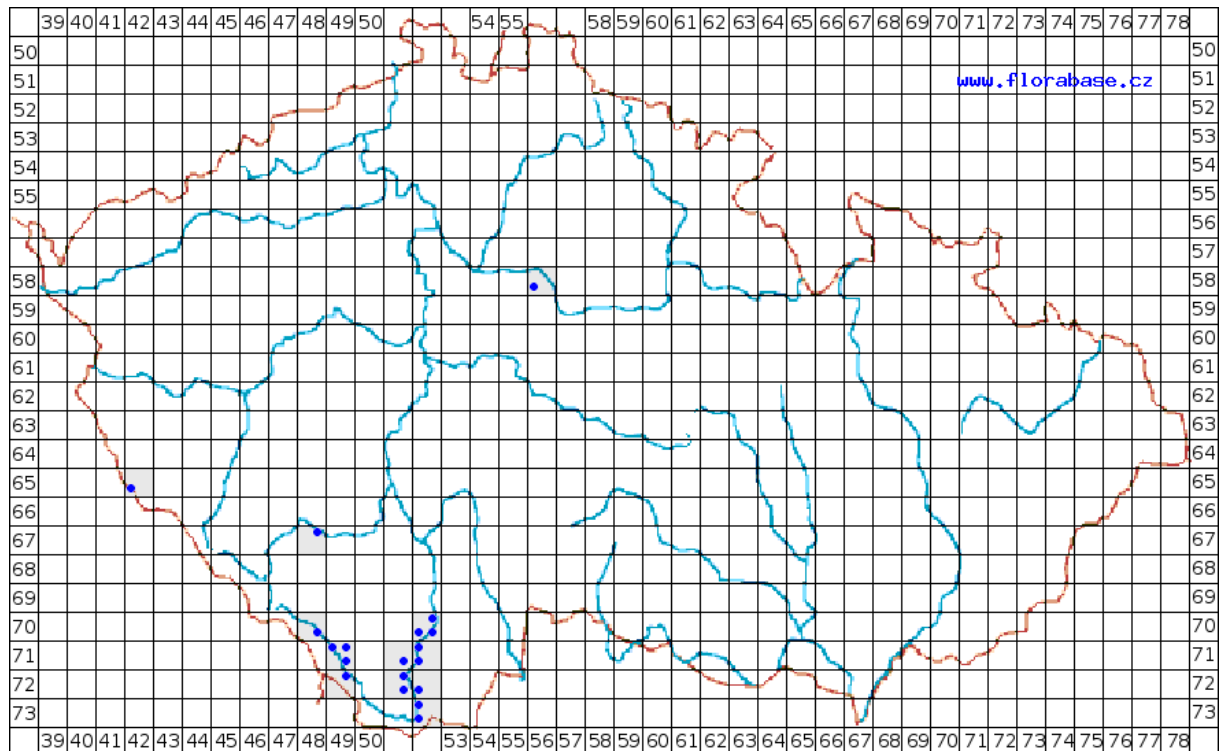
Rozšíření: *M. alterniflorum* vykazuje subatlanticko-boreální rozšíření (viz Obr. 11B); vyskytuje se převážně v severní a západní Evropě, ale také v severozápadním Rusku, střední Číně, na Islandu a v Grónsku; vzácně je nalézán také ve Středomoří a v Severní Africe (Cook, 1968; Cook et al., 1974; Yu et al., 2002; Moravec, 1973; Sarika-Hatzinikolaou, Koumpli-Sovantzi & Yannitsaros, 1994). Ve východní Severní Americe je téměř plně nahrazen varietou *M. alterniflorum* var. *americanum* Pugsely, která byla zdokumentována z několika lokalit v Irsku (Clapham, 1962, in Sculthorpe, 1967). Aiken (1981) však konstatuje, že se jedná pouze o reakci rostlin na jiné podmínky prostředí a varieta nemá své opodstatnění.

Českou republikou prochází východní hranice jeho rozšíření (Moravec, 1973). Ve své revizi udává Moravec (1973) několik lokalit *M. alterniflorum*, které již nebyly dlouhou dobu ověřeny (např. řeka Jihlavka poblíž Jihlavy, jezero Laka na Šumavě, horní tok Malše); některé literární údaje dokonce uváděly, že na lokalitách *M. alterniflorum* hojně plodí (Skalický, 1953, in Moravec, 1973). Autor sám objevil lokality *M. alterniflorum* v řece Otavě mezi Horažďovicemi a Strakonícemi, kde se vyskytovali jen sterilní jedinci, v dnešní době druh pravděpodobně z Otavy již vymizel (Bufková &

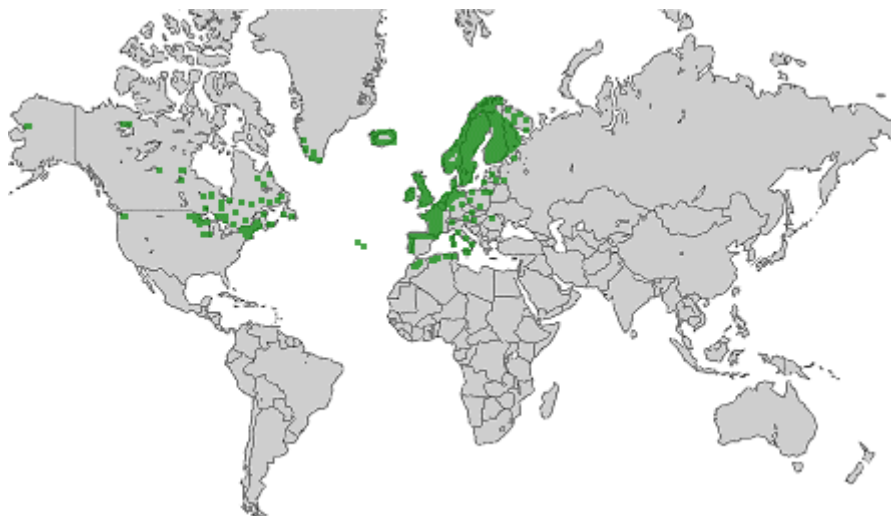
2. Literární přehled

Rydlo, 2008). V Databance flóry ČR také existuje jeden záznam ze středních Čech (viz Obr. 11A), nicméně není doplněn o žádné další detaily výskytu, aby šlo ověřit jeho pravdivost.

Druh se v současnosti hojně vyskytuje v řečišti Vltavy (Rydlo 1998) od Lenory po vodní nádrž Lipno a dále od Vyššího Brodu po České Budějovice, kde byl ve Vltavě zaznamenán přímo u města v městské části Rožnov (Bufková & Rydlo, 2008). Nedávno byl objeven také ve slepém rameni Nemanického potoka poblíž Domažlic (Rydlo, 2011). Druh *M. alterniflorum* je považován za silně ohrožený druh naší květeny (C2r; Grulich, 2012), díky lepší čistotě vody se však jeho populace v původních lokalitách obnovují (Rydlo & Vydrová, 2000).



Obr. 11A: Lokalizace lokalit druhu *M. alterniflorum* po roce 1990 v ČR (zdroj: Databanka flóry ČR, 2015a).



Obr. 11B: Současné rozšíření *M. alterniflorum* ve světě (zdroj: Dijkstra, 2015c).

Společenstvo: *M. alterniflorum* je diagnostickým druhem asociace *Myriophylletum alterniflori* Chouard, kde nejčastěji dosahuje pokryvnosti 50–70%. Dalšími diagnostickými druhy asociace *Myriophylletum alterniflori* jsou *Batrachium peltatum* (Schrank) J. Presl, *Callitriche hamulata* (Kütz. ex W. D. J. Koch) a *Potamogeton perfoliatus* L. (Šumberová, 2011).

Ekologické nároky: Z našich druhů je *M. alterniflorum* nejméně konkurenčně schopným druhem, který se díky svému pionýrskému charakteru může na stanovišti vyskytovat dlouhodobě (Šumberová, 2011).

- **Biotop:** V České republice je vázán na horní a střední úseky řek a potoků, kde vytváří mohutné trsy, které napomáhají sedimentaci písku a tvoření pískových lavic (Moravec, 1973). Méně často obsazuje i tůně a odstavená říční ramena v nivě Vltavy (Bufková & Rydlo, 2008). V zahraničí byl pozorován také v oligotrofních jezerech (Murphy, 2002) a v Maroku též v periodických tůních (Rhazi et al., 2009).
- **Výška vodního sloupce:** V našich podmínkách nejběžněji zasahuje do hloubek 10–60 cm (Bufková & Rydlo, 2008) s přesahem do 100–120 cm (Bufková & Rydlo, 2008; Moravec, 1973). Například v Německu a Španělsku byl však zaznamenán i ve dvoumetrových hloubkách (Doll, 1991; Velayos, Carrasco & Cirujano, 1989).
- **Charakteristika vody:** Je druhem oligotrofních až mezotrofních nebo dystrofních vod (Šumberová, 2011). Rozsah pH vody se pohybuje v rozmezí 5.0–6.5 s přesahem do neutrálních až slabě zásaditých vod (tj. pH = 7.9; Klosowski & Tomaszewicz, 1989; Murphy, 2002). Vyžaduje chladnou vodu bohatou na kyslík a chudou na vápník, hořčík, dusičnanový dusík, oxid siřičitý, fosforečnanový fosfor a rozpuštěný oxid siřičitý (Klosowski & Tomaszewicz, 1989; Moravec, 1973). V zahraničí kombinace vápenitého písku a kyselých výluhů z rašelinišť umožňuje koexistenci *M. alterniflorum* a bazifilnějšího druhu *M. spicatum* (Murphy, 2002), v České republice byly pozorován sympatrický růst těchto druhů ve Vltavě před Českými Budějovicemi (Rydlo & Vydrová, 2000).
- **Charakteristika substrátu:** Často se nachází na písčitéch sedimentech s malým podílem organické hmoty (0–5%), které jsou chudé na hořečnaté a vápenaté ionty (Klosowski & Tomaszewicz, 1989).
- **Nadmořská výška:** u nás se vyskytuje v chladných pahorkatinách až v podhorském stupni, nejvýše položená lokalita se nachází na Šumavě v zaniklé obci Nové Údolí u Stožce (Ekrt & Půbal, 2008; Šumberová, 2011).

2.6 Další zástupci rodu *Myriophyllum* v Evropě

V Evropě se vyskytují v současnosti další tři druhy *Myriophyllum* – původní *M. sibiricum* a dva nepůvodní *M. aquaticum* a *M. heterophyllum*. V literatuře je zmiňován také výskyt australského *M. verrucosum* na několika lokalitách ve Velké Británii (Brenan & Chapple, 1949; Preston & Croft, 1997), v současnosti však o něm zprávy chybí a mohlo se jednat o záměnu s *M. heterophyllum* (Wimmer, 1997). Pro invazní druhy existuje zatím jen málo studií ekologických nároků (např. Hussner, 2008), a proto je výčet informací u některých bodů omezený.

2.6.1 *Myriophyllum sibiricum* Kom. (stolístek severní)

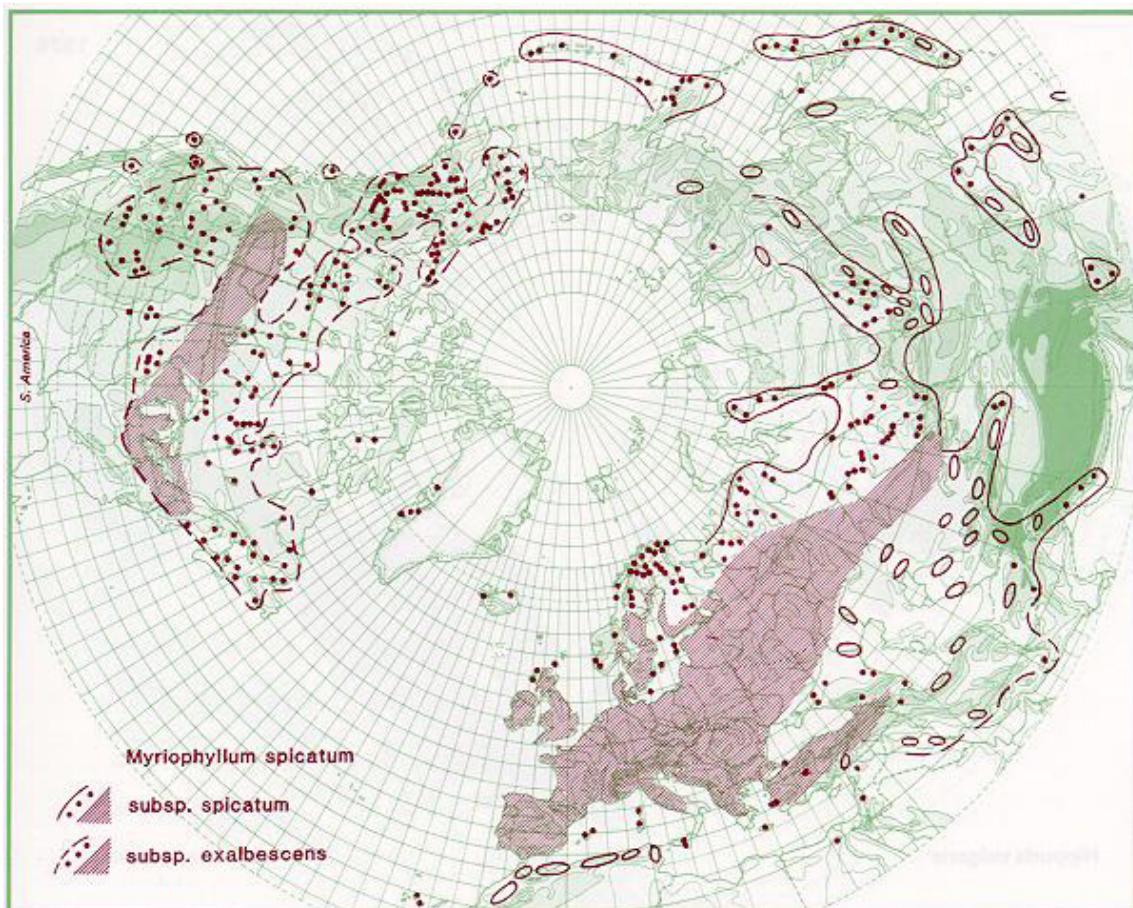
Syn.: *Myriophyllum exalbescens* Fernald; *M. magdalenense* Fernald; *M. spicatum* var. *capillaceum* Lange; *M. spicatum* subsp. *exalbescens* (Fernald) Hultén; *M. spicatum* var. *exalbescens* (Fernald) Jeps.; *M. spicatum* var. *muricatum* Maxim.; *M. spicatum* var. *squamosum* Laest. ex Hartm.

Morfologie: *Myriophyllum sibiricum* (stolístek severní) je druh velice podobný *M. spicatum* (viz Obr. 12). V literatuře se za nejdůležitější znaky sloužící k jejich odlišení považuje přítomnost turionů (viz Obr. 12a), počet párů úkrojků v rozsahu 4–14 (Obr. 12b) a tvary a délky listenců v květenství (viz Obr. 12c; Aiken, Newroth & Wile, 1979). Kvetení a tvorba plodů probíhá od května do října (Scribailo & Alix, 2014).



Obr. 12: Morfologie *M. sibiricum* – a: submerzní lodyhy s turiony na koncích větví, b: přesleny listů na lodyze, c: bazální část květenství (zdroj: Cameron, 2015b).

Rozšíření: Morfologická podobnost *M. sibiricum* a *M. spicatum* vedla u některých autorů k závěru, že se jedná pouze variety druhu *M. spicatum* (Nichols, 1975), popř. že *M. sibiricum* je poddruh *M. spicatum* (Patten, 1954). Sculthorpe (1967) je dokonce uvádí jako příklad pravých vikariantů a v mapě autorů Hultén & Fries (viz Obr. 13) jsou tak také rozlišováni. Později se však zjistilo, že roste rovněž v Eurasii a jedná se proto o cirkumpolární druh (Aiken & McNeil, 1980; Scribailo & Alix, 2014). Konkrétní doklady pocházejí např. z jižní Číny z provincie Jün-nan (Wu, Yu & Xu, 2013), ostrovů Åland z jihozápadního Finska (Lindholm, Rönnholm & Häggqvist, 2008) a z jižního Ruska poblíž Bajkalu (Schipczinsky, 1912), přičemž v Rusku a Skandinávii se jedná pravděpodobně o velice běžný druh (Ceska & Ceska, 1986, Faegri, 1982). Přesto je pravděpodobné, že se severoamerické rostliny od eurasijských v určitém ohledu liší, neboť Moody & Les (2010) v sekvenci úseku ITS tří analyzovaných evropských jedinců identifikovali tři unikátní bodové mutace, které severoameričtí jedinci neměli. Morfologicky však nebyli jednoznačně odlišitelní; autoři navrhují, že pokud se výskyt těchto bodových mutací ukáže být napříč Eurasii konzistentní, je možné uvažovat nad rozdělením *M. sibiricum* do druhů nebo poddruhů podle areálu výskytu.



Obr. 13: Původní pojetí rozšíření druhů *M. spicatum* a *M. sibiricum* (= *M. exalbescens*, zdroj: Hultén & Fries, 1986).

2. Literární přehled

Ekologické nároky:

- **Biotop:** Většina literárních zdrojů udává nálezy *M. sibiricum* z jezer o různé velikosti, dokáže však růst v široké škále habitatů (Scribailo & Alix, 2014; Warrington, 1985). Vyskytuje se v chladnějších oblastech než *M. spicatum* a jen zřídka je nalézán jižně od lednové izotermy 0°C (Aiken, 1981b).
- **Výška vodního sloupce:** Vyskytuje se v hloubkách 0.5–2.5 m (Aiken, Newroth & Wile, 1979).
- **Charakteristika vody:** Oblibuje chladné oligotrofní až mezotrofní vody (Chambers et al. 2008, Scribailo & Alix, 2014). Faegri (1982) usuzuje, že v oligotrofních vodách se vyskytuje jen výjimečně a např. sympatrický růst s *M. alterniflorum* je vzácný. *M. sibiricum* je častější v zásaditějším prostředí s vyšším obsahem síranů, sodíku a draslíku než *M. verticillatum* (Warrington, 1985). Zjištěné pH se pohybovalo v rozmezí 6.7–9.7 až 10.0 (Lindholm, Rönnholm & Häggqvist, 2008; Warrington, 1985). Druh *M. sibiricum* toleruje i mírně brakické vody (Lindholm, Rönnholm & Häggqvist, 2008; Faegri, 1982).
- **Charakteristika substrátu:** Substrát v kanadských jezerech je v porovnání s *M. verticillatum* bohatší na hořčík a celkový obsah fosforu (Warrington, 1985).
- **Nadmořská výška:** Je druhem vyšších nadmořských výšek (v Kanadě se 45% populací vyskytovalo v rozmezí 700–1000 m. n. m), nicméně obsazuje také nížiny (10 % populací v nadmořské výšce menší než 200 m.n.m; Chambers, 2008; Warrington, 1985). V Severní Americe byl zaznamenán v maximální nadmořské výšce 3 300 m. n. m. (Scribailo & Alix, 2014). V Norsku byl jeho výskyt určen v rozmezí výšek 300–939 m.n.m. (Faegri, 1982).

Způsoby determinace druhů *M. sibiricum* a *M. spicatum* a jejich hybridů

Jak zde bylo již několikrát zmíněno, odlišení *M. sibiricum* od *M. spicatum* je velice obtížné. První z možností, je využít publikovaných morfologických znaků, které jsou však často nespolehlivé, jako např. u jednoho z nejdůležitějších znaků na vegetativních orgánech *počet párů úkrojků na list* bylo zjištěno, že po zaplavení terestrické formy, kdy dochází k tvorbě nových listů, mají listy *M. spicatum* obvykle stejný počet úkrojků jako *M. sibiricum* (Aiken, Newroth & Wile, 1979). Podobnost může být zapříčiněna i složením substrátun, jelikož druh *M. spicatum* rostoucí v substrátu chudém na živiny je velice podobný druhu *M. sibiricum* rostoucí v substrátu bohatém na živiny (Aiken & Picard, 1980). Aiken (1981) však tvrdí, že pokud jsou rostliny pěstovány ve stejných podmínkách, morfologické rozdíly mezi nimi jsou jednoznačné. Toto tvrzení podporuje také práce Moody & Les (2007a), ve které autoři dokázali spolehlivě oba druhy rozlišit pouze na základě počtu úkrojků a délky listu, nicméně všechny analýzy prováděli pouze na severoamerických jedincích a je otázkou, zda jsou aplikovatelné i na eurasijské jedince.

Další možností, jak od sebe (nejen) tyto dva druhy odlišit, je použít dvoudimenzionální chromatografii flavonoidů, kterou vyvinula Oldřiška Česká (Ceska, 1977). Ve své práci porovnávala strukturu flavonoidů severoamerických jedinců, a došla k závěru, že je to spolehlivá metoda k jejich

determinaci. Stejnou metodu použila i pro analýzu vzorků *M. spicatum* (a *M. verticillatum*) získaných z Československa, avšak rozdíly již nebyly tak průkazné jako v případě severoamerických rostlin.

V roce 2002 publikovali Moody & Les článek, ve kterém navrhuje využívat sekvencí úseku jaderného rRNA ITS (internal transcribed spacer) jako způsob „DNA barcodingu“ pro určení všech druhů *Myriophyllum*. Využitelnost této metody potvrdili i další studie (např. Sturtevant et al., 2009). Problémem však zůstává detekce hybridů neboť pro ni není sekvenace ITS dostatečně citlivou metodou (Zuellig & Thum, 2012).

Rozlišování vzniklých kříženců *M. spicatum* × *M. sibiricum* na základě morfologických znaků je ještě obtížnější (ne-li nemožné) než odlišení rodičovských druhů, neboť kříženci vykazují intermediární znaky na pomezí obou rodičů. Jediným důležitým rozdílem oproti *M. sibiricum* je, že kříženci nevytváří turiony. Tento fakt byl testován při simultánním pěstování hybridů i rodičovských druhů ve skleníku za shodných podmínek a hybrid turiony nevytvořil, přestože rodičovský druh *M. sibiricum* ano (Moody & Les, 2007a). Pro rychlou determinaci v terénu je však tato metoda nepoužitelná.

O něco méně časově náročným řešením může být analýza mikrosatelitů, které nedávno vyvinul tým Wu, Yu & Xu (2013). Autorům se podařilo identifikovat 20 mikrosatelitových úseků, které byly úspěšně cross-amplifikovány i pro druhy *M. sibiricum* a *M. verticillatum*. Zvláštností je, že ve většině případů nebyly pro jeden lokus nalezeny více než čtyři alely, přestože by jich mohlo být u hexaploidního jedince až šest; důvod si autoři nedokážou vysvětlit.

Další možností je využít metody AFPL, která se v určení hybridů také osvědčila (Zuellig & Thum; 2012) nebo metody PCR-RFLP (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism) úseku ITS (Grafe et al., 2015).

2. Literární přehled

2.6.2 *Myriophyllum aquaticum* (Vell.) Verdc. (stolístek vodní)

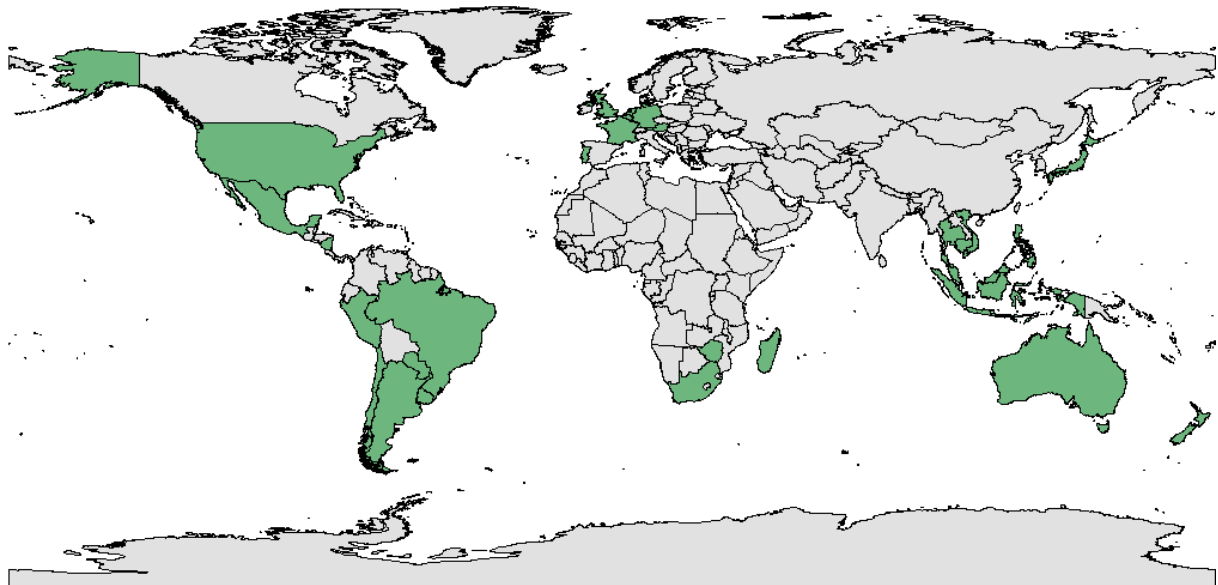
Syn.: *Myriophyllum brasiliense* Cambess.; *Myriophyllum proserpinacoides* Gillies ex Hook. & Arn.; *Enydria aquatica* Vell.

Morfologie: *Myriophyllum aquaticum* (stolístek vodní) je v našich podmínkách velmi dobře poznatelným druhem, neboť jako jediný tvoří vegetativní emerzní prýty s modrozelenými listy (viz Obr. 14a), na nichž jsou díky četným hydatorám často přítomné kapky vody (Chicken, 1977; Orchard, 1981). Tento zajímavý vzhled je pravděpodobně důvodem, proč je *M. aquaticum* oblíbenou rostlinou akvaristů (Aiken, 1981b). Submerzní listy jsou peřenosečné v niťovité úkrojky v počtu 25–30, úkrojky na emerzních listech jsou širší a v horní části rostliny mají 24–36 úrojků; oba typy listů jsou obvykle uspořádány v pěti až šestičetných přeslenech (Orchard, 1981). Rostliny jsou dvoudomé, květenství není morfologicky odlišeno od zbytku rostliny (viz Obr. 14c), v Severní a Jižní Americe kvete nepravidelně během jara (přibližně od dubna) a časného léta (Chicken, 1977; Orchard, 1981; Scribailo & Alix, 2014; viz Obr. 14c), v Evropě od května do června (Hussner, 2008).



Obr. 14: Morfologie *M. aquaticum* – a: emerzní prýty, b: submerzní prýt, c: střední část květenství (zdroj: Q-Bank, 2015a).

Rozšíření: *M. aquaticum* je původní v Jižní Americe mimo její severní část, v současnosti se však nachází na všech kontinentech kromě Antarktidy (Aiken, 1981b, Hussner, Weyer & Busch, 2009, Orchard, 1981, viz Obr. 15), nejvíce rozvinuté populace mimo původní areál jsou soustředěny v Severní Americe (Thiébaud, 2007). V Evropě byl druh nalezen již v Belgii (Denys, Packet & van Landuyt, 2004), Francii (Cook, 1968; Thiébaud, 2007), Maďarsku (Illyés et al., 2006), Německu (Hussner & Lösch 2005; Hussner et al., 2010; Weyer & Hussner 2008), Portugalsku (Moreira, Monteiro & Ferreira, 1999), Rakousku (Orchard, 1981) a Velké Británii (Chicken, 1977). V České republice zatím tento druh zaznamenán nebyl.



Obr. 15: Současné rozšíření *M. heterophyllum* ve světě (označeno po státech, zdroj: Q-Bank, 2015a).

Ekologické nároky:

- **Biotopy:** Roste ve velkém spektru biotopů – v jezírkách, kanálech, zátocinách, příkopy s pomalu tekoucí vodou, potocích a řekách (Scribailo & Alix, 2014). V Evropě je často pozorován v termálně ohříváných potocích (Illyés et al., 2006, Hussner & Lösch, 2005) a dokáže přežít i na nepravidelně zavlažovaných loukách (Chicken, 1977; Hussner, 2008). Přežije i teploty pod bodem mrazu (Aiken, 1981b, Chicken, 1977; Hussner, Weyer & Busch, 2009).
- **Výška vodního sloupce:** Zakořeňuje na mělčinách a pomocí plovoucích prýtů se dokáže rozprostřít i na hladinu s vyšší hloubkou vody (Orchard, 1981). Preferuje hloubky menší než jeden metr, ale v Německu byl druh v 1.5m hloubce (Hussner, 2008), ve Španělsku dokonce ve vodách hlubších než dva metry (Morreira, Monteiro & Ferreira, 1999). V substrátu bohatém na živiny toleruje výrazné fluktuace vodní hladiny (Morreira, Monteiro & Ferreira, 1999, Hussner, Weyer & Busch, 2009).
- **Charakteritika vody:** Roste v pomalu tekoucích vodách (Orchard, 1981), ale přečká i v rychle tekoucích vodách, kde pak netvoří emerzní prýty; toleruje zakalenou vodu (Hussner, 2008).

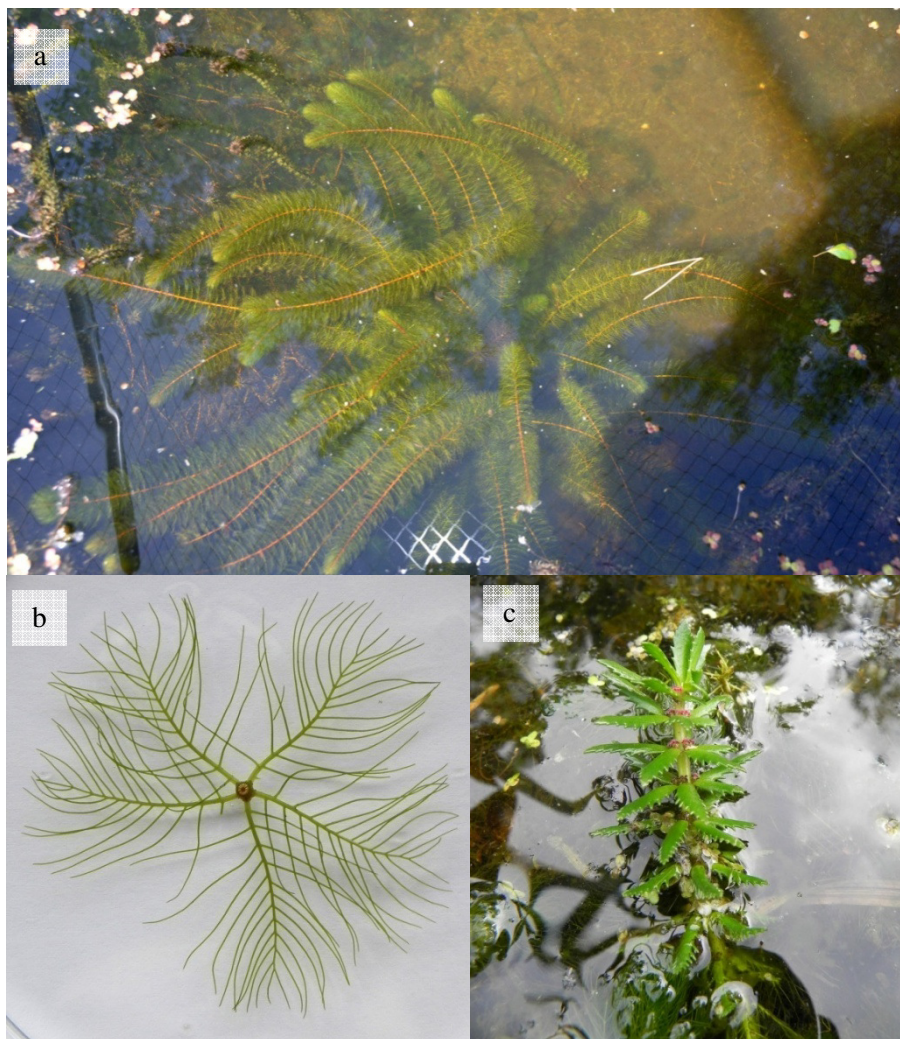
2. Literární přehled

- **Charakteristika substrátu:** Roste na širokém spektru substrátů od břidlic až po štěrkopísky (Ferreira, 1992, in Morreira, Monteiro & Ferreira, 1999) Dokáže tvořit velké množství biomasy i v substrátech chudých na živiny (Hussner, 2008).
- **Nadmořská výška:** V Jižní Americe jsou samičí jedinci více rozšíření než samčí a vyskytují se převážně v nížinách, ale v Peru byly samičí rostliny zaznamenány v nadmořské výšce 3 250 m. n. m (Orchard, 1981). V Severní Americe jsou zaznamenáni jedinci z nadmořských výšek 1 500 m. n. m. (Scribailo & Alix, 2014), v Portugalsku z 30–200 m.n.m (Moreira, Monteiro & Ferreira, 1999).

2.6.3 *Myriophyllum heterophyllum* Michx. (stolístek různolistý)

Syn.: *Potamogeton verticillatum* Walter

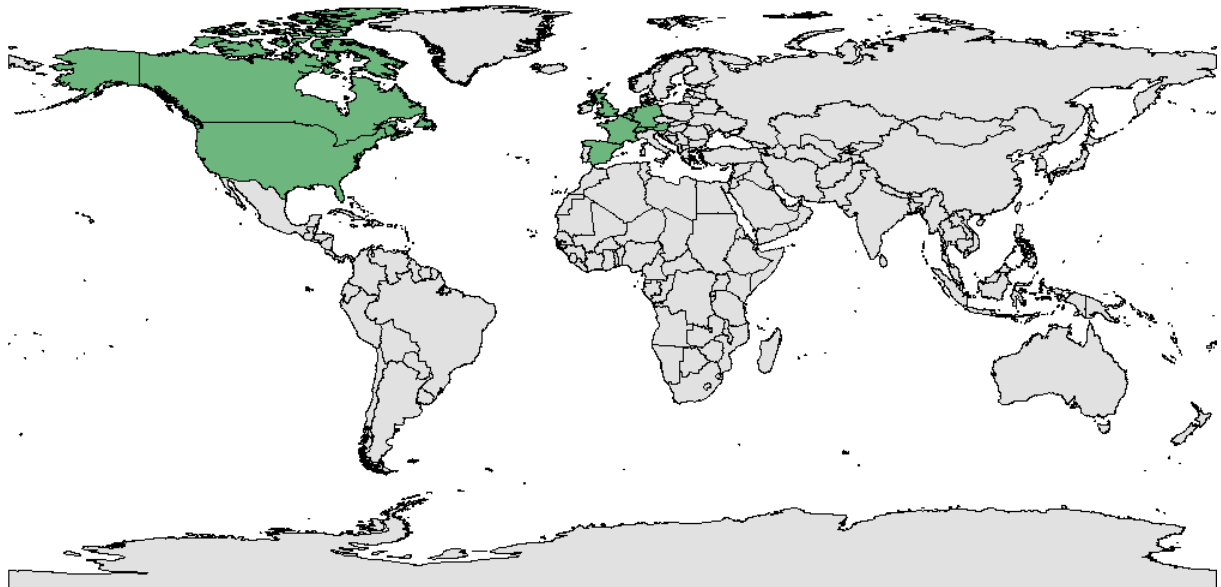
Morfologie: Pokud kvete, jedná je *Myriophyllum heterophyllum* (stolístek různolistý) jednoznačně odlišitelným druhem, neboť v květenství vytváří velké listeny s pilovitým okrajem a na květenství je jasně patrná přechodová zóna o peřenosečných submerzních listů k vejčitým listenům (Scribailo & Alix, 2014; viz Obr. 16c). Na vegetativních částech má charakteristické postavení listů, které je zdánlivě přeslenitě (viz Obr. 16b), bylo však zjištěno, že se jedná o několik nahloučených uzlin a listy nerostou v jedné rovině (Aiken, 1981b; Sculthorpe, 1967). V Evropě kvete od června do srpna (Hussner, 2008).



Obr. 16: Morfologie *M. heterophyllum* – a: submerzní prýty, b: přeslen listů, c: květenství (zdroj: Q-Bank, 2015b).

2. Literární přehled

Rozšíření: Je původní v JZ Severní Americe (konkrétně od Virginie po Floridu, severně směrem k Michiganu a Ontariu a západně až k Texasu a Missouri; Aiken, 1981b). Byl introdukován do Evropy a invazně se šíří také po zbytku Severní Ameriky (viz Obr. 17). V Evropě byl do dnešního dne zjištěn v Belgii (Kubátová et al., pers. comm.), ve Francii (Lebreton, 2013), Maďarsku (Barina, 2006), Nizozemí (Peeters, 2004), Německu (Hussner et al., 2010), Rakousku (Höpflinger, 1948), Španělsku (Cirujano & Medina, 1997), Švýcarsku (Egloff, 1974) a Velké Británii (Cook, 1968). Existuje také jeden podezřelý nález z Plzně, nicméně pravdivost lokalizace nelze v současnosti ověřit (Prančl, 2015, in press).



Obr. 17: Současné rozšíření *M. heterophyllum* ve světě (označeno po státech, zdroj: Q-Bank, 2015b).

Ekologické nároky:

- **Biotop:** V Severní Americe nejčastěji obsazuje řeky, jezera a rybníky o velké ploše (Thum & Lennon 2010; Scribailo & Alix, 2014). V Evropě obsazuje především druhotná stanoviště (Wimmer, 1997). Ve středním Německu poblíž Hannoveru byl nalezen v zatopených dolech na železo a poblíž Brém v zatopených těžebních jámách na jíl (Wimmer, 1997).
- **Výška vodního sloupce:** –
- **Charakteristika vody:** Roste v oligotrofních až eutrofních vodách (Scribailo & Alix, 2014) s relativně vysokým pH, alkalinitou a vodivostí (Thum & Lennon, 2010).
- **Charakteristika substrátu:** V Evropě obsazuje substráty středně bohaté na živiny (Hussner, 2008)
- **Nadmořská výška:** Vyskytuje se převážně v nižších nadmořských výškách (Thum & Lennon, 2010)

3. Metodika

V předkládané diplomové práci bylo ke zjištění ploidní variability využito metody průtokové cytometrie (Doležel, Greilhuber & Suda, 2007), která umožňuje jednoduše stanovit absolutní velikost genomu dané rostliny (Suda, 2011). Tato metoda našla uplatnění i při zjišťování míry hybridizace jednotlivých taxonů a slouží jako kontrola správnosti taxonomického zařazení rostlin. Ke zhodnocení morfologické variability střeoevropských stolístků je použita metoda klasické morfometriky, která je základním prostředkem studia většiny taxonomických prací zabývajících se rodem *Myriophyllum* (např. Aiken, Newroth & Wile, 1979; Nichols, 1975; Moody & Les, 2007a). Pro stanovení potenciálu druhu *M. spicatum* ke generativnímu rozmnožování v České republice bylo provedeno vícero klíčících experimentů s plůdky *M. spicatum*. Součástí výzkumu bylo také zjišťování několika základních parametrů prostředí na lokalitách stolístků ke zjištění jejich ekologických nároků.

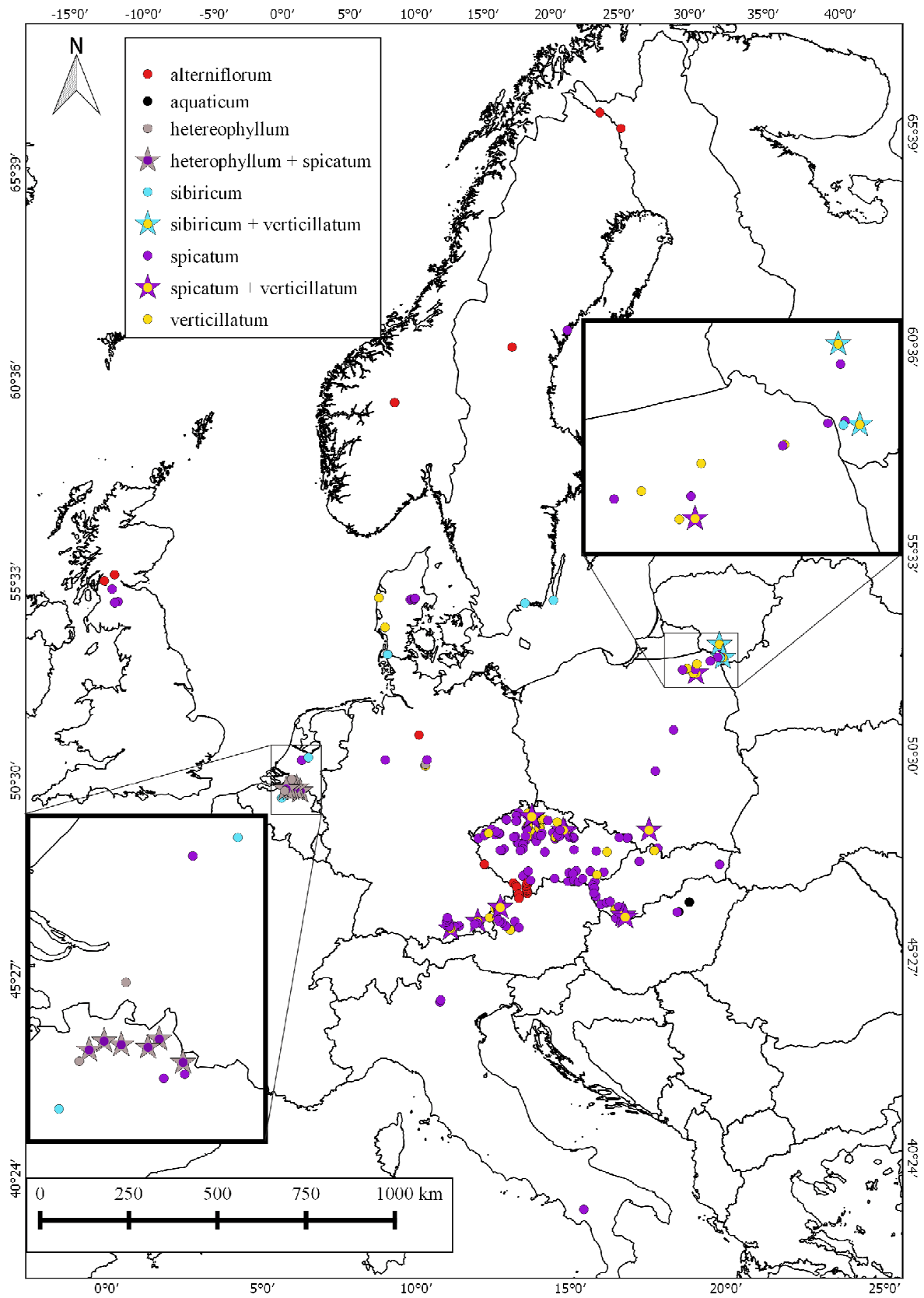
3.1 Sběr materiálu

Sběr materiálu probíhal v letech 2011 až 2014. Důraz byl kladen na oblast střední Evropy, zvláště pak Českou republiku. Jako podklad pro výběr lokalit s potenciálním výskytem zástupců *Myriophyllum* byly použity databáze Databanka flóry České republiky (2015), FloraWeb (2015; Německo), BSBI Distribution Database (2015; Velká Británie) a Zobodat (2015; Rakousko); dále pak herbářové sbírky Střeoevropského muzea v Roztokách u Prahy, literární prameny a doporučení jiných botaniků.

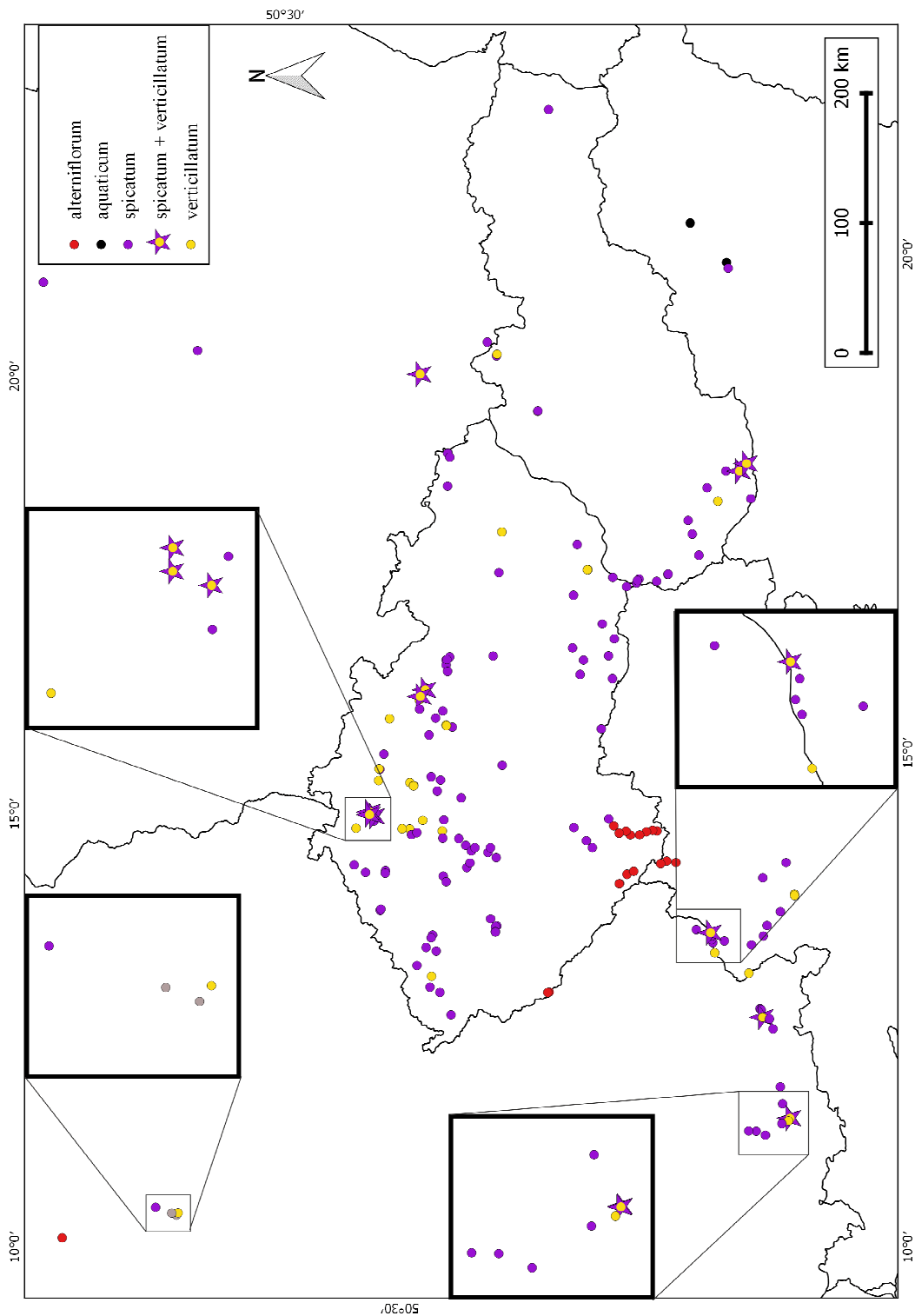
Při výběru lokalit bylo snahou vybrat takové, které jsou o ostatních lokalit stejného druhu vzdálené nejméně 20 km vzdušnou čarou. Pokud se jednalo o spojitý výskyt na vodním toku, byly rostliny sbírány ve vzdálenosti nejméně 10 km dle vodní kilometráže daného toku.

Diplomová práce z části navazuje na grantový projekt MŠMT *Kontakt II* probíhající za účasti Laboratoře průtokové cytometrie Botanického ústavu AV ČR v Průhonicích a Zemědělské fakulty Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích pod vedením Barbory Kubátové (dále jen Kubátová et al.). Tento projekt je zaměřen na studium příčin invaznosti druhů *Myriophyllum* v Severní Americe, popř. Evropě a možných příčin rozdílného chování původních a nepůvodních druhů v obou areálech. Autorka této práce měla tudíž k dispozici nejen svoje data z České republiky a přilehlých států, ale i z dalších evropských, případně severoamerických lokalit. Seznam lokalit spolu se jmény konkrétních sběratelů je uveden v Příloze 2. Celkem byly získány vzorky střeoevropských druhů stolístků z 217 lokalit v Evropě (viz Obr. 18 a 19) a pro navazující srovnávací analýzy mezi oběma areály posloužila také data z lokalit v Severní Americe týmu Kubátová et al. (Kvůli plánované publikaci článku zabývajících se tímto tématem zde seznam lokalit není prezentován.). Na čtyřech lokalitách v České republice byly odebrány rovněž plůdky pro klíčící experimenty (viz kap. 3.4).

3. Metodika



Obr. 18: Mapa všech sběrů rodu *Myriophyllum* v Evropě, z nichž tato diplomová práce čerpá.



Obr. 19: Mapa všech sběrů rodu *Myriophyllum* ve střední Evropě.

3. Metodika

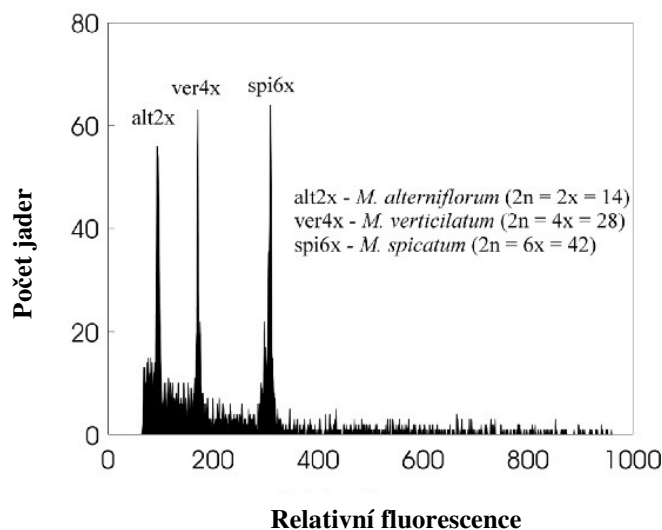
Pokud to stav populace umožňoval, bylo na každé lokalitě odebráno nejméně 10 rostlin rostoucích ve vzdálenosti minimálně 10 metrů od sebe, aby bylo minimalizováno riziko opakovaného sběru téhož klonu. V případě, že rostliny kvetly, byly vybírány přednostně kvetoucí jedinci. Rostlinný materiál byl následně zabalen do vlhkého savého papíru (viz Obr. 20) a uložen do nepropustného sáčku, aby byly rostliny drženy neustále ve vlhku. Takto bylo možné rostliny po dovezení do laboratoře uchovávat po několik dní v chladu, aniž by byla významným způsobem snížena možnost jejich využití v dalších analýzách.



Obr. 20: Způsob zpracovávání vzorků v terénu (zdroj: Pavel Hrdina).

3.2 Průtoková cytometrie

Z pilotní studie (Trávníček, unpubl.) bylo zjištěno, že české druhy stolístků v jejich nejběžnějším ploidním stupni lze spolehlivě odlišit na základě relativní velikosti genomu pomocí průtokové cytometrie (viz Obr. 21). V kontextu České republiky je tudíž možné využít průtokovou cytometrii jak k ověření správného určení do druhu, tak i ke zjištění absolutní velikosti genomu. Aby bylo dosaženo co nejmenší koncentrace sekundárních metabolitů v suspenzi, byly vzorky pro průtokovou cytometrii odebírány z nejmladších částí rostliny (převážně ze vzrostných vrcholů a nejzelenějších konců větví). Buněčná jádra byla izolována a barvena pomocí dvoustupňové metodiky dle Doležel et al. (2007).



Obr. 21: Rozlišení druhů *M. alterniflorum*, *M. spicatum* a *M. verticillatum* na základě relativní fluorescence (zdroj: Pavel Trávníček).

3.2.1 Zjišťování vnitropopulační variability

Ke zjištění vnitropopulační variability ve velikosti genomu bylo z každého jedince z příslušné lokality odebráno přibližně 0.25 cm² listu a vzorek byl umístěn spolu s dalšími vzorky z maximálně 10 jedinců do Petriho misky. Podle předpokládané ploidie studovaného vzorku bylo do misky přidáno i adekvátní množství listu standardu *Bellis perennis* L. (3.38 pg; Schönschwetter et al., 2007). Standard *Bellis perennis* byl zvolen z následujících důvodů: (i) snadná dostupnost během celého roku, (ii) fluorescenční signál standardu se nekryje se signálem žádného analyzovaného druhu a (iii) přestože velikost genomu standardu není optimální (až 6.5x větší než nejmenší analyzovaný druh), situace by u jiných běžně používaných standardů (*Glycine max* cv. Polanka – 2C = 2.50 pg [Doležel, Greilhuber & Suda, 2007], *Solanum pseudocapsicum* – 2C = 2.59 pg [Doležel, Greilhuber & Suda, 2007]) byla jen o málo lepší (5x větší). Do Petriho misky bylo posléze přidáno 500 µl pufru Otto i (0.1 M monohydrát kyseliny citrónové, 0.5% detergent Tween 20) a pletiva byla rozsekána ostrou žiletkou. Vzniklá suspenze jader byla následně přefiltrována do zkumavky přes technickou tkaninu (velikost oka 42 µm). Nejdříve po 10 minutách byl do suspenze přidán 1 ml barvicího roztoku smíchaného z pufru Otto II [0.4M Na₂ HPO₄ · 12 H₂O], antioxidantu β-merkptoethanolu (2 µl/ml) a fluorescenčního barviva 4',6-diamidino-2-fenylindolu (DAPI, 4 µg/ml). Po dalších cca 10 minutách byla zkumavka zanalyzována v průtokovém cytometru Partec CyFlow Space s UV-chipem, případně PAII s HBO UV výbojkou. Celkem byla zaznamenána fluorescence 3 000 částic.

3.2.2 Měření absolutní velikosti genomu

Při měření absolutní velikosti genomu se postupovalo podobně jako při zjišťování vnitropopulační variability s tím rozdílem, že byl spolu s interním standardem analyzován vždy jen

3. Metodika

jeden jedinec a to opakovaně tak, aby byla eliminována fluktuace v přesnosti měření. Z každé populace byla absolutní velikost genomu měřena u 3 jedinců.

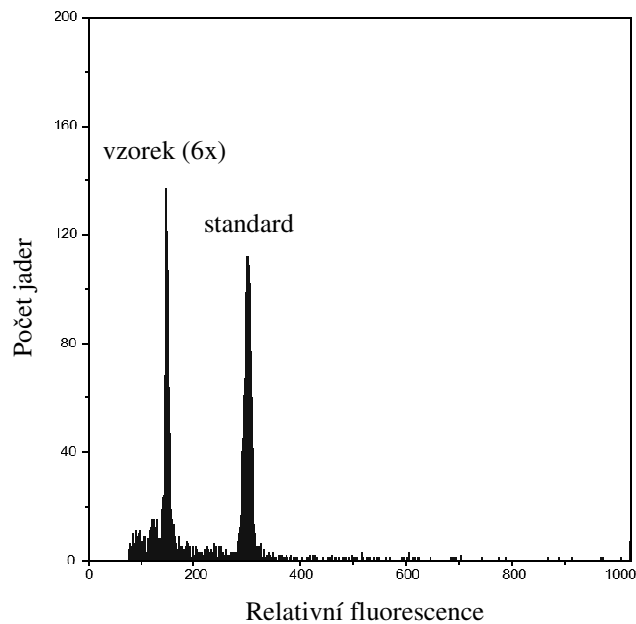
Lišila se také velikost použitého pletiva a složení barvicího roztoku. Pokud se jednalo o list, byl ustřížen kus o ploše cca 0,5 cm², pokud o lodyhu, odebíral se kus dlouhý přibližně 1 cm a poměrně k tomu byl do Petriho misky přidán i standard *Bellis perennis* L. Barvicí roztok se skládal z pufru Otto II [0.4M Na₂ HPO₄ · 12 H₂O], antioxidantu β-merkptoethanolu (2 μl/ml, Sigma), RNázy A (50 μg/ml) a fluorescenčního barviva propidium jodidu (PI, 50 μg/ml). Analyzován byl vždy jen jeden jedinec s interním standardem 2–3 po sobě jdoucí dny. Intenzita fluorescence jader byla měřena průtokovým cytometrem Partec CyFlow (laser s excitační vlnovou délkou 532 nm) s nastavením na 5 000 částic.

3.2.3 Analýza dat

Pro analýzu histogramů byl použit program Partec FlowMax 2.4d (Partec GmbH, Münster, Germany). Společné populační anlyzy sloužily k přesnému stanovení převládající ploidie v populaci a zároveň k detekci ploidně smíšených vzorků nebo populací. Z poměru relativní fluorescence mezi píky standardu a vzorku (viz Obr. 22) a při znalosti konkrétního počtu chromozómů u referenčních rostlin od každého druhu a cytotypu (příklad viz Příloha 4), byly odvozeny ploidní úrovně všech analyzovaných rostlin.

Při měření absolutní velikosti genomu byly u vzorků zaznamenány hodnoty koeficientu variance (CV) a vzorky z CV větším než 7 % byly z analýz vyřazeny. Z absolutní velikosti genomu standardu (3,38 pg; Schönswetter et al., 2007) a z poměru fluorescence analyzovaného vzorku a standardu byla následně zjištěna absolutní velikost genomu vzorku. Z hodnot opakovaných měření téhož vzorku byl spočten průměr, který byl v navazujících analýzách použit jako hodnota velikosti genomu daného jedince.

Mapky rozšíření ploidních úrovní byly vytvořeny pomocí programu QGis 2.8.2 (QGis Development Team, 2015). Poté, co byly absolutní velikosti genomu vizualizovány krabicovými diagramy v programu R 3.1.3 (R Development Core Team, 2015), byly odlehle hodnoty znovu přezkoumány, a pokud se jednalo o celkově špatné analýzy (vysoká CV, velký šum v pozadí či malá výtěžnost jader vzorku), byly hodnoty z datasetu odstraněny. Poté byly spočítány základní charakteristiky velikosti genomu (balíček psych, funkce *describeBy*, Revelle, 2015) a data byla otestována na normální rozdělení (Shapiro-Wilkův test – funkce *shapiro.test* a Q-Q plot – funkce *qqnorm*). u dat s normálním rozdělením byly rozdíly mezi taxony otestovány analýzou variance (ANOVA, funkce *aov*) a přiřazení do skupin za použití post-hoc Tukeyova testu s využitím balíčku *agricolae* (Mendiburu, 2014; funkce *hsd.test*). Jelikož neměla data porovnávací 1Cx hodnoty mezi Severní Amerikou normální rozdělení, byla data testována Kruskal-Wallisovým testem (funkce *kruskal.test*) a následně byl proveden post-hoc Nemenyiův test využívající chí-kvadrát testu pro určení p-hodnot (balíček *PMCMR*; Pohlert, 2015; funkce *posthoc.kruskal.nemenyi.test*).



Obr. 22: Příklad histogramu z průtokové cytometrie ukazující polohu píku standardu (*Bellis perennis* L.) a vzorku (*M. spicatum*, 6x).

3.3 Morfometrické analýzy

Pro účely zhodnocení morfologické variability rodu *Myriophyllum* byla vybrána metoda klasické (numerické) morfometricky. Geometrická morfometrika by nebyla z důvodu redukce zpevňovacích pletiv u rodu *Myriophyllum* příliš vhodná, protože prostorové uspořádání rostlinných orgánů ve velké míře závisí na herbářování rostliny.

3.3.1 Příprava a výběr herbářových položek

Pokud to stav rostlinného materiálu umožnil, byl po odebrání části pro změření velikosti genomu zbytek rostliny herbářován, aby bylo možné případně propojit morfologii a velikost genomu daného jedince. V opačném případě bylo snahou herbářovat 3 rostliny z populace o délce minimálně 40 cm a alespoň s jedním vzrostným vrcholem. Z dobře vyvinuté části rostliny byla vystřížena 3 sousedící internodia a ve vodě naplavena na tvrdý papír, aby bylo dosaženo co nejlepšího rozprostření tenkých úkrojků (viz Obr. 23). u některých vzorků bylo před zaschnutím položky ještě potřeba úkrojky preparační jehlou „vyrovnat“. Herbářové položky budou po obhájení diplomové práce uloženy v Herbářových sbírkách Univerzity Karlovy v Praze (PRC).

Pro morfometrická měření bylo vytvořeno přes 700 herbářových položek z nichž jich bylo morfometricky změřeno 305. Z Evropy jich pocházelo celkem 204, a jelikož v souběhu probíhal i výzkum lokalit ve Spojených státech, bylo pro srovnání *M. sibiricum* a *M. spicatum* vybráno i 101 položek těchto druhů a přechodových jedinců ze Severní Ameriky (viz Obr. 25, mapa zpracována v programu ArcGIS 10.2, ESRI, 2011). V zemích mimo Českou republiku byly přednostně vybrány položky pocházející z lokalit vzdálených od sebe minimálně 20 km (viz Obr. 24).

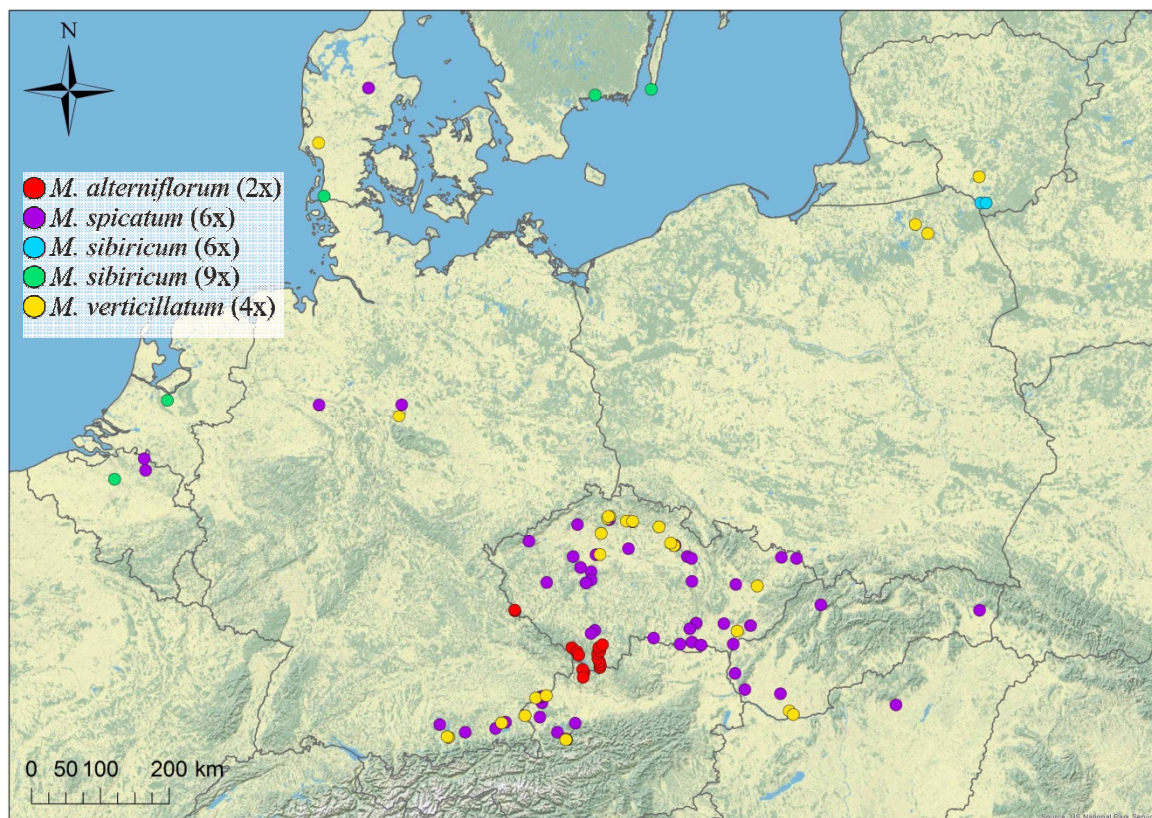
3. Metodika



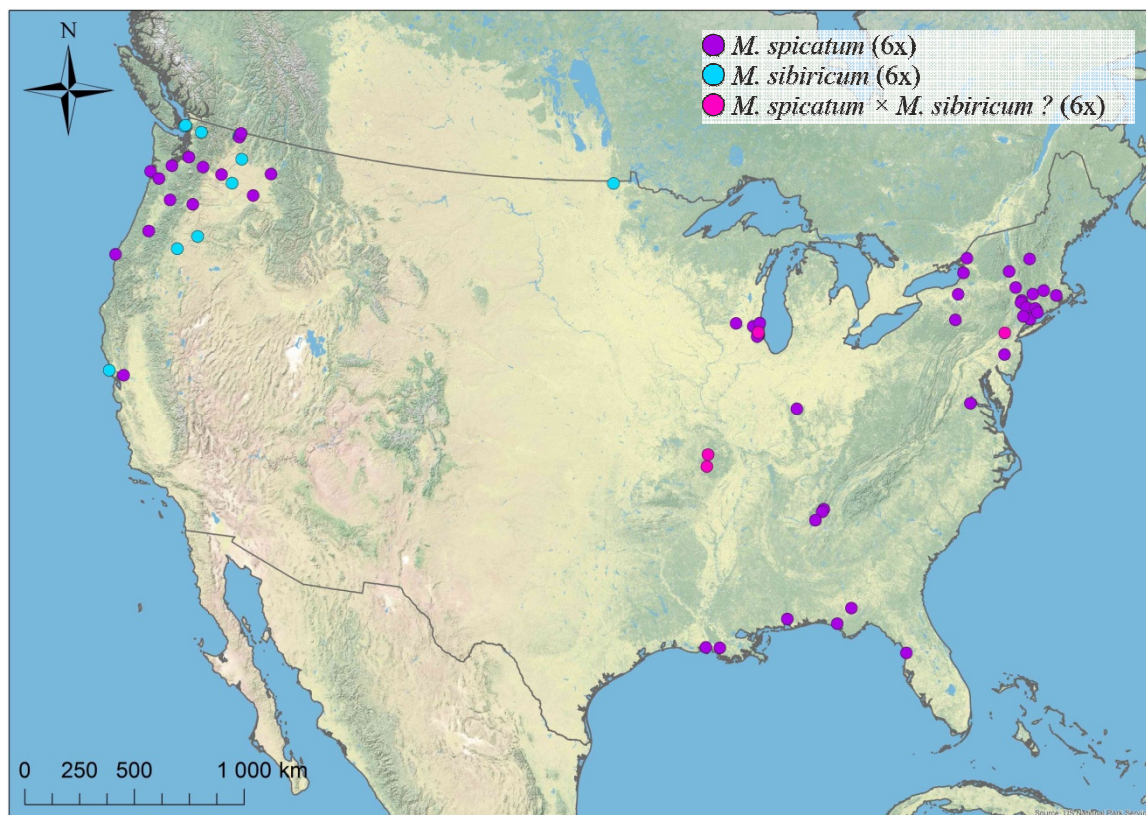
Obr. 23: Způsob herbářování položek pro navazující morfometrická měření.

3.3.2 Morfometrická měření

Jelikož rod *Myriophyllum*, ze středoevropských druhů zvláště pak *M. alterniflorum*, velmi často nevytváří generativní orgány, byl výběr znaků vhodných pro morfometrická měření zaměřen převážně na vegetativní části rostlin. Tyto znaky byly vybrány na základě determinačních znaků použitých v Klíči ke květeně ČR (Kaplan, 2002) a jiných publikací zabývajících se rodem *Myriophyllum* (Aiken, Newroth & Wile, 1979; Aiken, 1981b; Fernald, 1919; Nichols, 1975; Moody & Les, 2007). Po konzultaci s vedoucím práce byly obohaceny o nové znaky, které jsou jednoznačně změřitelné a u kterých nemá herbářování vliv na zjištěné hodnoty. Z tohoto důvodu byl například vyloučen znak popisující úhel, ve kterém odbočují jednotlivé úkrojky z větena listu.



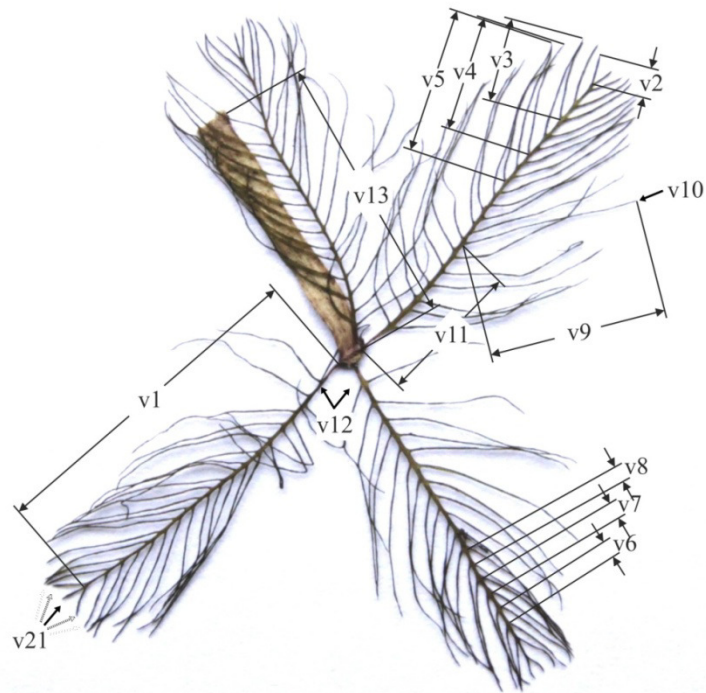
Obr. 24: Evropské lokality, ze kterých pochází herbářové položky měřené morfometricky.



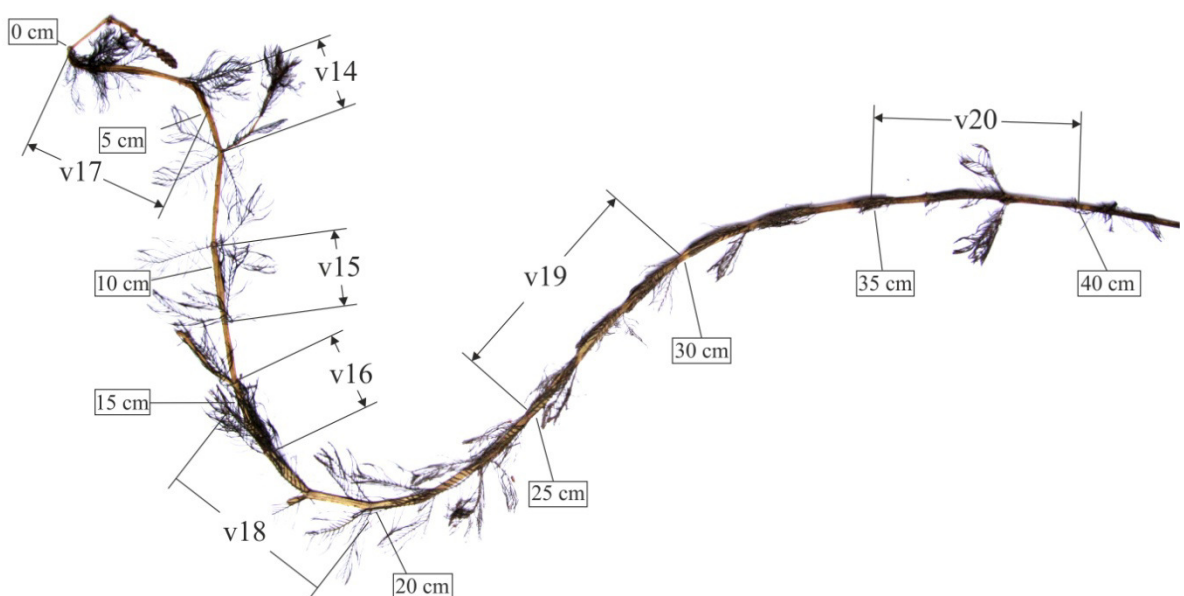
Obr. 25: Severoamerické lokality, ze kterých pochází herbářové položky *M. spicatum* a *M. sibiricum* a případných kříženců vybraných pro srovnání s evropskými populacemi.

3. Metodika

Na rostlině bylo zjišťováno a měřeno celkem 21 primárních znaků na vegetativních orgánech (viz Obr. 26 a 27 a Tab. 2). Hodnoty byly odečítány vždy ze dvou listů každého ze tří sousedících přeslenů. Z těchto znaků bylo spočítáno také 12 odvozených znaků (viz Tab. 2) Pokud rostlina měla květenství, bylo zjišťováno a měřeno i 10 znaků na generativních orgánech spolu se 3 odvozenými znaky (viz Obr. 28 a Tab. 3). Jako báze květenství byl chápán první přeslen vegetativních listů pod květenstvím. Znaky byly měřeny ručně pomocí digitálního posuvného měřítka (přesnost 0.1 mm), u znaků na listech byla rovněž použita binokulární lupa (zvětšení 8x a 12x).



Obr. 26: Znaky na listech měřené morfometricky. Vysvětlivky znaků viz Tab. 2.



Obr. 27: Znaky na lodyze měřené morfometricky. Vysvětlivky znaků viz Tab. 2.

Tab. 2: Primární a odvozené znaky na vegetativních částech zjišťované morfometricky (vzd.=vzdálenosti, vzr.=vzrostného).

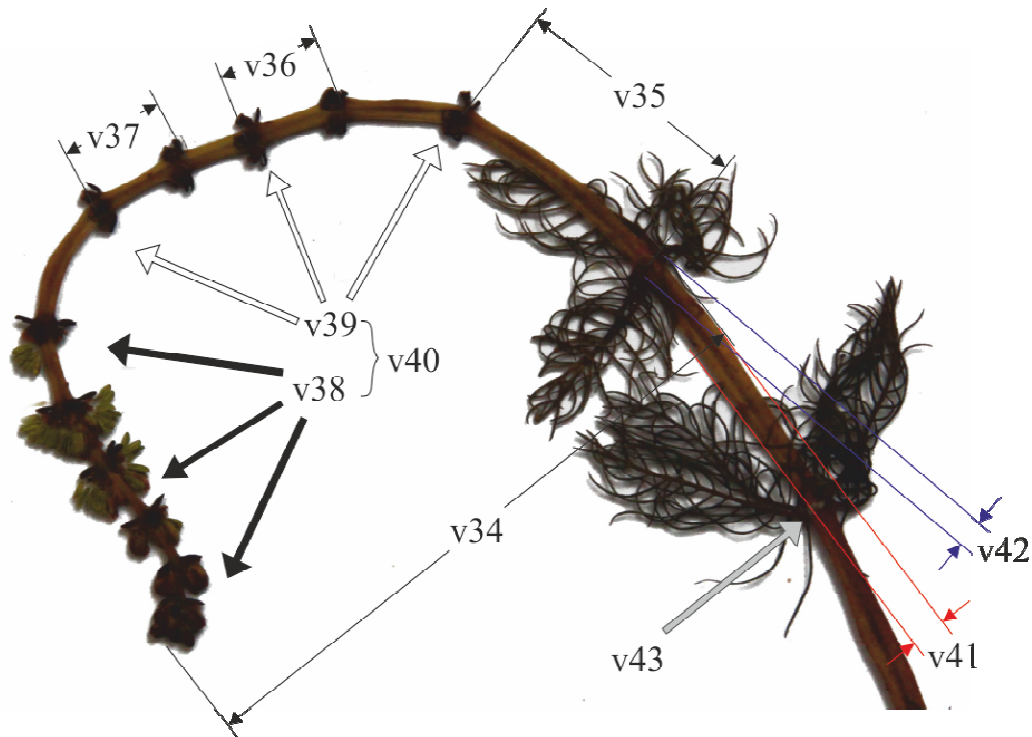
Kód znaku	Znak	Jednotky	Vzorec odvozeného znaku
v1	délka listu	mm	
v2	délka 1. úkrojku	mm	
v3	délka 3. úkrojku	mm	
v4	délka 5. úkrojku	mm	
v5	délka 7. úkrojku	mm	
v6	vzdálenost mezi 3. a 4. úkrojkem	mm	
v7	vzdálenost mezi 5. a 6. úkrojkem	mm	
v8	vzdálenost mezi 7. a 8. úkrojkem	mm	
v9	délka nejdelšího úkrojku	mm	
v10	pořadí nejdelšího úkrojku	pořadí	
v11	vzdálenost nejdelšího úkrojku od báze listu	mm	
v12	počet listů v přeslenu	počet	
v13	délka internodia nad přeslenem	mm	
v14	délka internodia ve vzd. 5 cm od vzr. vrcholu	mm	
v15	délka internodia ve vzd. 10 cm od vzr. vrcholu	mm	
v16	délka internodia ve vzd. 15 cm od vzr. vrcholu	mm	
v17	počet internodií ve vzd. 0-5 cm od vzr. vrcholu	počet	
v18	počet internodií ve vzd. 15-20 cm od vzr. vrcholu	počet	
v19	počet internodií ve vzd. 25-30 cm od vzr. vrcholu	počet	
v20	počet internodií ve vzd. 35-40 cm od vzr. vrcholu	počet	
v21	počet všech úkrojků	počet	
v22	předpokládané rozestupy úkrojků	mm	$=v1/(v21/2)$
v23	průměrné rozestupy úkrojků	mm	$=(v6+v7+v8)/3^*$
v24	relativní velikost 3. úkrojku ku 1. úkrojků	poměr	$=v3/v2$
v25	relativní velikost 5. úkrojku ku 3. úkrojků	poměr	$=v4/v3$
v26	relativní velikost 7. úkrojku ku 5. úkrojků	poměr	$=v5/v4$
v27	relativní velikost 5. úkrojku ku 1. úkrojků	poměr	$=v4/v2$
v28	relativní velikost 7. úkrojku ku 1. úkrojků	poměr	$=v5/v2$
v29	relativní velikost 7. úkrojku ku 3. úkrojků	poměr	$=v5/v3$
v30	relativní délka listu ku délce internodia nad přeslenem	poměr	$=v1/v13$
v31	relativní pořadí nejdelšího úkrojku ku celkovému počtu párů úkrojků	poměr	$=v10/v21$
v32	průměrná délka internodia ve vzd. 0-15 cm od vzr. vrcholu	mm	$=(v14+v15+v16)/3$
v33	průměrný počet internodií ve vzd. 0-40 cm od vzr. vrcholu	počet	$=(v17+v18+v19)/3$

*pozn. u jedinců *M. alterniflorum* s < 8 úkrojky použit vzorec $=(v6+v7)/2$

3. Metodika

Tab. 3: Primární a odvozené znaky na generativních částech zjišťované morfometricky.

Kód znaku	Znak	Jednotky	Vzorec odvozeného znaku
v34	délka květenství	mm	
v35	délka 1. internodia od báze květenství	mm	
v36	délka 3. internodia od báze květenství	mm	
v37	délka 5. internodia od báze květenství	mm	
v38	počet přeslenů samčích květů	počet	
v39	počet přeslenů samičích květů	počet	
v40	počet přeslenů všech květů	počet	
v41	maximální šířka 1. internodia pod květenstvím	mm	
v42	šířka nodu báze květenství	mm	
v43	přítomnost/nepřítomnost květů v 1. přeslenu listů	0–1	
v44	relativní délka květenství ku počtu přeslenů všech květů	poměr	$=v34/v40$
v45	průměrná délka internodia v květenství	mm	$=(v35+v36+v37)/3$
v46	maximální šířka 1. internodia pod květenstvím ku šířce nodu báze květenství	poměr	$=v41/v42$



Obr. 28: Znaky na květenství a pod květenstvím měřené morfometricky. Vysvětlivky znaků viz Tab. 2.

3.3.3 Statistické zpracování morfometrických dat

Matice pro multivariální analýzy byla získána zprůměrováním hodnot ze 6 listů na jedince a doplněna o hodnoty zjišťované na lodyze. u některých rostlin, zvláště pak takových, kterým chyběl vegetační vrchol, a zároveň nebylo položku možné nahradit lepší, byl za chybějící data doplněn průměr za celou populaci. u znaků na generativních orgánech byly chybějící údaje nahrazeny druhovým průměrem. Pro vypočtení znaku *průměrné rozestupy úkrojků* (v23) bylo proto použito u některých *M. alterniflorum* pouze 2 údajů (v6 a v7), jelikož *znak vzdálenost mezi 7. a 8. úkrojkem* v8 často nebylo možné u tohoto druhu změřit. Matice obsahovala jak jedince určené spolehlivě na základě morfologie, cytometrie či analýzy ITS a mikrosatelitů (Kávová, unpubl.), tak i jedince s nejistým určením. S těmito jedinci bylo v analýzách zacházeno jako s „pasivními“.

Morfometrická data byla analyzována v programu R 3.1.3 (R Core Development Team, 2015) s doplňujícími balíčky *class* (Venables & Ripley, 2002), *lattice* (Sarkar, 2008), *permut* (Simpson, 2014) a *vegan* (Oksanen et al., 2015) za použití sady funkcí *MorphoTools* (Koutecký, 2015).

Pro vypočtení základních statistik (průměr, směrodatná odchylka, minimum, maximum, dolní kvartil [25 %], horní kvartil [75 %] a medián) u každého znaku byla použita funkce *descr.tax*. Znaky byly testovány na normální rozdělení dat za pomoci Shapiro-Wilkova testu (funkce *shapiro.test*). Z 31 znaků jich 23 vykazovalo odchylku od normálního rozdělení (hodnoty Shapiro-Wilkova testu <0,95), a proto v analýzách, pro které bylo normální rozdělení dat nutné, byly zvoleny neparametrické metody. Matice byla také podrobena testu korelace znaků (funkce *cormat.s*) a byl z ní vyřazen vždy jeden ze dvojice znaků, která měla Spearmanův korelační koeficient > |0,95| (dle Marhold & Suda, 2002, viz Příloha 5 a 6). Pro účely kanonické diskriminační analýzy bylo nutné vyřadit rovněž znak v21 – *počet párů úkrojků*, který byl použit k *a priori* odlišení *M. sibiricum* a *M. spicatum*.

Z upravené matice byla spočítána analýza hlavních koordinát (PCA, funkce *pca.calc*), aby byla zjištěna základní struktura dat. Pro odhalení znaků, které nejvíce přispívají k rozdělení jedinců do příslušných taxonomických skupin, byla provedena kanonická diskriminační analýza (CDA, funkce *discr.calc*) na několika taxonomických a prostorových úrovních. K ověření spolehlivosti určení jedinců do předem definovaných skupin a zároveň vhodnosti vybraných znaků k determinaci taxonů *Myriophyllum* byla použita neparametrická klasifikační metoda *k*-nejbližších sousedů (*k*-nearest neighbour, funkce *knn.select* a *knn.classif*). Cílem metody *k*-nejbližších sousedů bylo také za použití hodnot znaků u dobře definovaných jedinců zařadit jedince s přechodnými znaky do příslušných taxonů.

3.4 Klíčící experiment

V letech 2012 a 2014 bylo na čtyřech lokalitách v České republice sebráno celkem 3 205 plůdků (merikaripií) druhu *M. spicatum*. Pro zjištění nejlepšího způsobu uchovávání plůdků, byly plůdky před započtím experimentu skladovány dvojím způsobem – ve vodě či na vzduchu. Ve vodě byly plůdky

3. Metodika

ponechány buďto spolu s vrcholovými částmi nesoucí květenství, nebo byly z klasů vyloupany a přechovávány jen s minimem další organické hmoty.

3.4.1 Režimy klíčení a postup zjišťování klíčivosti plůdků

V roce 2013 a 2015 byly plůdky klíčeny za působení několika odlišných kombinací klíčících podmínek (viz Tab. 4 a Tab. 5). Uvedené podmínky byly zvoleny podle údajů uváděných v literatuře (Patten, 1955; Hartleb, Madsen & Boylen, 1993; Xiao et al., 2010), doporučení Lubomíra Adamce (pers. comm.), popřípadě bylo využito nastavení pro cizí experimenty probíhající v růstových komorách.

Tab. 4: Nastavení teplot a poměru světla a tmy (den:noc) u jednotlivých klíčících experimentů (T1 a T2 – lednice, T3–T6 růstová komora, T7 – improvizovaná růstová komora se světelnými diodami bez možnosti regulování teploty)

Kód režimu	Teplota na světle (den)	Teplota ve tmě (noc)	Světlo : tma
T1	–	2 °C	0 hod : 24 hod
T2	–	4–6,5 °C	0 hod : 24 hod
T3	15–17 °C	7 °C	12 hod : 12 hod
T4	16 °C	10 °C	14 hod : 10 hod
T5	22 °C	12 °C	13 hod : 11 hod
T6	22 °C	18 °C	12 hod : 12 hod
T7	25–30 °C	20–25 °C	14 hod : 10 hod

Tab. 5: Populace a počet plodů v různých nastaveních klíčících podmínek (● počet zahrnuje i plůdky, které byly klíčeny také v jiných podmínkách; S – světlo, T – tma)

Populace	Počet plůdků u konkrétního režimu								Počet plůdků uchovávaných		Celkem plůdků		
	T1	T2	T3		T4	T5		T7		ve vodě		na vzduchu	
			S	T		S	T	S	T				
2013													
E-CZ-MS002		57			57			57			–	171	171
E-CZ-JC01		50			51			51			–	152	152
E-CZ-JC02		73			73			74			–	220	220
2015													
E-CZ-MS002	1 317●	1 329●	200	200		200	200		364	234	1 329	131	1 460
E-CZ-JM08	458●	621●	100	100		100	83		100	98	621	581	1 202
												3 205	

V roce 2013 bylo zkušebně klíčeno 543 plůdků ze tří populací (E-CZ-MS002, E-CZ-JC01 a E-CZ-JC02), aby bylo stanoveno, zda jsou plůdky z našich podmínek schopné klíčení. Plůdky byly klíčeny po dobu 58 dnů v režimech T2, T4 a T6. Z výsledků tohoto předběžného experimentu vyplývalo, že klíčivost plůdků v režimu T2 je u dvou populací nízká (1–4%), a proto byly plůdky nasbírané v roce 2014 skladovány ve vodě v režimu T2. Oproti očekávání však část plůdků uchovávaných ve vodě s minimem organické hmoty ještě před započítáním experimentu naklíčila. Po 6.5 měsících v roce 2015 byly tudíž tyto plůdky spočítány a s nevyklíčenými plůdky byly zahájen experiment v režimu T1. Z technických důvodů nebylo možné v roce 2015 nastavit klíčící podmínky

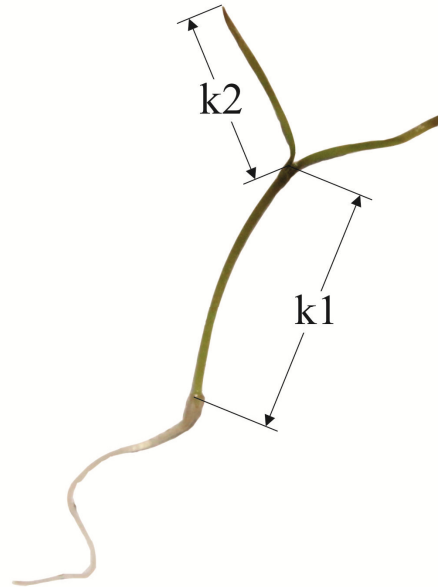
na shodné nastavení teplot jako v roce 2013 a další plůdky byly klíčeny v režimech T3 a T5. Režim T7 byl navolen podle doporučení Lubomíra Adamce (pers.comm.); podle něhož by za těchto podmínek měly vodní rostliny klíčit nejlépe.

Aby byl ověřen výsledek studií, ve kterých autoři usuzují, že klíčovým faktorem určující klíčivost plůdků *M. spicatum* je teplota a ne intenzita světla (Hartleb, Madsen & Boylen, 1993), byla v roce 2015 přibližně polovina plůdků nakličována na světle (režim *světlo*, *S*) a druhá polovina bez přístupu světla v černých sáčcích (režim *tma*, *T*; viz Obr. 29).



Obr. 29: Improvizovaná klíčící komora s LED diodami bez možnosti regulace teploty (režim T7); černé sáčky napravo obsahují Petriho misky s plůdky klíčenými bez přístupu světla (režim T7 (T)).

V roce 2015 byly naklíčené plůdky počítány v periodě 3 dnů. Pro porovnání rychlosti klíčení v prvních dnech experimentu byla digitálním posuvným měřítkem u vyklíčených rostlin změřena délka hypokotylu (k_1) a jednoho děložního listu (k_2 , viz Obr. 30) v počtu 40 jedinců na populaci, či méně, pokud plůdky neklíčily.



Obr. 30: Znaky měřené na vyklíčených rostlinách v klíčících režimech T3, T5 a T7. Znak k1 – délka hypokotyly (mm), znak k2 – délka děložního listu (mm).

3.4.2 Hodnocení klíčivosti plůdků

V programu MS Excel 2007 byly vytvořeny diagramy porovnávající dynamiku klíčení v jednotlivých režimech a populacích. Hodnoty znaků *délka hypokotyly* (k1) a *délka děložního listu* (k2) byly sečteny (k1+k2) a porovnány mezi jednotlivými skupinami za použití krabicových diagramů v programu R 3.1.3 (R Core Development Team, 2015, funkce *boxplot*). Kvůli nízkému počtu údajů byly pro statistické zpracování délky klíčků používány neparametrické metody; pouze v případě režimu T5, bylo možné po stanovení normálního rozdělení dat (funkce *shapiro.test*) použít parametrický dvoustranný t-test (funkce *t.test*, $\alpha = 5\%$), při porovnávání populací E-CZ-MS002 a E-CZ-JM08 mezi sebou neměla data normální rozdělení a byl použit neparametrický Wilcoxonův test (funkce *wilcox.test*, $\alpha = 5\%$).

3.5 Ekologické nároky

K prohloubení znalostí o ekologických nárocích *Myriophyllum* v Evropě, na 135 evropských, z nichž 24 lokalit hostilo dva druhy *Myriophyllum*) bylo zjišťováno několik parametrů prostředí v místě růstu konkrétního druhu *Myriophyllum* (viz Tab. 6). Aby se na výzkumu mohlo podílet více botaniků, byly na lokalitách sledovány takové parametry prostředí, které lze stanovit jednoduše a rychle bez zvláštních požadavků na vybavení. To je také důvodem, proč nebylo analyzováno např. chemické složení vody a substrátu, jejichž znalost může velice dobře objasnit strukturu rozšíření jednotlivých druhů stolístků (Klosowski & Tomaszewicz, 1989).

Pokud byl materiál získán z naplavených částí rostlin u břehu, bylo možné odečíst pouze parametry p1, p5 a p6, u menších vodních těles i parametr p8. u druhu *M. alterniflorum* a několika

populací dalších druhů, které se vyskytovaly v mělkých vodách, nebylo možné zjistit průhlednost vody. Do parametru p1 byla tudíž zaznamenána maximální hloubka vodního sloupce a vytvořen poměrový znak p7 – největší hloubka, kde *Myriophyllum* rostlo (p2) ku průhlednosti (p1). K dispozici byly také údaje ze 128 lokalit (tj. 141 populací) v Severní Americe.

Tab. 6: Sledované parametry prostředí na lokalitách v místě, kde rostlo *Myriophyllum*.

Kód parametru	Parametr	Jednotky, škály
p1	průhlednost vody	cm
p2	největší hloubka, kde <i>Myriophyllum</i> rostlo	cm
p3	struktura podloží	1 – bahnité, 2 – písčité, 3 –kamenité, 4 – bahnito-písčité, 5 – bahnito-kamenité, 6 – písčito-kamenité, 7 – bahnito-písčito-kamenité
p4	tloušťka vrstvy bahna	cm
p5	rychlost proudění vody	1 – stojatá, 2 – pomalu tekoucí, 3 – rychle tekoucí
p6	nadmořská výška	m.n.m.
p7	největší hloubka, kde <i>Myriophyllum</i> rostlo ku průhlednosti vody (tj. p2/p1)	poměr
p8	další vodní makrofyta (do vzdálenosti cca 500 m)	výčet jedinců viz Příloha 3.

Parametry prostředí byly hodnoceny v programu CANOCO 5 (Braak & Šmilauer, 2012; chybějící údaje byly doplněny druhovým průměrem). Prvotní výsledky však neměly vysokou vypovídající hodnotu, kvůli velkému počtu chybějících údajů. Z toho důvodu byly parametry p1–p7 vizualizovány pouze pomocí krabicových diagramů v programu R 3.1.3 (R Core Development Team, 2015, funkce *boxplot*) a parametr p8 je prezentován formou tabulky v Příloze 3.

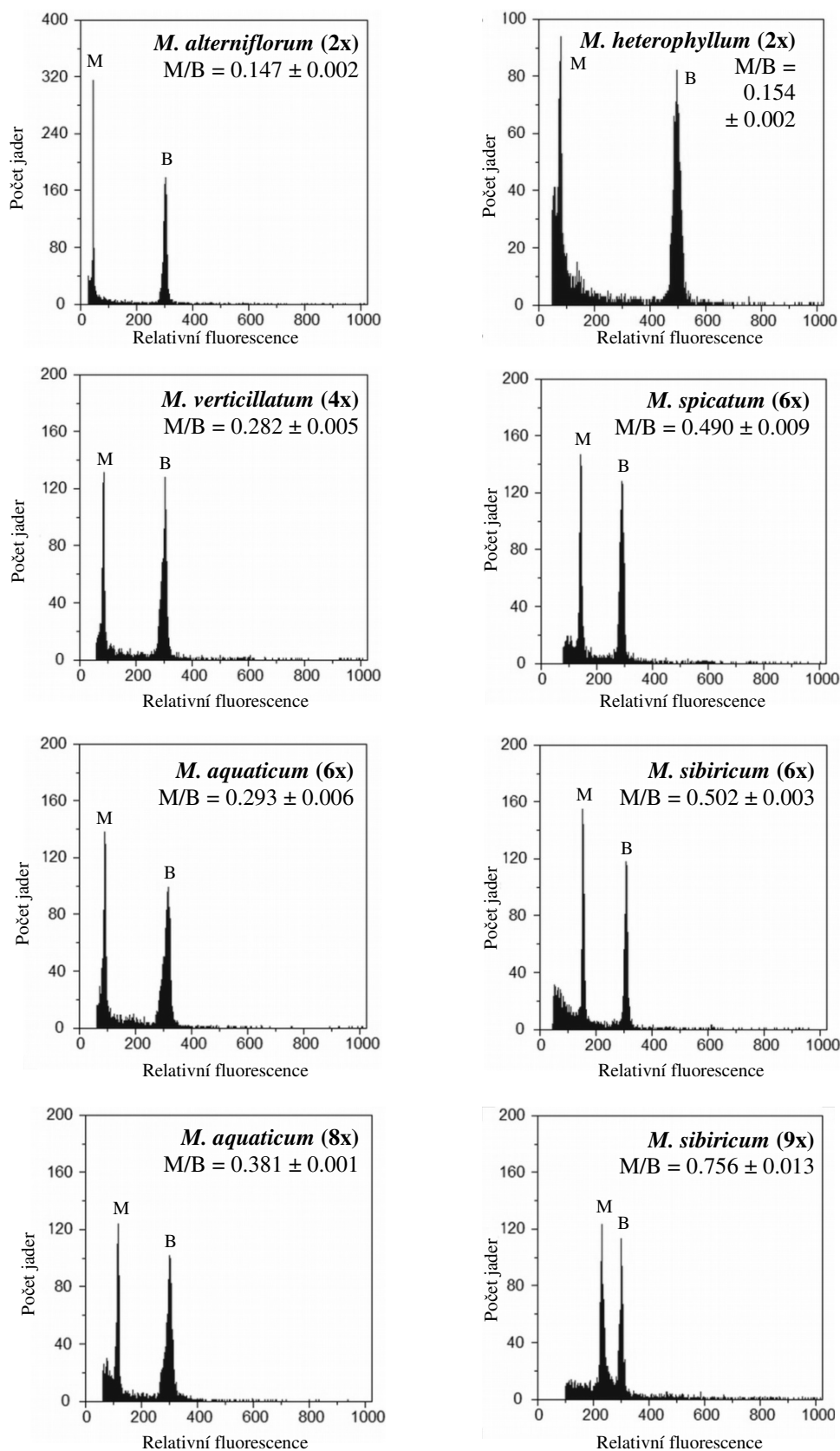
4. Výsledky

V letech 2011–2014 bylo ověřeno 250 evropských lokalit rodu *Myriophyllum*. Nasbíraný materiál posloužil ke stanovení vnitropopulační ploidní variability u 1 897 jedinců a absolutní velikosti genomu u 646 jedinců za pomoci metody průtokové cytometrie. Ve 159 populacích bylo zaznamenáno 7 ekologických faktorů prostředí k určení ekologických nároků jednotlivých druhů. Po odebrání vzorků pro molekulární analýzy bylo přes 700 rostlin zaherbářováno. Na základě morfologie, cytometrických a částečně i molekulárních analýz byli jedinci zařazeni do 6 taxonů – čtyř pro Evropu původních (*M. alterniflorum*, *M. sibiricum*, *M. spicatum* a *M. verticillatum*) a dvou pro Evropu nepůvodních (*M. aquaticum* a *M. heterophyllum*). U čtyř původních evropských druhů bylo 204 herbářových položek využito v morfometrické analýze metodou klasické morfometriky. Jako srovnávací materiál sloužily rostliny získané v rámci terénního výzkumu v Severní Americe pod vedením Barbory Kubátové (Biotechnologické centrum, Zemědělská fakulta, JČU v Č. Budějovicích). Na čtyřech českých lokalitách *M. spicatum* bylo odebráno také přes 3 tisíce plůdků, se kterými byly v roce 2013 a 2015 provedeny klíčící experimenty.

4.1 Průtoková cytometrie

Za pomoci průtokové cytometrie byl stupeň ploidie určen u 1 897 jedinců *Myriophyllum* z 250 evropských populací. Na obrázku 31 jsou ukázány ilustrační grafické výstupy cytometrických analýz pro druhy *Myriophyllum* vyskytující se na území Evropy včetně průměrné relativní fluorescence vzhledem k internímu standardu *Bellis perenis* (3,38 pg DNA, Schönswetter et al., 2007). Všechny předpokládané ploidní úrovně u všech taxonů byly potvrzeny počítáním chromozómů v roztlakových preparátech (provedeno Terezií Mandákovou, CEITEC, Masarykova univerzita, Brno) a cytometrické výstupy tak byly standardizovány.

Na základě těchto dat bylo stanoveno celkem 5 ploidních úrovní: diploidní ($2n = 14$), tetraploidní ($2n = 28$), hexaploidní ($2n = 42$), oktoidní ($2n = 56$) a nonaploidní ($2n = 63$). Koeficienty variance vzorku dosahovaly v průměru 3.17 % (max 6.93 %) a standardu 2 % (maximum 4.28 %).



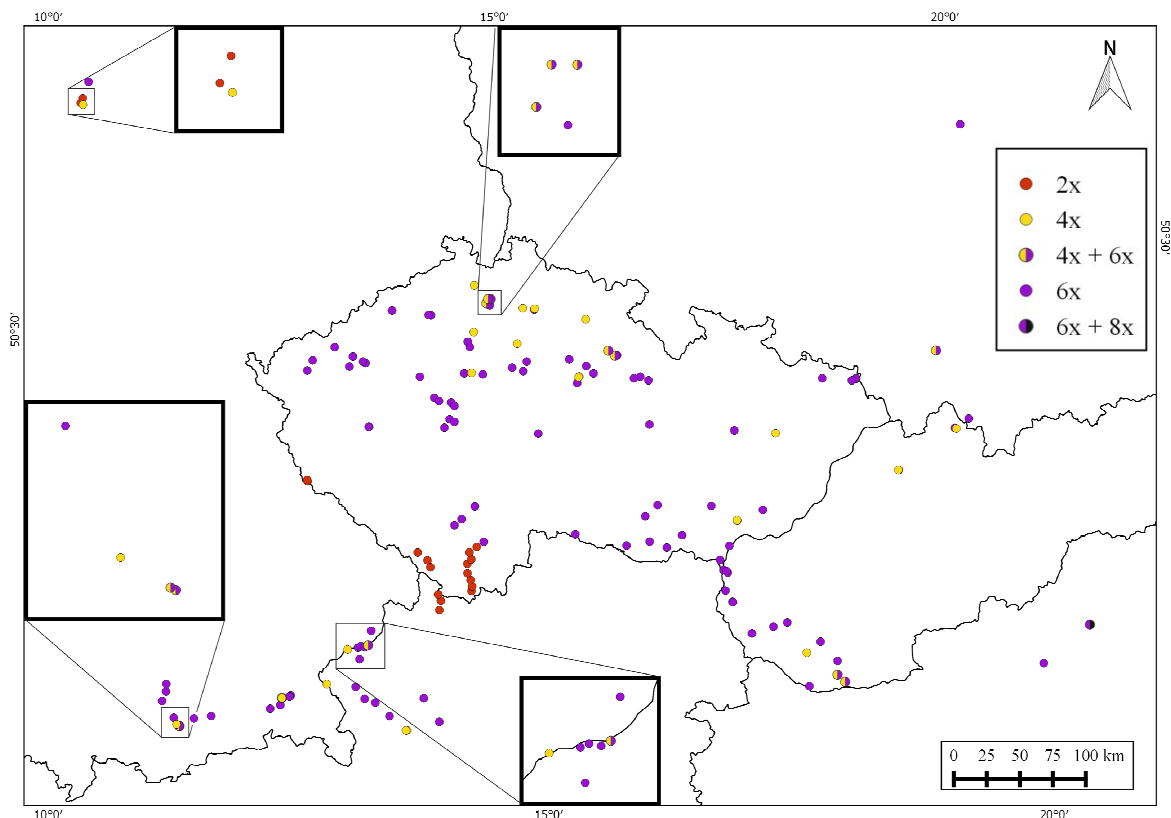
Obr. 31: Ilustrační grafické výstupy cytometrických analýz pro druhy *Myriophyllum* rostoucí v Evropě za použití barviva propidium jodidu (M – vzorek, tj. *Myriophyllum*; B – standard, tj. *Bellis perennis*, 3.38 pg DNA; M/B – průměrná relativní velikost vzorku vůči diploidnímu internímu standardu ± směrodatná odchylka).

4. Výsledky

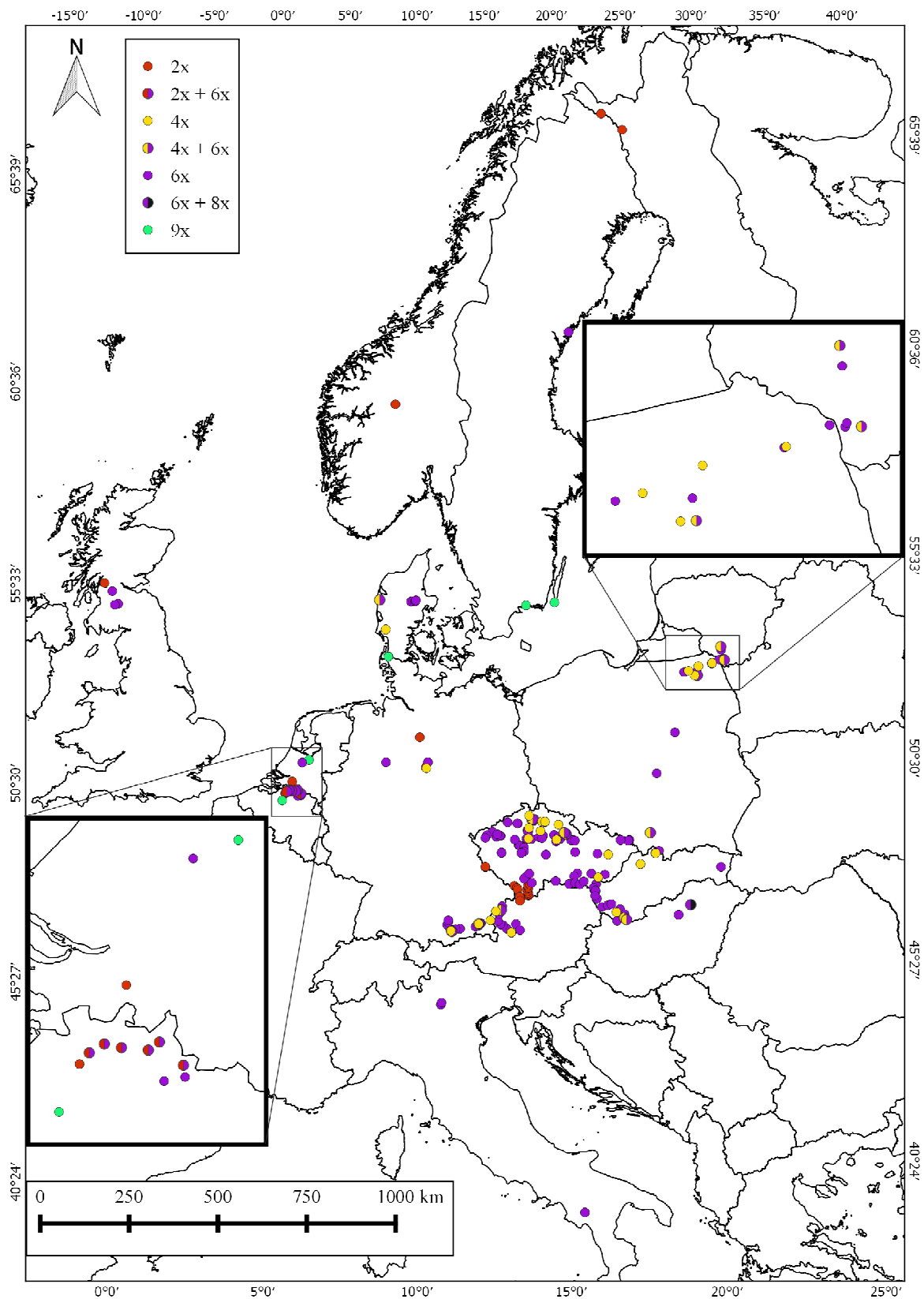
4.1.1 Cytogeografie

Na nalezených lokalitách v Evropě byla u *Myriophyllum* nejčastěji identifikována hexaploidní úroveň (147 populací), kterou vykazovaly druhy *M. aquaticum*, *M. sibiricum* a *M. spicatum*. V hojnosti zastoupení následovala tetraploidní úroveň u *M. verticillatum* (43 populací) a diploidní úroveň u druhů *M. alterniflorum* a *M. heterophyllum* (31 populací). Nonaploidní úroveň byla zjištěna u šesti populací druhu *M. sibiricum* a oktaploidní úroveň pouze v jedné populaci *M. aquaticum*. Triploidní jedinci nebyli na území Evropy nalezeni.

V České republice byl na navštívených lokalitách nejhojněji zastoupen hexaploidní druh *M. spicatum* (66 populací) s poměrně rovnoměrným rozšířením v Čechách i na Moravě. Tetraploidní *M. verticillatum* (17 populací) bylo svým výskytem soustředěno především do oblasti Polabí a severních Čech. Diploidní *M. alterniflorum* (13 populací) bylo až na dvě populace svým rozšířením omezeno pouze na horní tok řeky Vltavy, kde však tvořilo téměř nepřetržitý areál s vysokou denzitou rostlin na jednotku plochy. Rozšíření cytotypů v Evropě ukazuje podrobněji Obr. 33, cytogeografii v České republice a okolních státech ilustruje Obr. 32.



Obr. 32: Rozšíření čtyř cytotypů (2x, 4x, 6x a 8x) rodu *Myriophyllum* v České republice a okolních státech.



Obr. 33: Rozšíření pěti cytotypů (2x, 4x, 6x, 8x a 9x) rodu *Myriophyllum* v Evropě.

4. Výsledky

Vnitrodruhová cytotypová variabilita byla detekována u dvou druhů: (i) pro Evropu původní druh *M. sibiricum* (6x a 9x) a (ii) pro Evropu nepůvodní druh *M. aquaticum* získaný v termálně ohřívaném potoce v severním Maďarsku (6x a 8x).

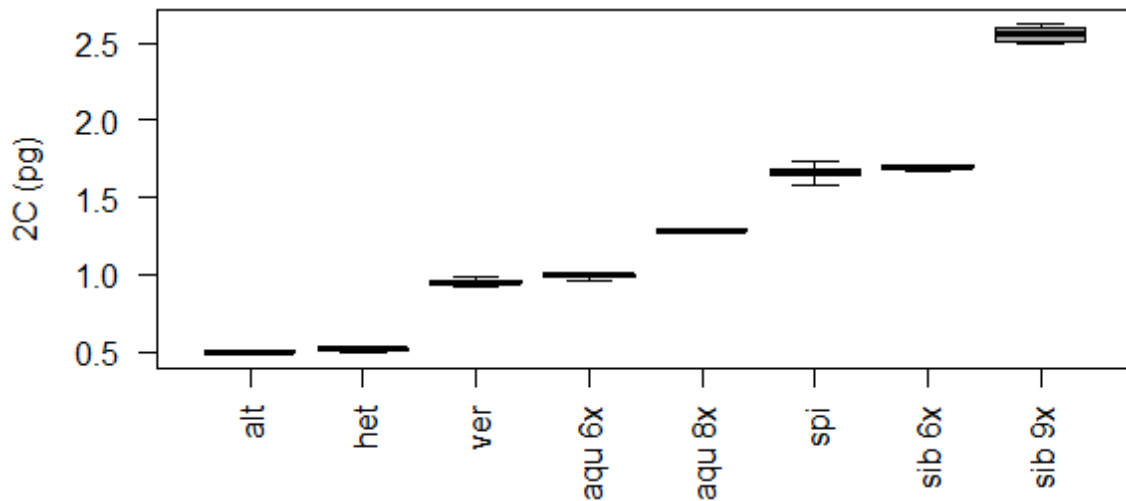
Sympatrický růst dvou odlišných ploidii byl v Evropě zjištěn ve 23 populacích. Nejčastěji se jednalo o hexaploidní *M. spicatum* rostoucí společně s tetraploidním *M. verticillatum* (14 populací) nebo s diploidním *M. heterophyllum* (6 populací). Ve dvou populacích byl zaznamenán také sympatrický výskyt tetraploidního *M. verticillatum* a hexaploidního *M. sibiricum*. Poslední cytotypově heterogenní populací je výše zmíněná maďarská populace s hexaploidním a oktoploidním *M. aquaticum*. Zbytek populací byl ploidně jednotný.

4.1.2 Velikost genomu

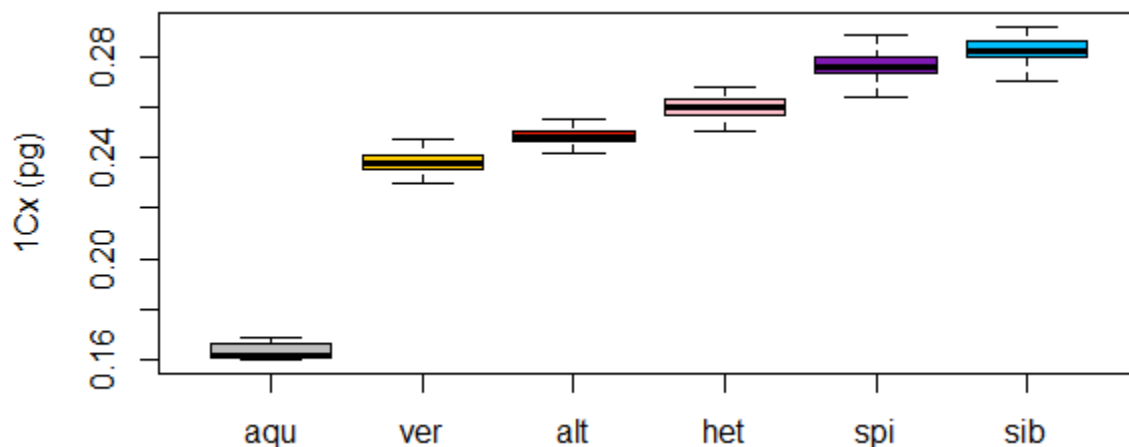
Absolutní velikost genomu byla změřena u 646 jedinců *Myriophyllum* z 250 evropských populací. Jedinci s odlehými velikostmi genomu byli z dalších analýz vyřazeni. Průměrný obsah DNA somatických buněk (2C hodnoty; bez ohledu na ploidii, tzv. holoploidní velikost genomu) a průměrný obsah DNA haploidního genomu (1Cx hodnoty; 2C hodnoty dělené ploidii, tzv. monoploidní velikost genomu) spolu s dalšími charakteristikami jednotlivých druhů jsou uvedeny v Tab. 7. Vnitrodruhová variabilita v absolutní velikosti genomu činila u většiny studovaných druhů 5–7 %, u *M. verticillatum* variabilita dosahovala 7.7 % a u *M. spicatum* dokonce 9.3 %. Grafické znázornění porovnání absolutních (2C hodnoty) a monoploidních (1Cx hodnoty) velikostí genomu mezi jednotlivými druhy a cytotypy ukazují Obr. 34 a 35.

Tab. 7: Absolutní velikosti genomu druhů *Myriophyllum* rostoucí v Evropě se standardem *Bellis perennis* – 3.38 pg DNA (2n – chromozomové číslo, N_p – počet populací, N_j – počet analyzovaných rostlin, V – vnitrodruhová variabilita – max/min; tučná čára odděluje pro Evropu původní a nepůvodní druhy).

Druh	2n	Ploidie	N _p	N _j	Průměrná 2C hodnota ± s.d. (pg)	Rozsah 2C hodnot (pg)	V (%)	Průměrná 1Cx hodnota (pg)
<i>M. alterniflorum</i>	14	2x	24	52	0.497 ± 0.007	0.483 – 0.511	5.8	0.248
<i>M. verticillatum</i>	28	4x	46	125	0.953 ± 0.015	0.918 – 0.989	7.7	0.238
<i>M. spicatum</i>	42	6x	159	394	1.657 ± 0.030	1.570 – 1.736	9.3	0.276
<i>M. sibiricum</i>	42	6x	3	13	1.697 ± 0.012	1.672 – 1.711	2.3	0.283
	63	9x	6	22	2.554 ± 0.045	2.494 – 2.626	5.3	0.284
<i>M. heterophyllum</i>	14	2x	10	28	0.519 ± 0.008	0.501 – 0.536	7.0	0.260
<i>M. aquaticum</i>	42	6x	1	4	0.922 ± 0.021	0.963 – 1.011	5.0	0.165
	56	8x	1	3	1.287 ± 0.005	1.282 – 1.291	0.7	0.161



Obr. 34: Porovnání 2C hodnot 641 jedinců z Evropy druhů *M. alterniflorum* (alt; 2x), *M. heterophyllum* (het; 2x), *M. verticillatum* (ver; 4x), *M. aquaticum* (aqu; 6x a 8x), *M. spicatum* (spi; 6x) a *M. sibiricum* (sib; 6x a 9x).



Obr. 35: Porovnání 1Cx hodnot 641 jedinců z Evropy druhů *M. aquaticum* (aqu; 6x a 8x), *M. verticillatum* (ver; 4x), *M. alterniflorum* (alt; 2x), *M. heterophyllum* (het; 2x), *M. spicatum* (spi; 6x) a *M. sibiricum* (sib; 6x a 9x).

Relativní velikost genomu byla posouzena i z hlediska vhodnosti jejího využití pro determinační účely. Většina taxonů má specifickou velikost genomu a jejich determinace pomocí tohoto markeru je zcela jednoznačná. Nicméně u taxonů z blízkou relativní velikostí genomu označených v Tab. 8 není determinace za použití cytometrie možná a musí se využít kombinace jiných metod. Vzájemně nejbližší velikost genomu mají hexaploidní druhy *M. sibiricum* a *M. sibiricum* (2.4 %). Hexaploidní *M. aquaticum* lze kvůli malé velikosti genomu zaměnit s tetraploidním *M. verticillatum* (rozdíl 4.0 %). Ani 4.5 % rozdíl v relativní velikosti genomu diploidních druhů *M. alterniflorum* a *M. heterophyllum* není pro jejich odlišení dostačující (Suda, 2011). Zatímco u diploidů a dvojice *M. aquaticum* a *M. verticillatum* je morfologická rozdílnost značná, u hexaploidů blízkost genomu i morfologická podobnost činí determinaci velice problematickou.

4. Výsledky

Tab. 8: Přehled rozdílnosti (%) průměrných relativních velikostí genomu (M/B) mezi druhy *M. alterniflorum* (alt; 2x), *M. heterophyllum* (het; 2x), *M. verticillatum* (ver; 4x), *M. aquaticum* (aqu; 6x a 8x), *M. spicatum* (spi; 6x) a *M. sibiricum* (sib; 6x a 9x) na území Evropy. Hodnoty <5% jsou růžově podbarveny.

	Taxon	<i>sib 9x</i>	<i>sib 6x</i>	<i>spi</i>	<i>aqua 8x</i>	<i>aqua 6x</i>	<i>ver</i>	<i>het</i>	<i>alt</i>
Taxon	M/B	0.756	0.502	0.490	0.381	0.293	0.282	0.154	0.147
<i>alt</i>	0.147	414.0	241.5	233.5	159.0	99.7	91.9	4.5	0.0
<i>het</i>	0.154	392.1	226.9	219.3	147.9	91.1	83.7	0.0	
<i>ver</i>	0.282	167.8	78.0	73.8	34.9	4.0	0.0		
<i>aqua 6x</i>	0.293	157.5	71.1	67.0	29.7	0.0			
<i>aqua 8x</i>	0.381	98.5	31.9	28.8	0.0				
<i>spi</i>	0.490	54.1	2.4	0.0					
<i>sib 6x</i>	0.502	50.5	0.0						
<i>sib 9x</i>	0.756	0.0							

V populacích, kde bylo pro absolutní velikost genomu změřeno tři a více jedinců byla také spočítána vnitropopulační variabilita v absolutní velikosti genomu (viz Tab. 9). Nejvyšších hodnot variability dosahovala populace *M. spicatum* v severních Čechách (Máchovo jezero – E-CZ-Machac, 8.3 %).

Tab. 9: Vnitropopulační variabilita v absolutní velikosti genomu u populací se třemi a více zanalyzovanými jedinci (N_p – počet populací, V_p – vnitropopulační variabilita; tučná čára odděluje pro Evropu původní a nepůvodní druhy).

Druh	Ploidie	N_p	Průměr V_p (%)	Rozsah V_p (%)
<i>M. alterniflorum</i>	2x	13	1.5	0.5 – 3.1
<i>M. verticillatum</i>	4x	33	1.5	0.2 – 3.7
<i>M. spicatum</i>	6x	97	1.5	0.2 – 8.3
<i>M. sibiricum</i>	6x	3	1.4	0.9 – 2.2
	9x	4	2.5	0.8 – 3.8
<i>M. heterophyllum</i>	2x	9	2.3	0.8 – 6.0
<i>M. aquaticum</i>	6x	1	5.0	–
	8x	1	0.7	–

Z výsledků post-hoc Tukeyova testu pro 1Cx hodnoty (navazující na analýzu variance: $F = 1633$, $p < 0.001$) vyplývá, že na hladině významnosti $\alpha = 5\%$ lze od sebe odlišit všechny vymezené druhy, jednotlivé cytotypy u *M. sibiricum* a *M. aquaticum* však nikoliv (viz Tab. 10).

Tab. 10: Zařazení druhů *Myriophyllum* do skupin na základě post-hoc Tukeyova testu za použití 1 Cx hodnot evropských jedinců pro $\alpha = 5\%$.

Skupina	Druh	Ploidie	Průměrná 1 Cx hodnota (pg)
a	<i>M. sibiricum</i>	9x	0.2838
		6x	0.2828
b	<i>M. spicatum</i>	6x	0.2762
c	<i>M. heterophyllum</i>	2x	0.2595
d	<i>M. alterniflorum</i>	2x	0.2484
e	<i>M. verticillatum</i>	4x	0.2382
f	<i>M. aquaticum</i>	6x	0.1653
		8x	0.1608

4.1.3 Srovnání velikosti genomu se severoamerickými populacemi

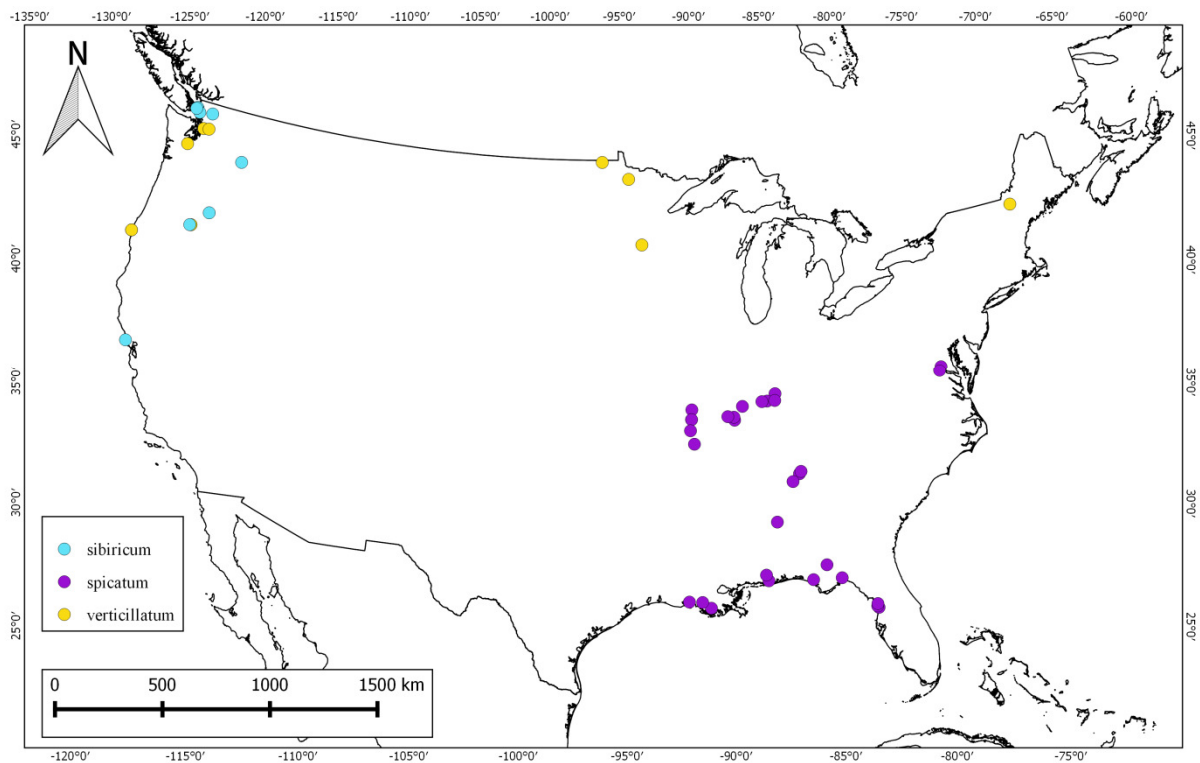
Díky výzkumu Barbory Kubátové et al. byla k dispozici data o velikosti genomu druhů *Myriophyllum* v Severní Americe, a proto byly porovnány také 1Cx hodnoty severoamerických a evropských jedinců. Z druhů rostoucích jak v Americe, tak v Evropě byly ke srovnání vybrány pouze hexaploidní *M. sibiricum* a *M. spicatum* a tetraploidní *M. verticillatum*. Hexaploidní *M. aquaticum*, ani diploidní *M. alterniflorum* nebylo v Severní Americe nalezeno. K porovnávání údajů o oktoploidním *M. aquaticum* a nonaploidním *M. sibiricum* nebyl zanalyzován dostatečný počet jedinců a druh *M. heterophyllum* v Severní Americe zahrnuje pravděpodobně více kryptických taxonů či potenciálních kříženců s nevyjasněnými vztahy a tudíž není možné přesně určit, zda jsou porovnávané skupiny na stejné taxonomické úrovni (Prančl, pers. comm.).

Podobně komplikované vztahy existují také mezi hybridizujícími druhy *M. sibiricum* a *M. spicatum*, přesto je však částečně možné na základě geografie vybrat nehybridogenní jedince. Rozšíření původního *M. sibiricum* je omezeno na západ a sever Spojených států (Aiken, 1981b), nepůvodní *M. spicatum* na jihovýchodě spojených států by proto mělo zahrnovat geneticky „čisté“ jedince (Prančl, pers. comm.). Na základě této úvahy a morfologie bylo vybráno ke srovnání 20 jedinců ze 7 populací hexaploidního *M. sibiricum* na SZ USA a 83 jedinců *M. spicatum* z 32 populací na JV USA. Umístění všech vybraných lokalit v Severní Americe, včetně *M. verticillatum* (33 jedinců, 8 populací), ukazuje Obr. 36. Nelze však vyloučit možnost zavlečení hybridních rostlin z parapatrickým či sympatrickým výskytem obou druhů i na jihovýchod USA, a proto by bylo třeba ověřit tento předpoklad také molekulárními metodami.

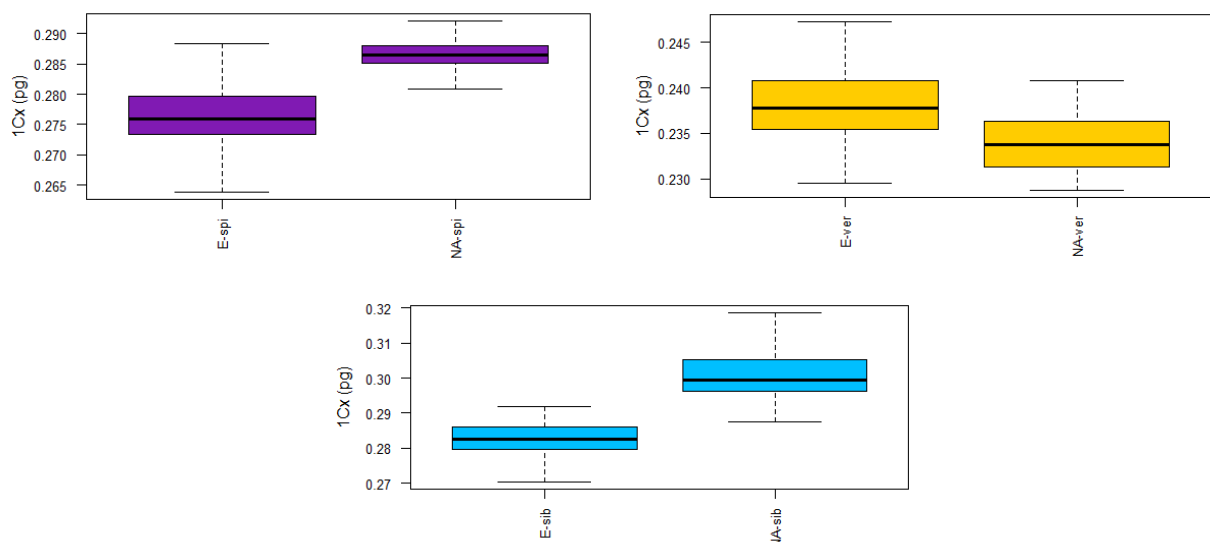
Z krabicových diagramů porovnávajících 1Cx hodnoty (viz Obr. 37) je zřejmé, že se jednotlivé druhy liší ve velikosti genomu v závislosti na geografické poloze. Hexaploidi vykazují vyšší 1Cx hodnoty v Severní Americe, tetraploidi naopak nižší. Rozdíl ve velikosti byl detekován také v několika

4. Výsledky

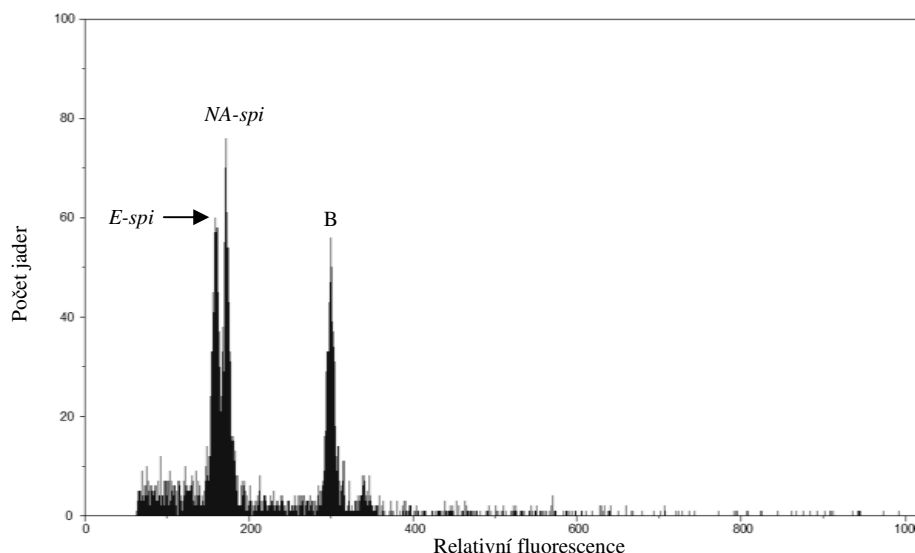
simultánních analýzách severoamerických a evropských jedinců *M. spicatum*; např. rozdíl ve velikosti genomu *M. spicatum* na Obr. 37 je 1.66 pg DNA.



Obr. 36: Přehled severoamerických populací, ze kterých pocházeli jedinci druhů *M. sibiricum* (6x; 20 jedinců), *M. spicatum* (6x; 83 jedinců) a *M. verticillatum* (4x; 33 jedinců) určení ke srovnání monoploidní velikosti genomu s evropskými populacemi.



Obr. 37: Párové porovnání 1Cx hodnot jedinců ze Severní Ameriky (NA-) a z Evropy (E-) druhů *M. sibiricum* (6x; sib), *M. spicatum* (6x; spi) a *M. verticillatum* (4x; ver).



Obr. 38: Simultánní analýza *M. spicatum* z Evropy (*E-spi*; E-CZ-Zeleznice-Hluboky-1) a ze Severní Ameriky (*NA-spi*; NA-LO-FL40-4) za použití selektivního barviva DAPI (4',6-diamino-2-fenylindol); B – standard *Bellis perennis* (2C = 3.38 pg).

Jelikož Kruskal-Wallisův test prokázal, že rozdíly mezi 1Cx hodnotami (viz Tab. 12) srovnávaných druhů z odlišných areálů jsou alespoň u některých skupin signifikantní ($p < 0.001$), bylo přikročeno k mnohonásobnému párovému porovnávání za použití post-hoc Nemenyiova testu (viz Tab. 11).

Tab. 11: Výsledky post-hoc Nemenyiova testu ($\alpha = 5\%$; $p > 0.05$ růžově podbarveno) srovnávající 1Cx hodnoty evropských (E-) a severoamerických (NA-) jedinců druhů *M. sibiricum* (*sib*), *M. spicatum* (*spi*) a *M. verticillatum* (*ver*).

	E- <i>sib</i>	E- <i>spi</i>	E- <i>ver</i>	NA- <i>sib</i>	NA- <i>spi</i>
E- <i>spi</i>	< 0.001	–	–	–	–
E- <i>ver</i>	< 0.001	< 0.001	–	–	–
NA- <i>sib</i>	0.23	< 0.001	< 0.001	–	–
NA- <i>spi</i>	0.58	< 0.001	< 0.001	0.88	–
NA- <i>ver</i>	< 0.001	< 0.001	0.90	< 0.001	< 0.001

Tab. 12: Průměrné 1Cx hodnoty druhů *M. sibiricum*, *M. spicatum* a *M. verticillatum* na území Evropy (E-) a Severní Ameriky (NA-).

Druh	Ploidie	Průměrná 1 Cx hodnota (pg)
NA- <i>M. sibiricum</i>	6x	0.3014
NA- <i>M. spicatum</i>	6x	0.2867
E- <i>M. sibiricum</i>	6x	0.2819
E- <i>M. spicatum</i>	6x	0.2762
E- <i>M. verticillatum</i>	4x	0.2384
NA- <i>M. verticillatum</i>	4x	0.2338

4.2 Morfometrické analýzy

Pro morfometrickou analýzu bylo využito 305 jedinců z Evropy a Severní Ameriky (viz Tab. 13). Rostliny byly určeny do druhu na základě morfologie, ploidie a částečně i sekvencí ITS a mikrosatelitů (viz Tab. 15). Zatímco diploidní *M. alterniflorum* a tetraploidní *M. verticillatum* lze jednoduše rozlišit pomocí průtokové cytometrie, u hexaploidních druhů *M. sibiricum* a *M. spicatum* s velice blízkou velikostí genomu to není možné, druhy jsou navíc morfologicky velice obtížně rozlišitelné (viz kap 4.1.2). Do analýz byli tudíž zahrnuti jak morfologicky zřetelně odlišitelní jedinci, tak i 16 hexaploidních rostlin s přechodnými znaky, které byly zařazeny do skupiny *M. spicatum-sibiricum* a v analýzách bylo s daty na příslušné taxonomické úrovni zacházeno jako s "pasivními". u 46 jedinců, kteří nepostrádali květenství, byly rovněž měřeny znaky na generativních orgánech (viz Tab. 14).

Tab. 13: Počet analyzovaných jedinců pro účely klasické morfometrie. Skupina *M. spicatum-sibiricum* zahrnuje jedince s intermediárními znaky mezi těmito dvěma druhy.

Druh/skupina	Počet měřených jedinců		
	Evropa	Severní Amerika	Celkem
<i>M. alterniflorum</i>	46	–	46
<i>M. sibiricum</i>	17	27	44
<i>M. spicatum</i>	72	61	133
<i>M. spicatum-sibiricum</i>	3	13	16
<i>M. verticillatum</i>	66	–	66
			305

Tab. 14: Počet jedinců, u kterých byly měřeny znaky na vegetativních i generativních orgánech.

Druh	Počet měřených jedinců		
	Evropa	Severní Amerika	Celkem
<i>M. sibiricum</i>	5	5	10
<i>M. spicatum</i>	24	1	25
<i>M. verticillatum</i>	11	–	11
			46

Tab. 15: Počet molekulárně ověřených jedinců (ITS a mikrosatelity) zahrnutých do morfometrických analýz.

Druh	Jedinci		
	Evropa	Severní Amerika	Celkem
<i>M. alterniflorum</i>	–	–	–
<i>M. sibiricum</i>	6 x	1	3
	9 x	3	–
<i>M. spicatum</i>	8	12	20
<i>M. verticillatum</i>	1	–	1
			28

4.2.1 Znaky na vegetativních orgánech

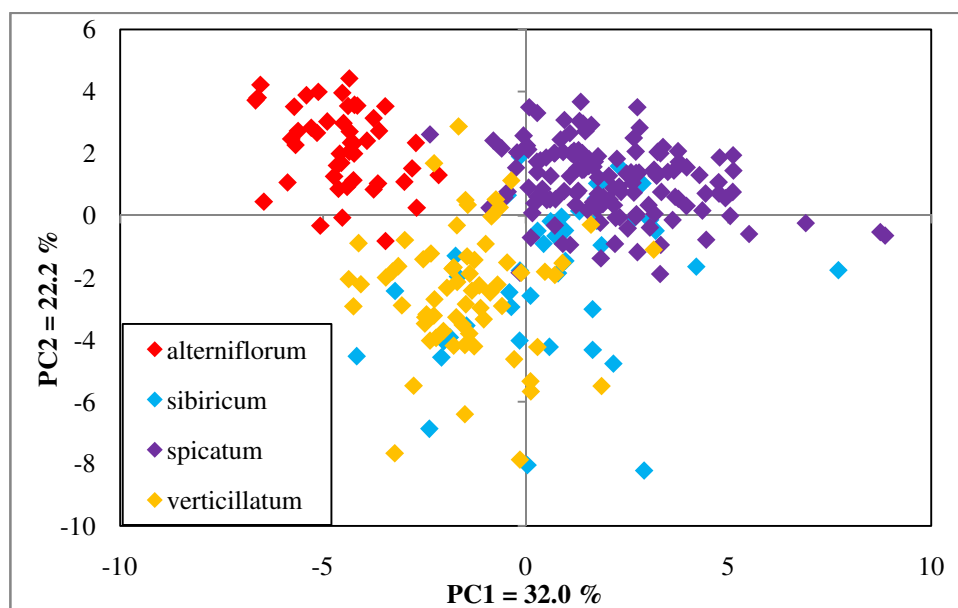
Na vegetativních orgánech bylo měřeno celkem 21 primárních znaků a 12 odvozených znaků (viz kap. 3.3). Základní popisné statistiky pro jednotlivé znaky (průměr, směrodatná odchylka, minimum, maximum, 5% a 95% kvantil) uvádí Tab. 16. Na základě testu korelace znaků za použití Spearmanova korelačního koeficientu byly z matice všech druhů vyřazeny znaky v4, v7, v21 a v27, jelikož vykazovaly těsnou vazbu s dalšími znaky (hodnota koeficientu $> |0.95|$; Marhold & Suda, 2002). Konkrétní hodnoty Spearmanova korelačního koeficientu jsou uvedeny v Příloze 6. Znak v21, který je považován za hlavní znak, podle kterého jsou rozlišovány druhy *M. sibiricum* a *M. spicatum*, byl pro účely kanonické a klasifikační diskriminační analýzy vyloučen v porovnávání skupin obsahující tyto dva druhy. Test korelace znaků byl proveden opakovaně u jednotlivých podskupin, přehled vyřazených znaků na všech úrovních viz Příloha 5.

4. Výsledky

Tab. 16: Základní popisné statistiky znaků v1–v33 druhů *M. alterniflorum* (ALT), *M. sibiricum* (SIB), *M. spicatum* (SPI) a *M. verticillatum* (VER) na základě údajů z Evropy i Severní Ameriky. Slovní popis znaků a jednotky viz Tab. 2 (s.d. – směrodatná odchylka, R – rozsah, min–max – minimum a maximum, 5–95 % – 5% a 95% kvantil).

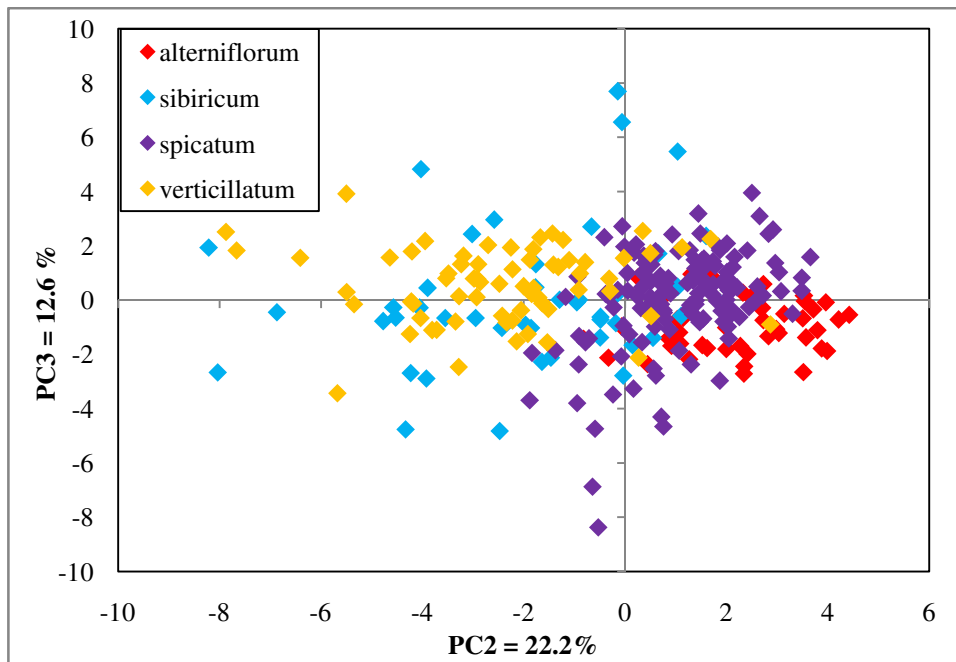
	Znak	v1	v2	v3	v4	v5	v6	v7	v8	v9	v10	v11
ALT	průměr ± s.d.	9.42 ± 2.22	4.75 ± 1.03	7.65 ± 1.53	9.44 ± 2.02	8.86 ± 2.36	1.30 ± 0.29	1.21 ± 0.31	0.98 ± 0.31	10.21 ± 2.21	5.70 ± 0.80	2.03 ± 0.56
	R (5–95%)	6.36–13.04	3.14–6.50	5.61–10.48	6.36–13.61	5.43–13.29	0.92–1.81	0.73–1.69	0.61–1.52	7.71–13.96	4.30–6.95	1.33–2.91
	R (min–max)	5.81–13.30	2.83–7.05	4.43–10.92	5.81–14.00	4.14–14.38	0.86–2.18	0.61–1.89	0.24–1.62	6.00–15.48	3.20–7.30	0.98–3.21
SIB	průměr ± s.d.	20.36 ± 4.54	2.70 ± 1.70	8.36 ± 3.44	12.13 ± 4.10	13.80 ± 4.50	2.09 ± 0.68	1.69 ± 0.47	1.71 ± 0.55	14.81 ± 4.50	7.66 ± 1.53	5.48 ± 1.55
	R (5–95%)	14.41–28.22	0.60–4.93	3.25–13.83	6.48–18.27	7.98–22.12	1.18–3.43	1.10–2.62	1.02–2.74	8.49–21.93	5.38–10.29	3.46–7.88
	R (min–max)	13.54–35.29	0.46–8.21	3.02–18.32	5.23–22.95	6.81–25.89	0.88–3.56	0.85–2.89	0.87–3.08	8.01–26.54	5.20–11.50	3.11–9.78
SPI	průměr ± s.d.	20.00 ± 3.66	1.91 ± 0.79	4.93 ± 1.55	7.22 ± 1.92	8.86 ± 2.10	1.15 ± 0.27	1.04 ± 0.22	0.98 ± 0.22	11.32 ± 2.30	12.19 ± 2.10	6.29 ± 1.83
	R (5–95%)	12.76–26.43	0.92–3.53	3.05–7.94	4.68–10.63	5.88–12.75	0.74–1.60	0.71–1.38	0.66–1.36	7.36–15.51	8.42–15.08	3.41–9.23
	R (min–max)	10.74–28.48	0.66–5.21	1.76–11.33	3.49–14.09	4.71–15.73	0.60–1.85	0.53–1.85	0.50–1.81	6.23–17.45	6.80–17.80	2.20–12.09
VER	průměr ± s.d.	26.93 ± 6.94	4.13 ± 1.50	9.21 ± 2.48	12.41 ± 3.08	14.56 ± 3.66	1.53 ± 0.37	1.40 ± 0.32	1.49 ± 0.39	17.60 ± 5.37	10.60 ± 2.30	9.45 ± 2.63
	R (5–95%)	12.76–26.43	0.92–3.53	3.05–7.94	4.68–10.63	5.88–12.75	0.74–1.60	0.71–1.38	0.66–1.36	7.36–15.51	8.42–15.08	3.41–9.23
	R (min–max)	9.98–48.29	1.47–7.90	4.00–15.10	5.25–19.76	5.54–23.64	0.50–2.38	0.68–2.21	0.87–2.59	5.89–34.56	6.00–14.70	3.01–15.34
ALT	Znak	v12	v13	v14	v15	v16	v17	v18	v19	v20	v21	v22
	průměr ± s.d.	3.89 ± 0.43	5.59 ± 1.40	5.94 ± 1.54	7.03 ± 2.31	7.73 ± 2.23	12.33 ± 2.35	6.77 ± 1.78	6.03 ± 2.23	6.02 ± 1.83	13.56 ± 1.44	1.39 ± 0.29
	R (5–95%)	3.00–4.00	3.56–7.67	3.51–8.91	4.33–11.55	4.76–11.79	8.90–15.85	4.30–10.15	3.53–9.58	4.50–9.53	10.98–15.23	1.01–1.91
SIB	Znak	v23	v24	v25	v26	v27	v28	v29	v30	v31	v32	v33
	průměr ± s.d.	4.05 ± 0.21	12.98 ± 8.76	13.51 ± 9.16	15.04 ± 6.94	16.28 ± 6.65	6.77 ± 3.11	3.54 ± 1.48	2.96 ± 1.11	2.30 ± 0.74	18.47 ± 4.30	2.31 ± 0.71
	R (5–95%)	4.00–4.00	5.42–32.27	5.97–28.10	7.47–25.29	6.46–25.99	2.02–11.24	1.93–6.69	1.32–4.20	1.20–3.49	12.41–24.96	1.45–3.65
SPI	Znak	v34	v35	v36	v37	v38	v39	v40	v41	v42	v43	v44
	průměr ± s.d.	4.00–5.00	4.13–41.47	4.49–55.55	4.83–40.08	6.12–38.70	1.40–11.50	1.10–7.90	0.70–5.90	1.00–3.70	11.70–29.20	1.33–4.12
	R (5–95%)	4.05 ± 0.21	16.99 ± 11.57	13.76 ± 8.05	16.75 ± 9.02	19.49 ± 10.32	6.51 ± 2.28	2.91 ± 1.24	2.44 ± 1.05	2.19 ± 0.92	30.77 ± 5.54	1.32 ± 0.24
VER	Znak	v45	v46	v47	v48	v49	v50	v51	v52	v53	v54	v55
	průměr ± s.d.	4.00–4.00	6.46–32.33	6.56–30.37	8.33–34.98	8.56–38.53	2.10–9.88	1.40–4.88	1.00–4.40	1.10–4.00	21.38–38.62	0.95–1.71
	R (5–95%)	4.00–4.00	6.46–32.33	6.56–30.37	8.33–34.98	8.56–38.53	2.10–9.88	1.40–4.88	1.00–4.40	1.10–4.00	21.38–38.62	0.95–1.71
ALT	Znak	v56	v57	v58	v59	v60	v61	v62	v63	v64	v65	v66
	průměr ± s.d.	1.22 ± 0.30	1.63 ± 0.24	1.24 ± 0.11	0.94 ± 0.18	2.03 ± 0.43	1.93 ± 0.61	1.17 ± 0.25	1.76 ± 0.52	0.84 ± 0.07	6.90 ± 1.61	7.80 ± 1.37
	R (5–95%)	0.86–1.72	1.32–2.06	1.08–1.38	0.67–1.24	1.51–2.77	1.16–3.01	0.84–1.53	1.11–2.67	0.72–0.96	4.76–10.26	5.73–10.33
SIB	Znak	v67	v68	v69	v70	v71	v72	v73	v74	v75	v76	v77
	průměr ± s.d.	1.83 ± 0.54	3.81 ± 1.67	1.51 ± 0.25	1.15 ± 0.11	5.99 ± 3.42	7.10 ± 4.57	1.76 ± 0.43	2.12 ± 1.10	0.84 ± 0.07	14.95 ± 6.33	3.90 ± 1.05
	R (5–95%)	1.19–2.79	2.01–7.22	1.25–2.05	0.96–1.33	2.88–12.50	2.81–15.39	1.29–2.65	0.67–4.02	0.71–0.94	8.07–25.17	2.20–5.49
SPI	Znak	v78	v79	v80	v81	v82	v83	v84	v85	v86	v87	v88
	průměr ± s.d.	1.06 ± 0.22	2.72 ± 0.55	1.49 ± 0.13	1.24 ± 0.07	4.07 ± 1.00	5.08 ± 1.45	1.85 ± 0.25	1.46 ± 0.63	0.80 ± 0.06	16.67 ± 8.18	3.52 ± 0.95
	R (5–95%)	0.71–1.41	1.99–3.74	1.32–1.70	1.13–1.34	2.73–5.97	3.22–7.56	1.50–2.25	0.62–2.67	0.70–0.89	9.25–33.41	1.80–4.94
VER	Znak	v89	v90	v91	v92	v93	v94	v95	v96	v97	v98	v99
	průměr ± s.d.	1.47 ± 0.31	2.34 ± 0.46	1.36 ± 0.12	1.17 ± 0.07	3.22 ± 0.88	3.82 ± 1.24	1.60 ± 0.22	3.24 ± 1.16	0.74 ± 0.06	10.27 ± 3.54	5.43 ± 1.18
	R (5–95%)	0.71–1.41	1.99–3.74	1.32–1.70	1.13–1.34	2.73–5.97	3.22–7.56	1.50–2.25	0.62–2.67	0.70–0.89	9.25–33.41	1.80–4.94
R (min–max)	0.72–2.29	1.63–3.80	1.14–1.71	1.02–1.42	1.94–6.32	2.16–9.00	1.25–2.44	0.94–6.40	0.60–0.89	5.12–22.64	2.30–8.80	

Z výsledků analýzy hlavních komponent (PCA, 289 jedinců, 27 znaků, Obr. 39 a Obr. 40) je patrné, že druhy *M. alterniflorum*, *M. spicatum* a *M. verticillatum* tvoří morfologicky poměrně dobře odlišitelné shluky. Naproti tomu *M. sibiricum* se v morfologii vegetativních orgánů mísí s *M. spicatum* a *M. verticillatum*. K rozdělení jedinců do skupin podle první osy (zejména pro oddělení *M. spicatum* od *M. alterniflorum* a *M. verticillatum*) nejvíce přispívají znaky na lodyze *průměrný počet internodií ve vzd. 0–40 cm od vzr. vrcholu* (v33) a *průměrná délka internodia ve vzd. 0–15 cm od vzr. vrcholu* (v32). Pro rozdělení jedinců do skupin podél druhé osy (hlavně k odlišení *M. verticillatum* od *M. alterniflorum* a *M. spicatum*) je nejpodstatnější *délka 7. úkrojku* (v5) a *délka nejdelšího úkrojku* (v9). Zapojení třetí komponentní osy již nijak významně nepřispívá k odlišení druhů. Dohromady vysvětlují první tři osy 66.8 % celkové variability. Hodnoty korelačních koeficientů uvádí Obr. 41 a Tab. 17.

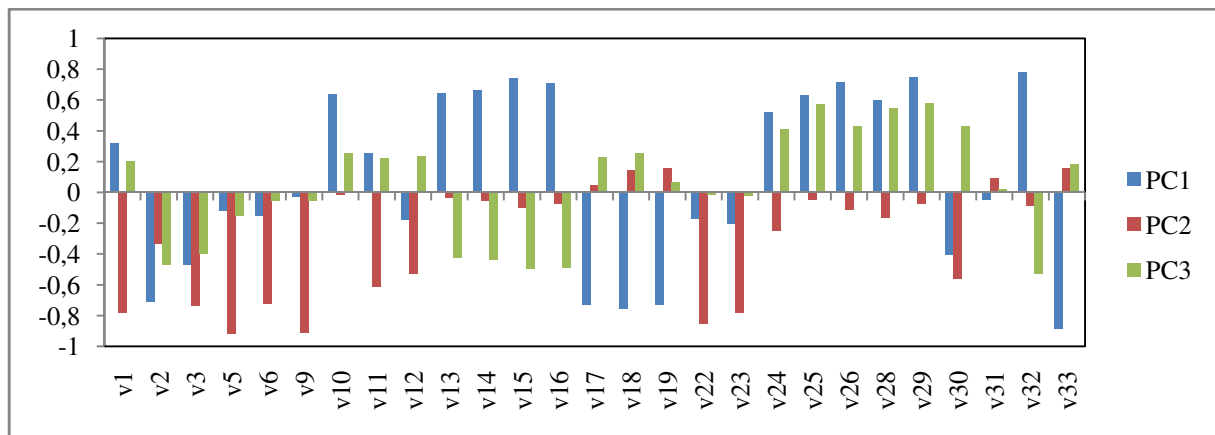


Obr. 39: Analýza hlavních komponent s využitím 27 znaků na vegetativních orgánech druhů *M.alterniflorum*, *M. sibiricum*, *M. spicatum* a *M. verticillatum*. Komponentní osa 1 vysvětluje 32.0 % variability, komponentní osa 2 vysvětluje 22.2 % variability.

4. Výsledky



Obr. 40: Analýza hlavních komponent s využitím 27 znaků na vegetativních orgánech druhů *M.alterniflorum*, *M. sibiricum*, *M. spicatum* a *M. verticillatum*. Komponentní osa 2 vysvětluje 22.2 % variability, komponentní osa 3 vysvětluje 12.6 % variability.



Obr. 41: Grafické znázornění velikostí korelačních koeficientů u prvních tří komponentních os.

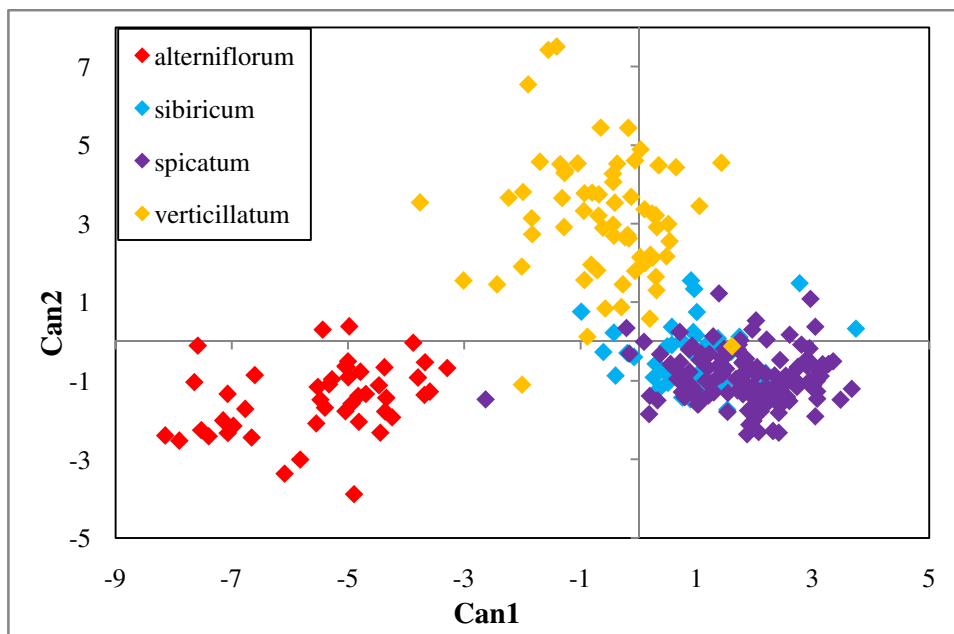
Tab. 17: Hodnoty korelačních koeficientů jednotlivých znaků s prvními třemi komponentními osami pro druhy *M.alterniflorum*, *M. sibiricum*, *M. spicatum* a *M. verticillatum*. Tři znaky, které jsou nejsilněji korelovány s danou osou, jsou růžově podbarveny.

Znak	PC1	PC2	PC3	Znak	PC1	PC2	PC3	Znak	PC1	PC2	PC3
v1	0.32	-0.78	0.20	v13	0.64	-0.04	-0.42	v24	0.52	-0.25	0.41
v2	-0.71	-0.34	-0.47	v14	0.66	-0.06	-0.44	v25	0.63	-0.05	0.57
v3	-0.47	-0.74	-0.40	v15	0.74	-0.10	-0.50	v26	0.71	-0.11	0.43
v5	-0.12	-0.92	-0.15	v16	0.71	-0.07	-0.49	v28	0.60	-0.17	0.54
v6	-0.15	-0.72	-0.06	v17	-0.73	0.05	0.23	v29	0.75	-0.07	0.58
v9	-0.03	-0.91	-0.06	v18	-0.76	0.15	0.26	v30	-0.40	-0.56	0.43
v10	0.64	-0.02	0.26	v19	-0.73	0.16	0.07	v31	-0.05	0.09	0.02
v11	0.25	-0.62	0.22	v22	-0.17	-0.85	-0.02	v32	0.78	-0.09	-0.53
v12	-0.18	-0.53	0.23	v23	-0.20	-0.78	-0.02	v33	-0.89	0.16	0.18

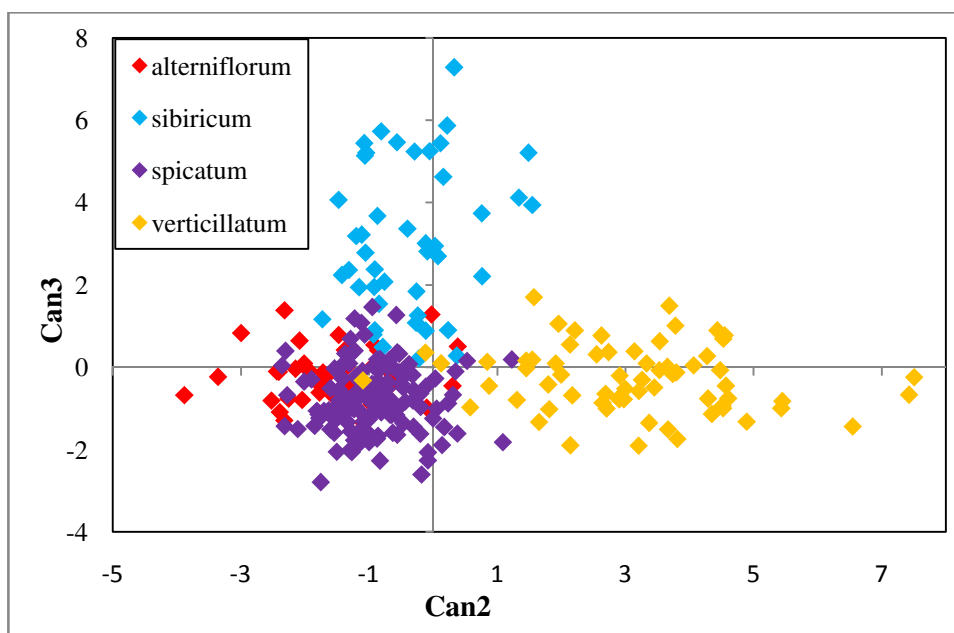
Za účelem určení znaků, které nejlépe charakterizují jednotlivé druhy a k řešení některých otázek na vnitrodruhové úrovni, bylo využito rovněž kanonické diskriminační analýzy (CDA) a klasifikační diskriminační analýzy (metoda *k*-nejbližších sousedů, kNN).

Z výsledků kanonické diskriminační analýzy vyplývá, že *M. alterniflorum* je morfologicky nejlépe odlišitelné od ostatních druhů (Obr. 42 a Obr. 43). Znaky, které nejvíce přispívají k odlišení *M. alterniflorum*, *M. spicatum* a *M. verticillatum* (korelované podle kanonické osy 1) jsou počet internodií ve vzd. 0–40 cm od vzr. vrcholu (v33) a pořadí nejdelšího úkrojku (v10). Znaky, které nejvíce přispívají k odlišení *M. verticillatum* od *M. alterniflorum* a *M. spicatum* (korelované podle kanonické osy 2) jsou počet listů v přeslenu (v12), vzdálenost nejdelšího úkrojku od báze listu (v11) a délka listu (v1). Hodnoty kanonicých korelačních koeficientů jsou uvedeny v Tab. 18. V klasifikační diskriminační analýze (pro *k* = 11) činila úspěšnost správného zařazení do druhu 86.2 %. Nízká úspěšnost klasifikace byla zapříčiněna z velké části problematickým druhem *M. sibiricum*, kde bylo úspěšně zařazeno pouze 40.9% jedinců. Druhým taxonem s nízkou úspěšností zařazení (84.8 %) bylo *M. verticillatum*. Naproti tomu druhy *M. alterniflorum* (100 %) a *M. spicatum* (97.0 %) nečinily v klasifikační diskriminační analýze obtíže.

4. Výsledky



Obr. 42: Kanonická diskriminační analýza s využitím 27 znaků na vegetativních orgánech druhů *M.alterniflorum*, *M. sibiricum*, *M. spicatum* a *M. verticillatum*.



Obr. 43: Kanonická diskriminační analýza s využitím 27 znaků na vegetativních orgánech druhů *M.alterniflorum*, *M. sibiricum*, *M. spicatum* a *M. verticillatum*.

Tab. 18: Kanonické korelační koeficienty pro druhy *M. alterniflorum*, *M. sibiricum*, *M. spicatum* a *M. verticillatum* (hodnoty >|0.4| růžově podbarveny).

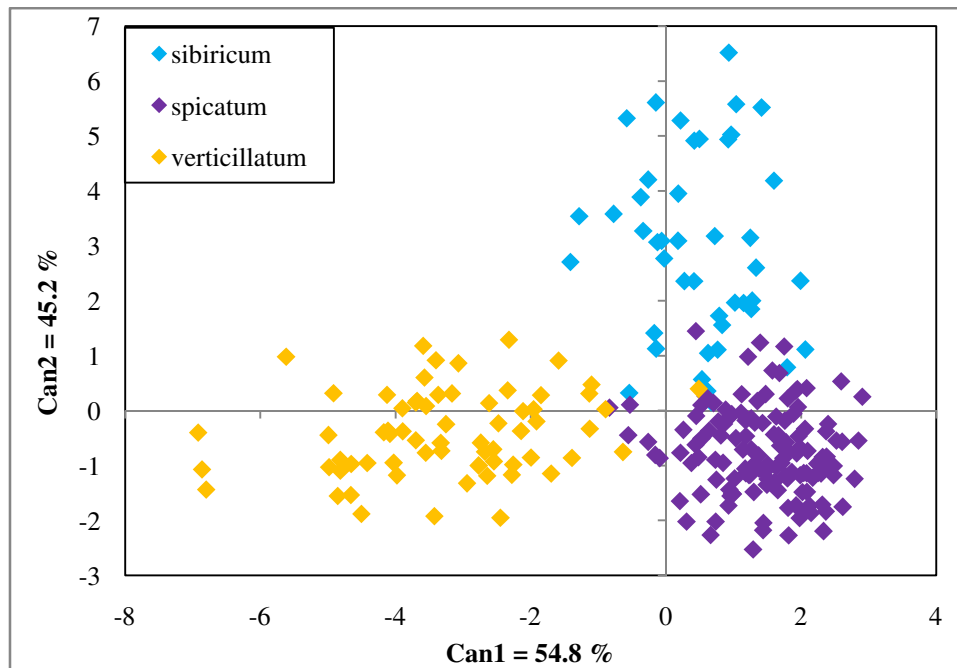
Znak	CCA1	CCA2	CCA3	Znak	CCA1	CCA2	CCA3	Znak	CCA1	CCA2	CCA3
v1	0.276	0.545	0.010	v13	0.180	-0.099	-0.062	v24	0.225	-0.035	0.417
v2	-0.342	0.250	0.058	v14	0.170	-0.107	0.046	v25	0.245	-0.077	0.110
v3	-0.173	0.348	0.322	v15	0.197	-0.104	-0.002	v26	0.373	0.093	-0.133
v5	-0.003	0.427	0.367	v16	0.209	-0.098	-0.043	v28	0.230	-0.045	0.306
v6	-0.019	0.162	0.608	v17	-0.310	0.137	-0.067	v29	0.334	-0.013	0.000
v9	0.026	0.429	0.199	v18	-0.370	0.060	0.017	v30	-0.075	0.465	0.119
v10	0.414	0.113	-0.529	v19	-0.350	0.026	0.009	v31	-0.053	-0.276	0.201
v11	0.256	0.594	-0.133	v22	0.004	0.296	0.638	v32	0.220	-0.117	-0.002
v12	-0.018	0.710	-0.102	v23	-0.039	0.227	0.582	v33	-0.548	0.106	-0.054

Tab. 19: Klasifikační diskriminační analýza druhů *M. alterniflorum* (*alt*), *M. sibiricum* (*sib*), *M. spicatum* (*spi*) a *M. verticillatum* (*ver*) pro k = 11.

Druh	<i>alt</i>	<i>sib</i>	<i>spi</i>	<i>ver</i>	Počet	Procento správně určených jedinců
<i>alt</i>	46	0	0	0	46	100.0
<i>sib</i>	0	18	24	2	44	40.9
<i>spi</i>	1	2	129	1	133	97.0
<i>ver</i>	1	0	9	56	66	84.8
Celkem	48	20	162	59	289	86.2

Jelikož odlišnost *M. alterniflorum* mohla zabraňovat odhalení variability v datech u tří zbývajících druhů, byla provedena diskriminační analýza pouze pro *M. sibiricum*, *M. spicatum* a *M. verticillatum* (viz Obr. 44). Podél kanonické osy 1 lze dobře odlišit hexaploidy od tetraploidů zejména na základě počtu listů v přeslenu (v12) a relativní délce listu ku délce internodia nad přeslenem (v30). Ve výsledcích je patrné mnohem lepší oddělení *M. sibiricum* od *M. spicatum* a *M. verticillatum* podél kanonické osy 2. Nejvíce korelovanými znaky pro druhou osu jsou předpokládané rozestupy úkrojků (v22), vzdálenost mezi 3. a 4. úkrojkem (v6), průměrné rozestupy úkrojků (v23) a pořadí nejdelšího úkrojku (v10). Hodnoty kanonických korelačních koeficientů jsou uvedeny v Tab. 20. Celkové procento správně zařazených jedinců v klasifikační diskriminační analýze (pro k = 10) se oproti výsledkům při zahrnutí *M. alterniflorum* ještě o 3.9 % snížilo (viz Tab. 21).

4. Výsledky



Obr. 44: Kanonická diskriminační analýza s využitím 27 znaků na vegetativních orgánech druhů *M. sibiricum*, *M. spicatum* a *M. verticillatum*.

Tab. 20: Kanonické korelační koeficienty pro druhy *M. sibiricum*, *M. spicatum* a *M. verticillatum* (hodnoty >|0.4| růžově podbarveny).

Znak	CCA1	CCA2	Znak	CCA1	CCA2	Znak	CCA1	CCA2
v1	-0.307	-0.059	v13	0.165	-0.070	v24	0.126	0.378
v2	-0.385	0.077	v14	0.165	0.034	v25	0.183	0.089
v3	-0.381	0.311	v15	0.178	-0.015	v26	0.147	-0.236
v5	-0.366	0.334	v16	0.178	-0.055	v28	0.139	0.272
v6	-0.158	0.594	v17	-0.271	-0.044	v29	0.180	-0.036
v9	-0.342	0.160	v18	-0.256	0.057	v30	-0.420	0.090
v10	0.120	-0.560	v19	-0.240	0.055	v31	0.210	0.240
v11	-0.349	-0.196	v22	-0.259	0.613	v32	0.198	-0.017
v12	-0.606	-0.156	v23	-0.227	0.581	v33	-0.395	-0.003

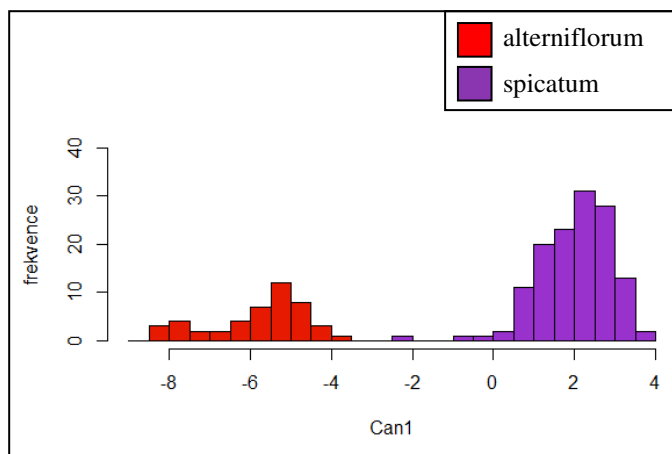
Tab. 21: Klasifikační diskriminační analýza druhů *M. sibiricum* (*sib*), *M. spicatum* (*spi*) a *M. verticillatum* (*ver*) pro $k = 10$.

Druh	<i>sib</i>	<i>spi</i>	<i>ver</i>	Počet	Procento správně určených jedinců
<i>sib</i>	16	25	3	44	36.4
<i>spi</i>	1	131	1	133	98.5
<i>ver</i>	2	11	53	66	80.3
Celkem	19	167	57	243	82.3

Aby bylo možné zjistit konkrétní znaky, které nejvíce přispívají k odlišení jednotlivých druhů, byly provedeny dílčí diskriminační analýzy pro: (i) dvojice druhů *M. alterniflorum*, *M. spicatum* a *M. verticillatum*, které se vyskytují na území České republiky; (ii) tetraploidní *M. verticillatum* a hexaploidní *M. sibiricum*, které při determinaci nečiní potíže, v analýze hlavních komponent se však mezi sebou jedinci obou druhů prolínají a (iii) velmi podobné taxony *M. sibiricum* a *M. spicatum*, jež lze morfologicky spolehlivě rozlišit jen na základě přítomnosti turionů (Aiken, Newroth & Wile, 1979), které však nebyly na navštívených lokalitách pozorovány.

(i) *M. alterniflorum* a *M. spicatum*

Výsledky diskriminační analýzy ukazují, že *M. alterniflorum* a *M. spicatum* jsou jednoznačně morfologicky odlišitelné (viz Obr. 45). V klasifikační diskriminační analýze (pro $k = 3$) byla dosažena počáteční 99.5% úspěšnost v zařazení jedince do druhu (viz Tab. 23) i při zachování pouhých 3 znaků s nejvyššími kanonickými korelačními koeficienty v datovém souboru (viz Tab. 22). Jedná se o průměrný počet internodií ve vzd. 0–40 cm od vzr. vrcholu (v33), pořadí nejdelšího úkrojku (v10) a délka 1. úkrojku (v2).



Obr. 45: Kanonická diskriminační analýza druhů *M. alterniflorum* a *M. spicatum* s využitím 26 znaků na vegetativních orgánech.

Tab. 22: Kanonické korelační koeficienty pro druhy *M. alterniflorum* a *M. spicatum* (hodnoty $> |0.4|$ růžově podbarveny).

Znak	CCA1	Znak	CCA1	Znak	CCA1
v1	0.407	v13	0.147	v24	0.287
v2	-0.426	v14	0.144	v25	0.263
v3	-0.227	v15	0.159	v26	0.344
v5	0.000	v16	0.169	v28	0.315
v6	-0.072	v17	-0.326	v30	-0.065
v9	0.063	v18	-0.356	v31	-0.084
v10	0.451	v19	-0.319	v32	0.177
v11	0.342	v22	-0.033	v33	-0.513
v12	0.070	v23	-0.083		

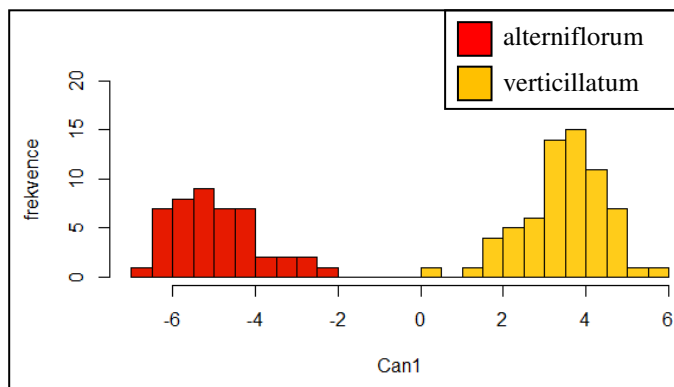
Tab. 23: Klasifikační diskriminační analýza druhů *M. alterniflorum* (*alt*) a *M. spicatum* (*spi*) pro $k = 3$.

Druh	<i>alt</i>	<i>spi</i>	Počet	Procento správně určených jedinců
<i>alt</i>	46	0	46	100.0
<i>spi</i>	1	132	133	99.3
Celkem	47	132	179	99.5

4. Výsledky

M. alterniflorum a *M. verticillatum*

Podobně jako u předchozí dvojice se i druhy *M. alterniflorum* a *M. verticillatum* ve výsledcích kanonické diskriminační rozlišeny rozdělují do dvou samostatných skupin (viz Obr 46). Jelikož v prvotní klasifikační analýze (pro $k=4$) byla úspěšnost zařazení jedinců do příslušného druhu 100%, byly na základě kanonických korelačních koeficientů ($> |0.3|$) vybrány znaky vzdálenost nejdelšího úkroju od báze listu (v11), délka listu (v1) a pořadí nejdelšího úkroju (v10) jako nejdůležitější znaky pro odlišení těchto dvou druhů. Při použití pouze těchto tří znaků v následné klasifikační analýze (pro $k = 4$) byl chybně zařazen jen jeden jedinec *M. verticillatum* a při použití pouze znaku v11 (pro $k = 4$) jedinci dva.



Obr. 46: Kanonická diskriminační analýza druhů *M. alterniflorum* a *M. verticillatum* s využitím 31 znaků na vegetativních orgánech.

Tab. 24: Kanonické korelační koeficienty pro druhy *M. alterniflorum* a *M. verticillatum* (hodnoty $> |0.3|$ růžově podbarveny).

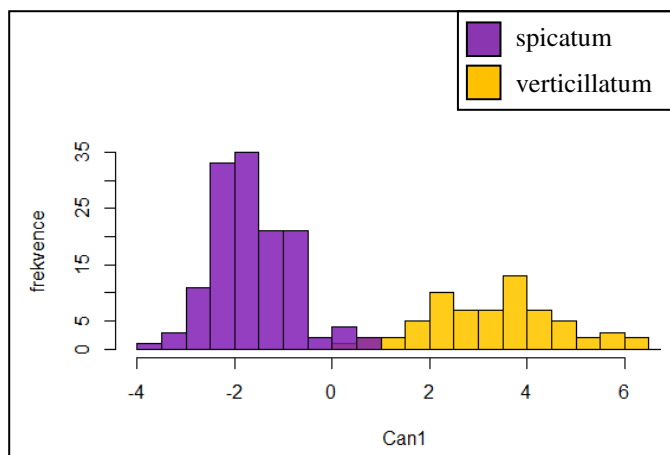
Znak	CCA1	Znak	CCA1	Znak	CCA1
v1	0.382	v12	0.249	v24	0.221
v2	-0.056	v13	0.134	v25	0.131
v3	0.088	v14	0.093	v26	0.221
v4	0.133	v15	0.118	v28	0.220
v5	0.215	v16	0.136	v29	0.228
v6	0.081	v17	-0.095	v30	0.187
v7	0.074	v18	-0.161	v31	-0.177
v8	0.168	v19	-0.147	v32	0.140
v9	0.204	v20	-0.214	v33	-0.227
v10	0.321	v22	0.189		
v11	0.437	v23	0.101		

Tab. 25: Klasifikační diskriminační analýza druhů *M. alterniflorum* (*alt*) a *M. verticillatum* (*ver*) pro $k = 4$.

Druh	<i>alt</i>	<i>ver</i>	Počet	Procento správně určených jedinců
<i>alt</i>	46	0	46	100.0
<i>ver</i>	0	66	66	100.0
Celkem	46	66	112	100.0

M. spicatum* a *M. verticillatum

Ve výsledcích kanonické diskriminační analýzy dochází k částečnému překrývání druhů *M. spicatum* a *M. verticillatum* (viz Obr. 47). Nejdůležitějšími znaky k jejich odlišení jsou počet listů v přeslenu, délka 1., 3. a 7. úkroju (v2, v3 a v5) a relativní délka listu ku délce internodia nad přeslenem (v30). V klasifikační diskriminační analýze (pro $k = 8$) bylo správně zařazeno celkem 93.0 % jedinců. Úspěšnost byla snížena hlavně nesprávným zařazením 13 jedinců *M. verticillatum* (viz Tab. 27).



Obr. 47: Kanonická diskriminační analýza druhů *M. spicatum* a *M. verticillatum* s využitím 29 znaků na vegetativních orgánech. (v místě překrývání druhů přechodová barva).

Tab. 26: Kanonické korelační koeficienty pro druhy *M. spicatum* a *M. verticillatum* (hodnoty $> |0.4|$ růžově podbarveny).

Znak	CCA1	Znak	CCA1	Znak	CCA1
v1	0.280	v12	0.514	v22	0.411
v2	0.414	v13	-0.158	v24	-0.147
v3	0.452	v14	-0.162	v25	-0.207
v5	0.423	v15	-0.165	v26	-0.176
v6	0.252	v16	-0.165	v28	-0.183
v7	0.283	v17	0.259	v30	0.425
v8	0.349	v18	0.249	v31	-0.183
v9	0.349	v19	0.226	v32	-0.184
v10	-0.147	v20	0.227	v33	0.372
v11	0.300	v21	-0.075		

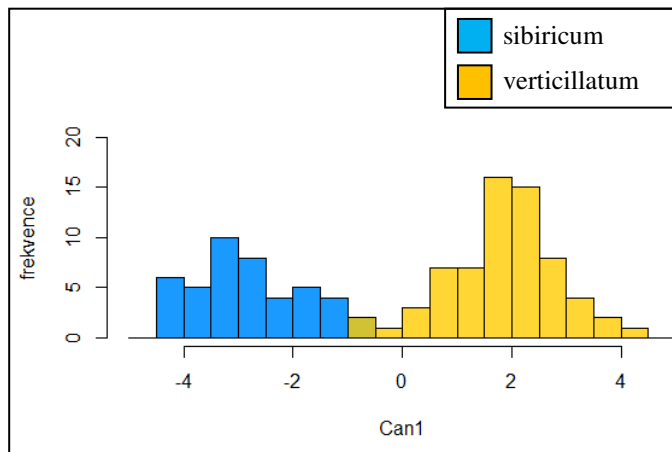
Tab. 27: Klasifikační diskriminační analýza druhů *M. spicatum* (*spi*) a *M. verticillatum* (*ver*) pro $k = 8$.

Druh	<i>spi</i>	<i>ver</i>	Počet	Procento správně určených jedinců
<i>spi</i>	132	1	133	99.2
<i>ver</i>	13	53	66	80.3
Celkem	145	54	199	93.0

4. Výsledky

(ii) *M. sibiricum* a *M. verticillatum*

Ve výsledcích kanonické diskriminační analýzy je patrný částečný překryv obou druhů (viz Obr. 48). Ke znakům, které nejvíce přispívají k oddělení do skupin, patří *počet listů v přeslenu* (v12) a *počet všech úkrojků* (v21) (viz Tab. 28). Procento správně určených jedinců za použití klasifikační diskriminační analýzy (pro $k = 9$) činí 89.1 % (viz Tab. 29).



Obr. 48: Kanonická diskriminační analýza druhů *M. sibiricum* a *M. verticillatum* s využitím 30 znaků na vegetativních orgánech (v místě překrývání druhů přechodová barva).

Tab. 28: Kanonické korelační koeficienty pro druhy *M. sibiricum* a *M. verticillatum* (hodnoty > |0.4| růžově podbarveny).

Znak	CCA1	Znak	CCA1	Znak	CCA1
v1	0.232	v12	0.421	v22	-0.177
v2	0.194	v13	-0.123	v24	-0.285
v3	0.063	v14	-0.179	v25	-0.178
v5	0.041	v15	-0.185	v26	0.047
v6	-0.232	v16	-0.156	v28	-0.233
v7	-0.162	v17	0.211	v29	-0.106
v8	-0.103	v18	0.148	v30	0.213
v9	0.119	v19	0.135	v31	-0.328
v10	0.313	v20	0.214	v32	-0.208
v11	0.378	v21	0.423	v33	0.293

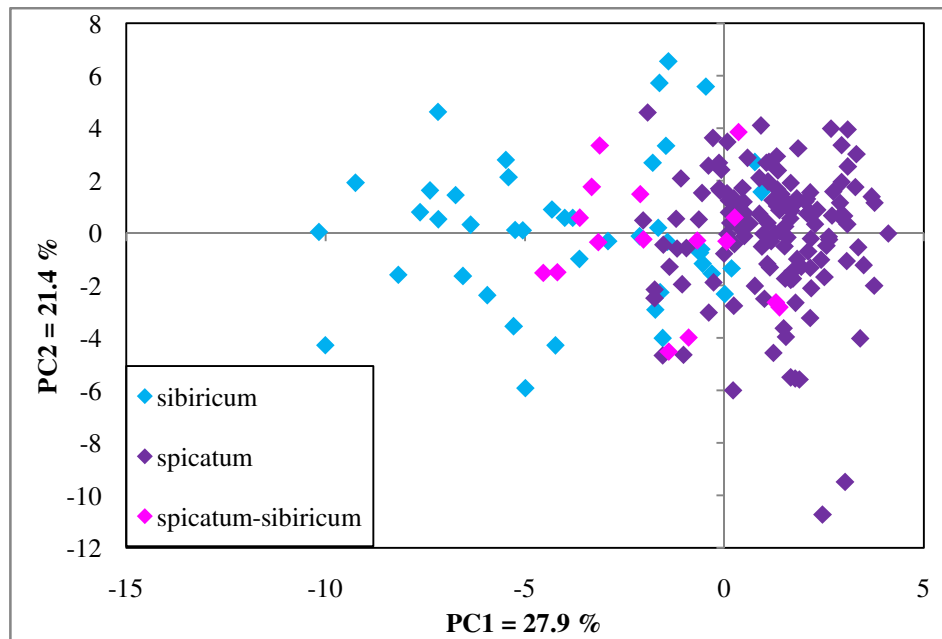
Tab. 29: Klasifikační diskriminační analýza druhů *M. sibiricum* (*sib*) a *M. verticillatum* (*ver*) pro $k = 9$.

Druh	<i>sib</i>	<i>ver</i>	Počet	Procento správně určených jedinců
<i>sib</i>	38	6	44	86.4
<i>ver</i>	6	60	66	90.9
Celkem	44	66	110	89.1

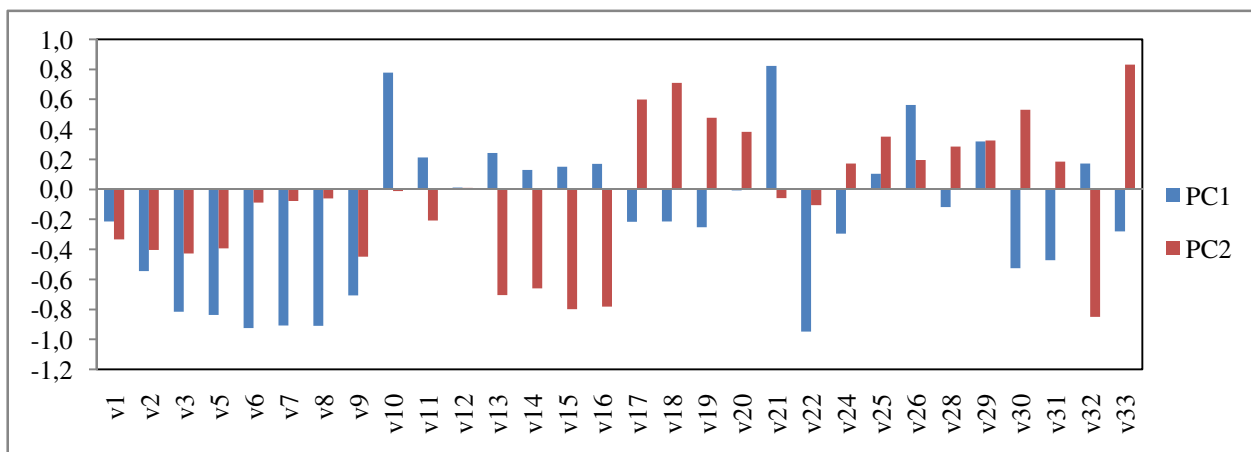
(iii) *M. sibiricum* a *M. spicatum*

Pro zjištění vztahů mezi problematickými druhy *M. sibiricum* a *M. spicatum* byla provedena jak analýza hlavních komponent, tak i kanonická a klasifikační diskriminační analýza. Aby se zjistilo, zda neurčení jedinci ze skupiny *M. spicatum-sibiricum* skutečně vykazují intermediární morfologické znaky, byli do analýz dodáni dodatečně jako „pasivní“, data.

V grafickém výstupu analýzy hlavních komponent je viditelné částečné rozdělení do skupin podél komponentní osy 1, kde hlavními znaky přispívajícími k jejich odlišení jsou *předpokládané rozestupy úkrojků* (v22) a všechny tři měřené vzdálenosti mezi úkrojky (v6, v7 a v8) (viz Tab. 30 a Obr. 49 a 50).



Obr. 49: Analýza hlavních komponent druhů *M. sibiricum* a *M. spicatum* a nejasných jedinců *M. spicatum-sibiricum* za použití 27 morfologických znaků na vegetativních orgánech. Komponentní osa 1 vysvětluje 27.9 % variability, komponentní osa 2 vysvětluje 21.4 % variability.



Obr. 50: Grafické znázornění velikostí korelačních koeficientů u prvních dvou komponentních os.

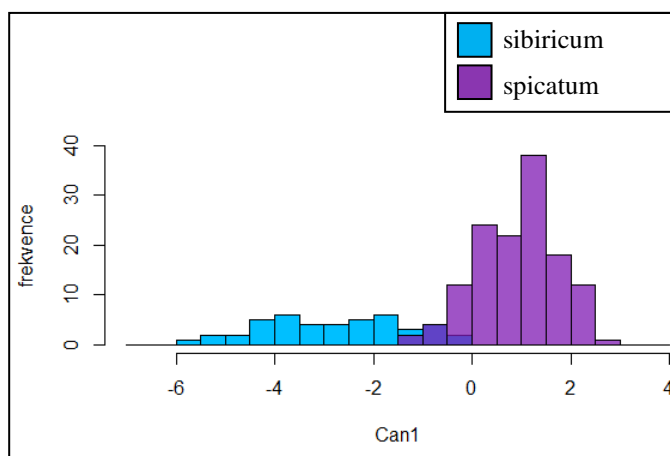
Tab. 30: Hodnoty korelačních koeficientů jednotlivých znaků s prvními dvěma komponentními osami pro druhy *M. sibiricum* a *M. spicatum* (hodnoty > |0.8| růžově podbarveny).

Znak	PC1	PC2	Znak	PC1	PC2	Znak	PC1	PC2
v1	-0.215	-0.333	v12	0.012	0.009	v22	-0.947	-0.106
v2	-0.545	-0.404	v13	0.243	-0.704	v24	-0.295	0.173
v3	-0.816	-0.429	v14	0.129	-0.660	v25	0.104	0.352
v5	-0.838	-0.394	v15	0.152	-0.798	v26	0.563	0.196
v6	-0.925	-0.089	v16	0.170	-0.782	v28	-0.118	0.286
v7	-0.908	-0.077	v17	-0.217	0.598	v29	0.319	0.327
v8	-0.909	-0.061	v18	-0.215	0.710	v30	-0.526	0.531
v9	-0.707	-0.448	v19	-0.253	0.477	v31	-0.473	0.185
v10	0.777	-0.011	v20	-0.007	0.384	v32	0.172	-0.851

4. Výsledky

Výsledky dvourozměrné kanonické diskriminační analýzy (viz Obr. 51) ukázaly, že nejdůležitějšími znaky pro odlišení těchto dvou druhů jsou *předpokládané rozestupy úkrojků* (v22), *vzdálenost mezi 3. a 4. úkrojkem* (v6) a *pořadí nejdelšího úkrojků* (v10) (viz Tab. 31). Tab. 32 ukazuje úspěšnost klasifikace (pro $k = 11$) jedinců druhu *M. sibiricum* a *M. spicatum*.

U neurčených hexaploidních jedinců bylo prvotním záměrem podle výsledků klasifikační diskriminační analýzy jedince zařadit do druhu a dále s nimi v datech pracovat pod tímto zařazením. Procento správně určených jedinců (pro $k = 7$) *M. sibiricum* za použití morfologicky dobře odlišitelných hexaploidních jedinců však nepřesáhlo stanovenou hranici 90 % (z dat vyřazení nonaploidní jedinci *M. sibiricum*, viz Tab. 33). Při takto nízké úspěšnosti nebylo tudíž možné považovat klasifikační funkci za spolehlivý nástroj k determinaci neurčených jedinců. Z tohoto důvodu již nebyli do následných analýz neurčení jedinci zařazeni a do výsledků dvourozměrné diskriminační analýzy byli dodáni dodatečně pro zjištění variability v této skupině (viz Obr. 52). Ve výstupu této analýzy je patrné, že část jedinců vykazuje intermediární znaky mezi oběma druhy.



Obr. 51: Kanonická diskriminační analýza druhů *M. sibiricum* a *M. spicatum* s využitím 30 znaků na vegetativních orgánech (v místě překryvání druhů přechodová barva).

Tab. 31: Kanonické korelační koeficienty pro druhy *M. sibiricum* a *M. spicatum* (hodnoty $> |0.6|$ růžově podbarveny).

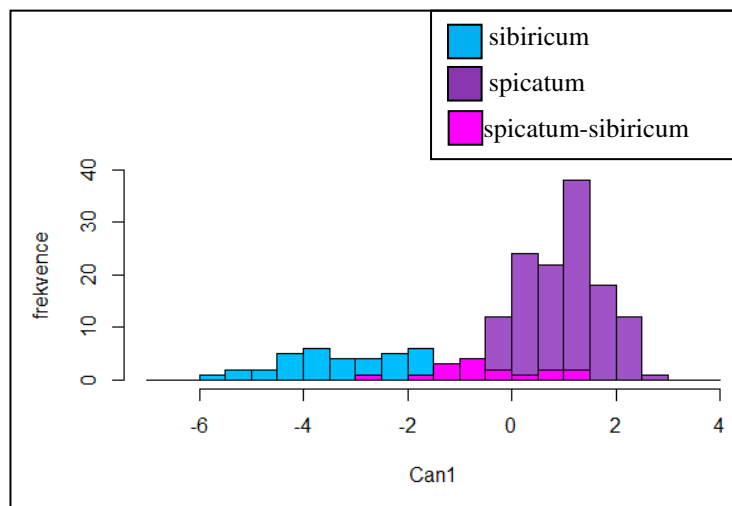
Znak	CCA1	Znak	CCA1	Znak	CCA1
v1	-0.026	v12	0.000	v24	-0.311
v2	-0.198	v13	0.100	v25	-0.039
v3	-0.431	v14	0.008	v26	0.264
v5	-0.469	v15	0.055	v28	-0.213
v6	-0.629	v16	0.092	v29	0.077
v7	-0.585	v17	-0.028	v30	-0.233
v8	-0.590	v18	-0.131	v31	-0.189
v9	-0.318	v19	-0.132	v32	0.061
v10	0.627	v20	-0.034	v33	-0.105
v11	0.124	v22	-0.656		

Tab. 32: Klasifikační diskriminační analýza druhů *M. sibiricum* (*sib*; hexaploidní i nonaploidní) a *M. spicatum* (*spi*) pro $k = 11$.

Druh	<i>sib</i>	<i>spi</i>	Počet	Procento správně určených jedinců
<i>sib</i>	19	25	44	43.2
<i>spi</i>	0	133	133	100.0
Celkem	19	158	177	85.9

Tab. 33: Klasifikační diskriminační analýza hexaploidních jedinců *M. sibiricum* (*sib 6x*) a *M. spicatum* (*spi*) pro $k = 7$.

Druh	<i>sib 6x</i>	<i>spi</i>	N	Procento správně určených jedinců
<i>sib 6x</i>	16	16	32	50.0
<i>spi</i>	0	133	133	100.0
Celkem	16	149	165	90.3



Obr. 52: Kanonická diskriminační analýza s využitím 30 znaků druhů *M. sibiricum* a *M. spicatum* s dodatečným přidáním neurčených jedinců ze skupiny *M. spicatum-sibiricum* (v místě překrývání druhů přechodová barva).

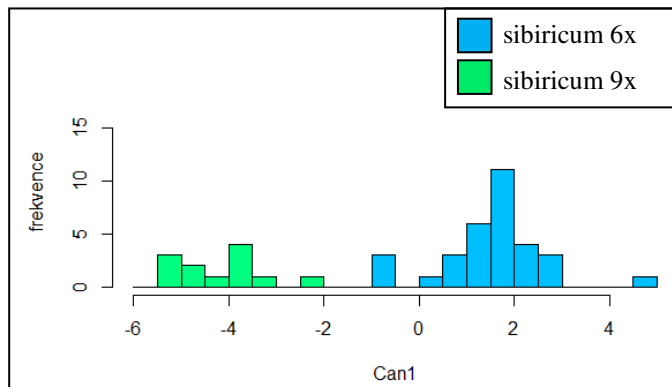
Pro zjištění vnitrodruhové variability *M. sibiricum* a *M. spicatum* byly provedeny také diskriminační analýzy mezi hexaploidními a nonaploidními jedinci *M. sibiricum* (a). Jelikož měření jedinci pocházeli z Evropy i ze Severní Ameriky, byly provedeny další analýzy s cílem zjistit, zda se druhy morfologicky liší mezi oběma areály. Porovnávání byli nejprve všichni hexaploidní jedinci (b) a poté i *M. spicatum* (c) a *M. sibiricum* (d) jednotlivě v rámci druhů. Na závěr byly provedeny diskriminační analýzy mezi všemi jedinci *M. sibiricum* a evropskými i severoamerickými jedinci *M. sibiricum* (e).

(a) hexaploidní a nonaploidní jedinci *M. sibiricum*

V grafickém výstupu dvourozměrné diskriminační analýzy (viz Obr. 53) došlo k oddělení nonaploidních jedinců *M. sibiricum* od hexaploidních. Znaky s nejvyššími kanonickými korelačními koeficienty (viz Tab. 34) jsou *délka listu ku délce internodia nad přeslenem* (v30), *délka internodia nad přeslenem* (v13) a *průměrný počet internodií ve vzd. 0–*

4. Výsledky

40 cm od vzr. vrcholu (v33). Úspěšnost zařazení v klasifikační diskriminační analýze (pro $k = 11$) byla u nonaploidního *M. sibiricum* nulová, u hexaploidního 81.3 % (viz Tab. 35).



Obr. 53: Kanonická diskriminační analýza hexaploidního a nonaploidního *M. sibiricum* s využitím 30 znaků na vegetativních orgánech.

Tab. 34: Kanonické korelační koeficienty pro hexaploidní a nonaploidní *M. sibiricum* (hodnoty $> |0.2|$ růžově podbarveny).

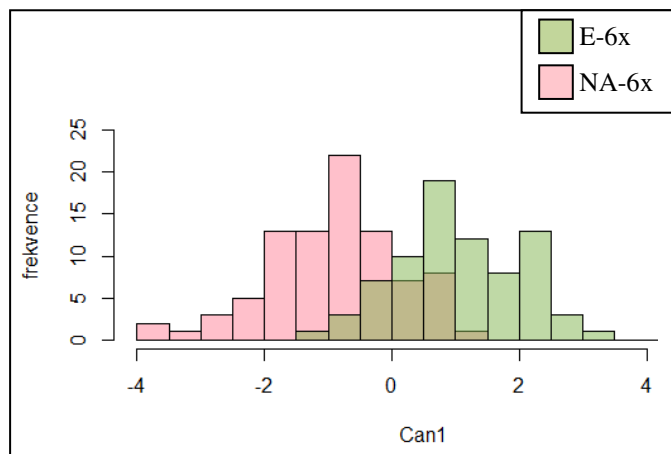
Znak	CCA1	Znak	CCA1	Znak	CCA1
v1	0.053	v12	-0.045	v22	0.104
v2	-0.191	v13	-0.208	v24	0.163
v3	-0.089	v14	-0.100	v25	0.155
v4	-0.039	v15	-0.107	v26	-0.011
v6	0.111	v16	-0.110	v28	0.149
v7	0.102	v17	0.169	v29	0.103
v8	0.083	v18	0.118	v30	0.268
v9	-0.037	v19	0.060	v31	0.130
v10	-0.026	v20	0.065	v32	-0.128
v11	-0.042	v21	-0.059	v33	0.205

Tab. 35: Klasifikační diskriminační analýza druhů *M. sibiricum 6x* (*sib 6x*) a *M. sibiricum 9x* (*sib 9x*) pro $k = 11$.

Druh	<i>sib6x</i>	<i>sib 9x</i>	Počet	Procento správně určených jedinců
<i>sib 6x</i>	26	6	32	81.3
<i>sib 9x</i>	12	0	12	0.0
Celkem	38	6	44	59.1

(b) evropští a severoameričtí hexaploidní jedinci

V kanonické diskriminační analýze nedošlo k oddělení evropských od severoamerických jedinců *M. sibiricum* a *M. spicatum* (viz Obr. 54). Také procento úspěšně určených jedinců (pro $k = 8$) je velice nízké (celkově 64.8 %, viz Tab. 37). Znaky s nejvyššími kanonickými korelačními koeficienty jsou *průměrný počet internodií ve vzd. 0–40 cm od vzr. vrcholu* (v33) a *relativní délka listu ku délce internodia nad přeslenem* (v30, viz Tab. 36).



Obr. 54: Kanonická diskriminační analýza hexaploidních jedinců z Evropy (E-6x) a Severní Ameriky (NA-6x) s využitím 30 znaků na vegetativních orgánech (v místě překrývání skupin přechodová barva).

Tab. 36: Kanonické korelační koeficienty pro hexaploidní jedince z Evropy a Severní Ameriky (hodnoty $> |0.4|$ růžově podbarveny).

Znak	CCA1	Znak	CCA1	Znak	CCA1
v1	-0.262	v12	0.046	v22	-0.318
v2	-0.042	v13	0.248	v24	-0.124
v3	-0.115	v14	0.321	v25	-0.081
v4	-0.143	v15	0.327	v26	0.112
v6	-0.300	v16	0.321	v28	-0.110
v7	-0.269	v17	-0.331	v29	-0.008
v8	-0.258	v18	-0.276	v30	-0.437
v9	-0.093	v19	-0.336	v31	-0.116
v10	0.075	v20	-0.214	v32	0.369
v11	-0.286	v21	0.093	v33	-0.455

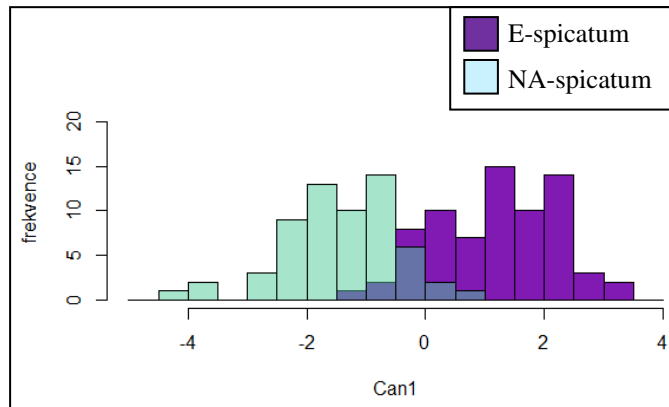
Tab. 37: Klasifikační diskriminační analýza hexaploidních jedinců z Evropy (E-6x) a Severní Ameriky (NA-6x) pro $k = 8$.

Druh	E-6x	NA-6x	Počet	Procento správně určených jedinců
E-6x	47	30	77	61.0
NA-6x	28	60	88	68.2
Celkem	75	90	165	64.8

4. Výsledky

(c) evropských a severoamerických jedinců *M. spicatum*

Ani u evropských a severoamerických jedinců *M. spicatum* nedošlo ve dvourozměrné kanonické diskriminační analýze k oddělení na dvě samostatné skupiny (viz Obr. 54). Znaky, které jsou nejvíce korelovány z kanonickou osou jsou vzdálenost *nejdelšího úkroju od báze listu* (v11) a *průměrný počet internodií ve vzd. 0–40 cm od vzr. vrcholu* (v33, viz Tab. 38). Celkové procento úspěšnosti zařazení jedinců v klasifikační diskriminační analýze (pro $k = 6$) činí 65.4 % (viz Tab. 39).



Obr. 54: Kanonická diskriminační analýza druhů *M. spicatum* z Evropy (E-) a Severní Ameriky (NA-) s využitím 30 znaků na vegetativních orgánech (v místě překrývání druhů přechodová barva).

Tab. 38: Kanonické korelační koeficienty pro *M. spicatum* z Evropy a Severní Ameriky (hodnoty $> |0.3|$ růžově podbarveny).

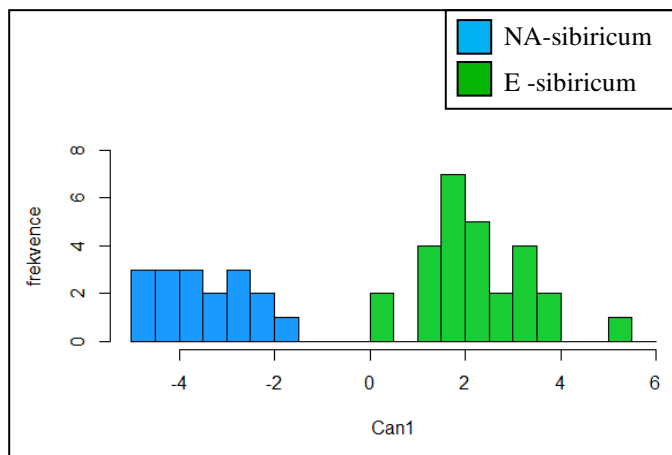
Znak	CCA1	Znak	CCA1	Znak	CCA1
v1	-0.222	v12	0.042	v22	-0.001
v2	-0.019	v13	0.144	v24	0.252
v3	0.109	v14	0.286	v25	0.067
v5	0.172	v15	0.248	v26	-0.024
v6	0.062	v16	0.234	v28	0.196
v7	0.057	v17	-0.208	v29	0.031
v8	0.074	v18	-0.169	v30	-0.242
v9	0.117	v19	-0.237	v31	0.051
v10	-0.207	v20	-0.237	v32	0.287
v11	-0.390	v21	-0.209	v33	-0.309

Tab. 39: Klasifikační diskriminační analýza *M. spicatum* z Evropy (E-*spi*) a ze Severní Ameriky (NA-*spi*) pro $k = 6$.

Druh	E- <i>spi</i>	NA- <i>spi</i>	Počet	Procento správně určených jedinců
E- <i>spi</i>	42	30	72	58.3
NA- <i>spi</i>	16	45	61	73.8
Celkem	58	75	133	65.4

(d) evropští a severoameričtí jedinci *M. sibiricum*

Při porovnávání 17 evropských a 27 severoamerických jedinců *M. sibiricum* (zahrnující hexaploidy i nonaploidy, viz Obr. 55) se skupiny od sebe oddělily, nicméně na základě vybraných znaků (pro $k = 3$) lze správně určit jen 65.9 % jedinců (viz Tab. 41). Nejvíce korelované znaky jsou *relativní délka listu ku délce internodia nad přeslenem* (v30), *počet internodií ve vzd. 0–5 cm od vzr. vrcholu* (v17), *vzdálenost mezi 3. a 4. úkrojkem* (v6) a *relativní velikost 3. úkrojků ku 1. úkrojků* (v24, viz Tab. 40).



Obr. 55: Kanonická diskriminační analýza evropského (E-) a severoamerického (NA-) *M. sibiricum* s využitím 30 znaků na vegetativních orgánech.

Tab. 40: Kanonické korelační koeficienty pro evropské a severoamerické *M. sibiricum* (hodnoty $> |0.2|$ růžově podbarveny).

Znak	CCA1	Znak	CCA1	Znak	CCA1
v1	0.055	v12	-0.019	v22	0.168
v2	-0.151	v13	-0.164	v24	0.209
v3	-0.031	v14	-0.080	v25	0.193
v4	0.030	v15	-0.089	v26	-0.026
v6	0.209	v16	-0.077	v28	0.187
v7	0.179	v17	0.214	v29	0.121
v8	0.149	v18	0.114	v30	0.273
v9	0.026	v19	0.064	v31	0.184
v10	-0.095	v20	-0.075	v32	-0.099
v11	-0.096	v21	-0.149	v33	0.204

Tab. 41: Klasifikační diskriminační analýza *M. sibiricum* z Evropy (E-sib) a ze Severní Ameriky (NA-sib) pro $k = 3$.

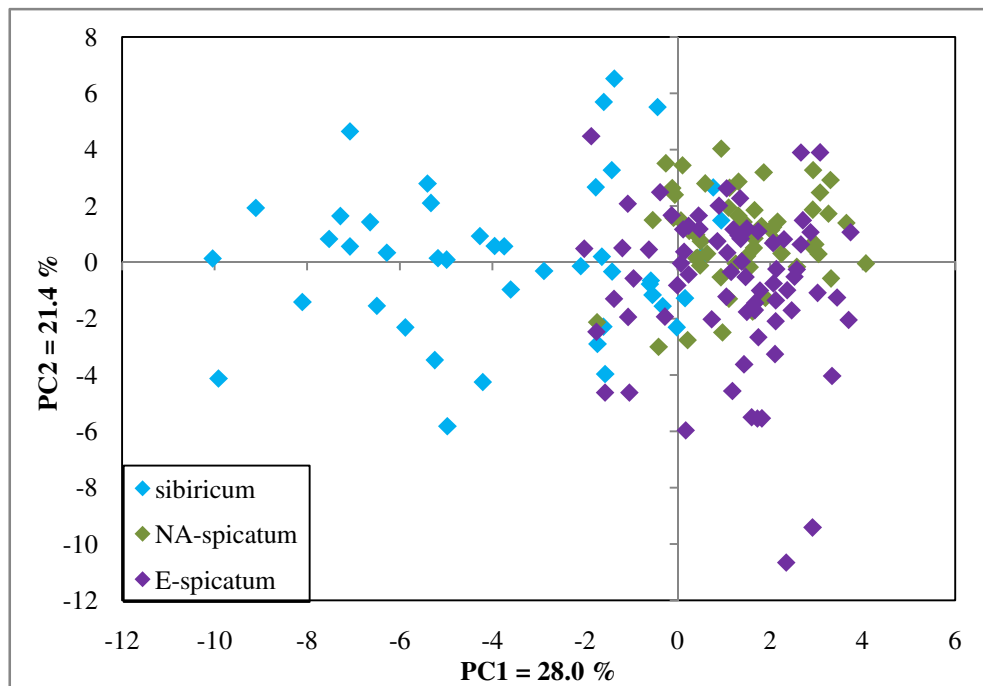
Druh	E-sib	NA-sib	Počet	Procento správně určených jedinců
E-sib	11	6	17	64.7
NA-sib	10	17	27	63.0
Celkem	21	23	44	63.6

(e) evropští a severoameričtí jedinci *M. spicatum* a *M. sibiricum*

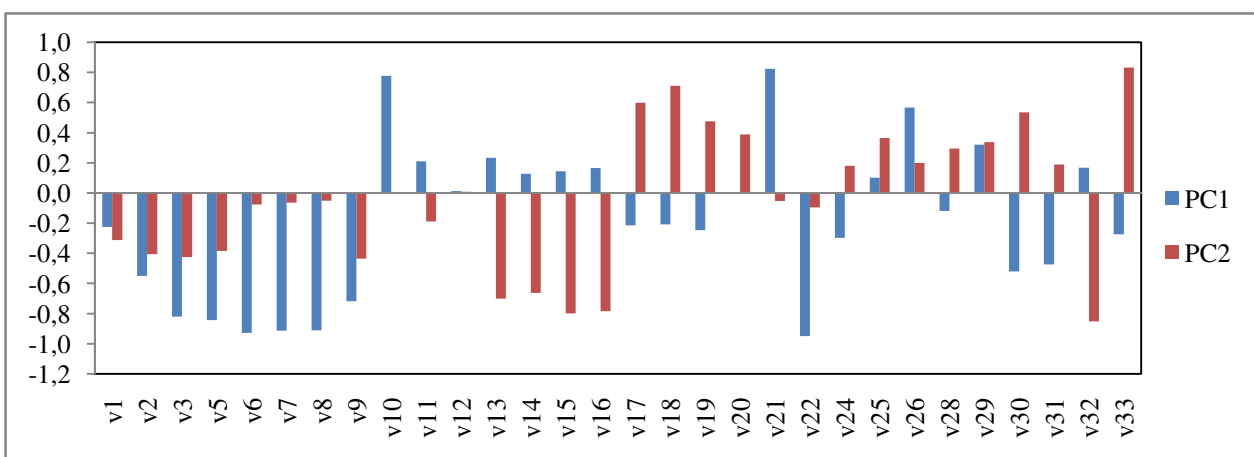
Jelikož u předchozí analýzy nebyl dostatečný počet jedinců ke srovnání mezi areály obou druhů *M. spicatum* a *M. sibiricum*, zůstali jedinci *M. sibiricum* nerozlišení a porovnání s evropskými a severoamerickými jedinci *M. spicatum*, jejichž počet byl již uspokojivý. Aby bylo možné zhodnotit morfologii druhů s použitím důležitého znaku *počet všech úkrojků* (v21), byla jako v případě mezidruhové analýzy (iii) provedena nejprve analýza hlavních komponent (viz Obr. 56). Na výstupu z kanonické diskriminační analýzy je viditelné částečné oddělení skupin, ale úspěšnost klasifikační diskriminační analýzy (pro $k = 12$) byla opět velmi nízká (60.8 %; viz Tab. 43). Nejvíce korelované

4. Výsledky

znaky u analýzy hlavních komponent a kanonické diskriminační analýzy (viz Obr. 57 a Tab. 41 a 42) byly zobrazeny pomocí krabicových diagramů (viz Obr. 59). Znakem s největšími rozdíly mezi všemi porovnávanými skupinami je *počet všech úkrojků* (v21), tento počet je v průměru nejmenší u *M. sibiricum* a největší u severoamerických jedinců *M. spicatum*.



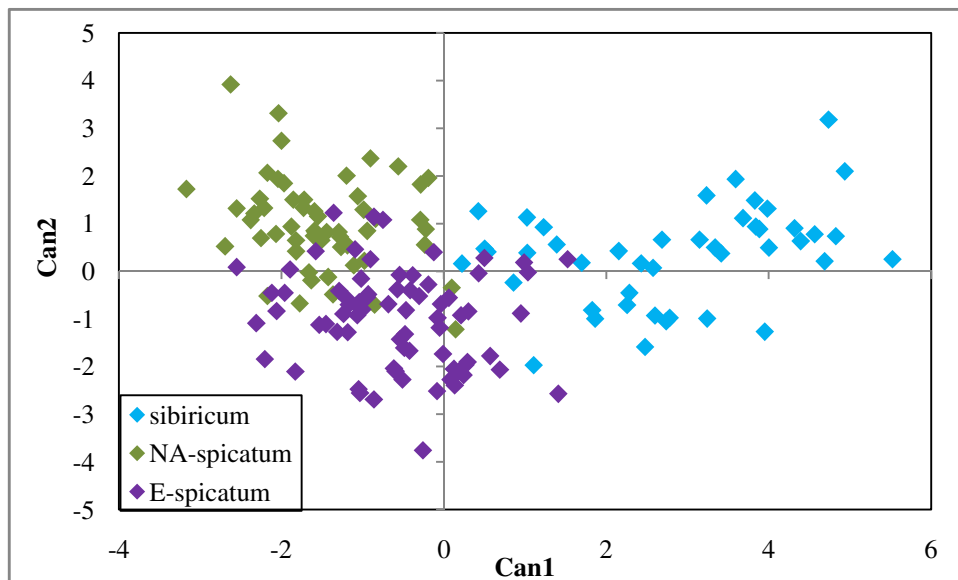
Obr. 56: Analýza hlavních komponent druhů a *M. spicatum* z Evropy a Severní Ameriky a *M. sibiricum* z obou areálů s využitím 30 morfologických znaků na vegetativních orgánech. Komponentní osa 1 vysvětluje 28.0 % variability, komponentní osa 2 vysvětluje 21.4 % variability.



Obr. 57: Grafické znázornění velikostí korelačních koeficientů u prvních dvou komponentních os.

Tab. 41: Hodnoty korelačních koeficientů jednotlivých znaků s prvními dvěma komponentními osami druhů *M. spicatum* z Evropy a Severní Ameriky a *M. sibiricum* z obou areálů (hodnoty >|0.8| růžově podbarveny).

Znak	PC1	PC2	Znak	PC1	PC2	Znak	PC1	PC2
v1	-0.226	-0.311	v12	0.012	0.007	v22	-0.949	-0.096
v2	-0.550	-0.405	v13	0.234	-0.701	v24	-0.298	0.179
v3	-0.821	-0.424	v14	0.127	-0.663	v25	0.103	0.365
v5	-0.844	-0.384	v15	0.145	-0.799	v26	0.566	0.199
v6	-0.928	-0.077	v16	0.166	-0.783	v28	-0.119	0.295
v7	-0.913	-0.064	v17	-0.215	0.599	v29	0.320	0.338
v8	-0.912	-0.051	v18	-0.209	0.711	v30	-0.521	0.535
v9	-0.717	-0.435	v19	-0.247	0.476	v31	-0.474	0.189
v10	0.777	-0.005	v20	0.002	0.389	v32	0.167	-0.852
v11	0.210	-0.188	v21	0.824	-0.053	v33	-0.274	0.833



Obř. 58: Kanonická diskriminační analýza *M. sibiricum* z obou areálů a *M. spicatum* z Evropy (E-) a Severní Ameriky (NA-) s využitím 29 znaků na vegetativních orgánech.

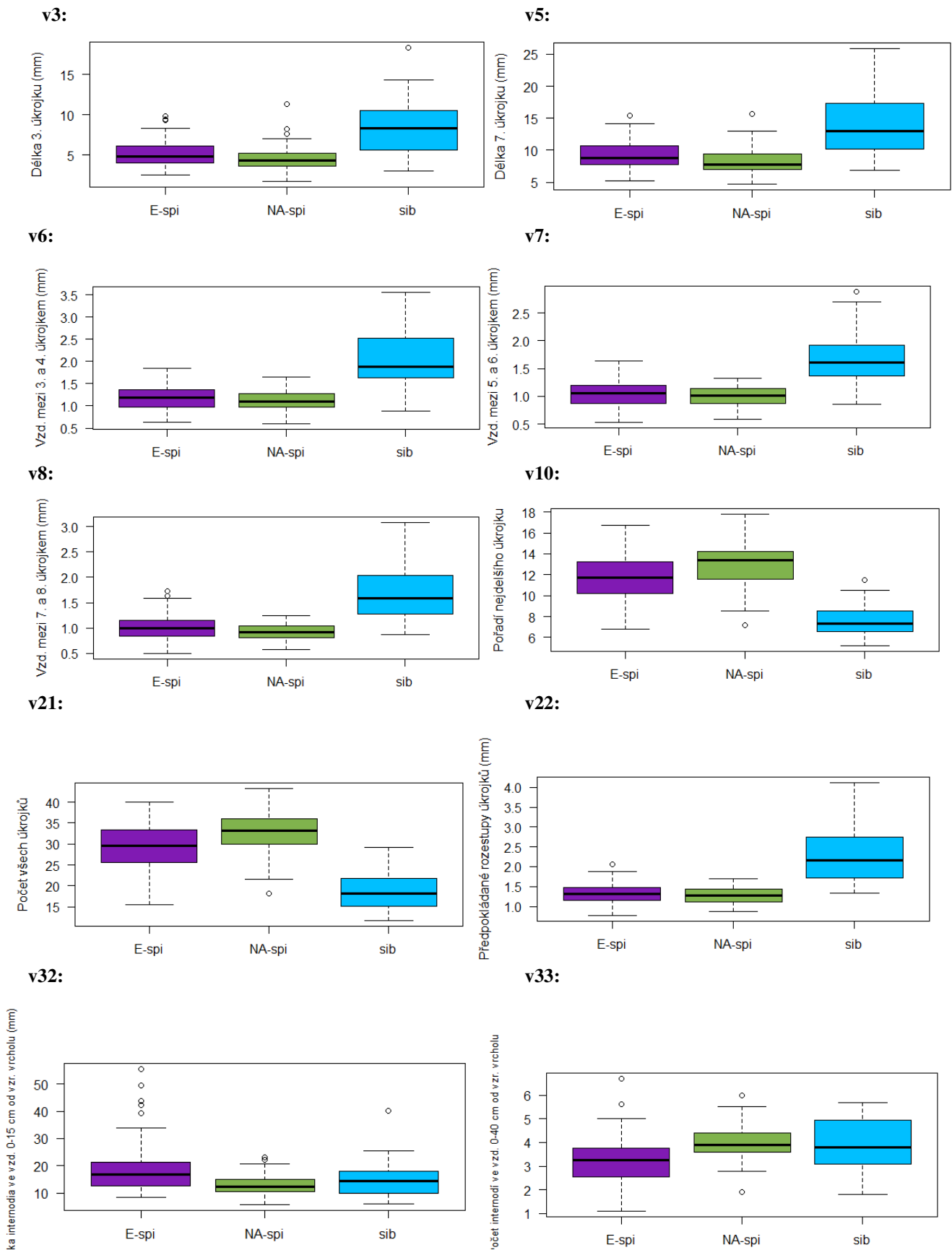
Tab. 42: Kanonické korelační koeficienty *M. spicatum* z Evropy a Severní Ameriky a *M. sibiricum* z obou areálů (hodnoty >|0.5| růžově podbarveny).

Znak	CCA1	CCA2	Znak	CCA1	CCA2	Znak	CCA1	CCA2
v1	0.004	0.254	v12	0.003	-0.045	v24	0.306	-0.041
v2	0.187	0.085	v13	-0.069	-0.246	v25	0.044	-0.052
v3	0.410	0.069	v14	0.035	-0.363	v26	-0.247	-0.075
v5	0.458	0.020	v15	-0.007	-0.379	v28	0.209	-0.043
v6	0.594	0.191	v16	-0.049	-0.372	v29	-0.068	-0.063
v7	0.569	0.157	v17	-0.006	0.269	v30	0.187	0.355
v8	0.574	0.150	v18	0.094	0.276	v31	0.191	-0.008
v9	0.308	0.009	v19	0.089	0.361	v32	-0.010	-0.428
v10	-0.645	0.038	v20	-0.005	0.341	v33	0.053	0.448
v11	-0.173	0.431	v22	0.621	0.242			

4. Výsledky

Tab. 43: Klasifikační diskriminační analýza *M. spicatum* z Evropy (*E-spi*) a Severní Ameriky (*NA-spi*) a *M. sibiricum* (*sib*) z obou areálů pro $k = 12$.

Druh	<i>E-spi</i>	<i>NA-spi</i>	<i>sib</i>	Počet	Procento správně určených jedinců
<i>E-spi</i>	43	28	1	72	59.7
<i>NA-spi</i>	14	41	0	55	74.5
<i>sib</i>	20	4	20	44	45.5
Celkem	77	73	21	171	60.8



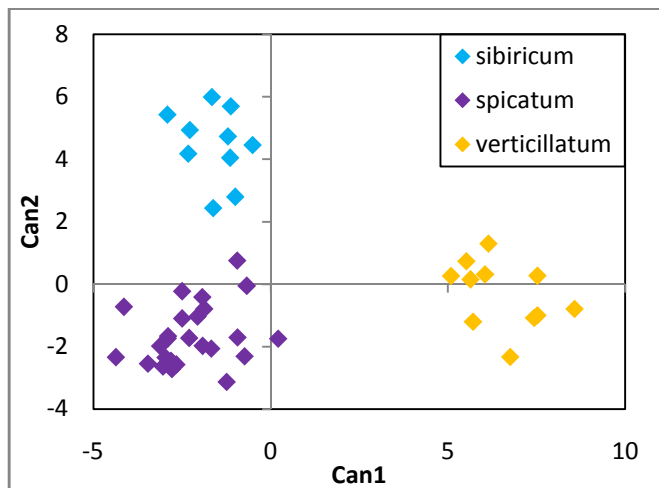
Obr 59: Krabicové diagramy nejvíce korelovaných znaků v analýze hlavních komponent a kanonické diskriminační analýze při porovnávání druhů a *M. spicatum* z Evropy (E-spi) a Severní Ameriky (NA-spi) a *M. sibiricum* (sib) z obou areálů.

4. Výsledky

4.2.2 Znaky na generativních orgánech

U 46 jedinců druhů *M. sibiricum*, *M. spicatum* a *M. verticillatum* bylo možné získat údaje také z květenství. Toto poměrně nízké číslo je způsobené tím, že *Myriophyllum* kvete jen sporadicky, a proto byla hlavní pozornost věnována vegetativním orgánům. Přesto byly údaje z květenství využity ke zjišťování, zda přidání daných znaků do datového souboru přispěje k lepšímu rozlišení jednotlivých druhů. Na květenství nebyly zjišťovány znaky, které jsou obecně přijímány jako determinační pro jednotlivé druhy (např. tvar listů a barva tyčinek), aby bylo možné určit dosud opomíjené znaky důležité pro rozlišování druhů *Myriophyllum*. Diskriminační analýza byla provedena nejprve u 46 jedinců bez použití znaků na generativních orgánech a poté s daty, kde byly znaky na květenství zahrnuty. Na základě výsledků testu korelace znaků za pomoci Spearmanova korelačního koeficientů byly pro účely těchto analýz vyřazeny znaky v4, v23, v27 a v30 (hodnota koeficientu $> |0.95|$; Marhold & Suda, 2002).

Zapojení znaků na generativních orgánech zlepšilo výsledky jak kanonické (viz Obr. 60 a Obr. 61), tak i klasifikační diskriminační analýzy (viz Tab. 44 a Tab. 46). V klasifikační diskriminační analýze se zvýšilo celkové procento správně určených jedinců o 2.1 %. u *M. spicatum* se úspěšnost zvýšila o 4 %, u *M. verticillatum* dokonce o 9.1 %. u *M. sibiricum* naopak došlo k poklesu úspěšnosti o celých 10 %. Žádný znak na generativních orgánech však nebyl s kanonickými osami srovnatelně korelován jako znak na vegetativních orgánech (viz Tab. 45 a Tab. 47). Znaky s nejvyššími korelačními koeficienty na generativních orgánech jsou *přítomnost/nepřítomnost květů v 1. přeslenu listů* (v43) pro první kanonickou osu a *délka 1. internodia od báze květenství* (v35) a *průměrná délka internodia v květenství* (v45) pro druhou kanonickou osu.



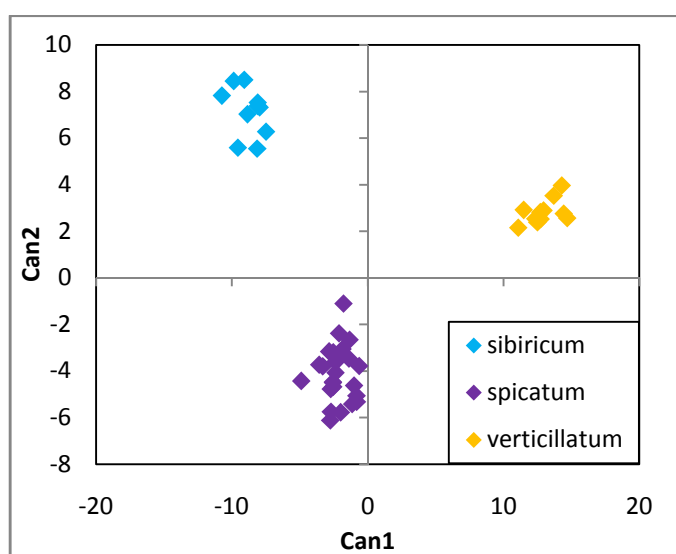
Obr. 60: Kanonická diskriminační analýza s využitím 28 znaků pouze na vegetativních orgánech druhů *M. sibiricum*, *M. spicatum* a *M. verticillatum*.

Tab. 44: Klasifikační diskriminační analýza druhů *M. sibiricum* (*sib*), *M. spicatum* (*spi*) a *M. verticillatum* (*ver*) za použití znaků pouze na vegetativních orgánech pro $k=4$.

Druh	<i>sib</i>	<i>spi</i>	<i>ver</i>	Počet	Procento správně určených jedinců
<i>sib</i>	3	6	1	10	30.0
<i>spi</i>	1	23	1	25	92.0
<i>ver</i>	1	0	10	11	90.9
Celkem	5	29	12	46	78.3

Tab. 45: Kanonické korelační koeficienty pro *M. sibiricum*, *M. spicatum* a *M. verticillatum* za použití znaků pouze na vegetativních orgánech (hodnoty > |0.3| růžově podbarveny).

Znak	CCA1	CCA2	Znak	CCA1	CCA2	Znak	CCA1	CCA2
v1	0.308	-0.037	v12	0.363	-0.040	v24	-0.113	0.174
v2	0.195	0.032	v13	-0.090	-0.027	v25	-0.072	0.021
v3	0.225	0.093	v14	-0.113	0.026	v26	-0.063	-0.096
v5	0.282	0.084	v15	-0.147	-0.072	v28	-0.109	0.132
v6	0.256	0.260	v16	-0.140	-0.096	v29	-0.071	-0.015
v7	0.189	0.224	v17	0.110	-0.076	v31	-0.145	0.064
v8	0.189	0.238	v18	0.273	0.027	v32	-0.154	-0.053
v9	0.286	0.006	v19	0.226	0.053	v33	0.274	-0.009
v10	0.001	-0.293	v20	0.275	-0.004			
v11	0.311	-0.031	v22	0.254	0.319			



Obr. 61: Kanonická diskriminační analýza s využitím 41 znaků na vegetativních a generativních orgánech druhů *M. sibiricum*, *M. spicatum* a *M. verticillatum*.

Tab. 46: Klasifikační diskriminační analýza druhů *M. sibiricum* (*sib*), *M. spicatum* (*spi*) a *M. verticillatum* (*ver*) za použití znaků na vegetativních i generativních orgánech pro $k=7$.

Druh	<i>sib</i>	<i>spi</i>	<i>ver</i>	Počet	Procento správně určených jedinců
<i>sib</i>	2	7	1	10	20.0
<i>spi</i>	1	24	0	25	96.0
<i>ver</i>	0	0	11	11	100.0
Celkem	3	31	12	46	80.4

4. Výsledky

Tab. 47: Kanonické korelační koeficienty pro *M. sibiricum*, *M. spicatum* a *M. verticillatum* za použití znaků na vegetativních i generativních orgánech (hodnoty > |0.1| růžově podbarveny).

Znak	CCA1	CCA2	Znak	CCA1	CCA2	Znak	CCA1	CCA2
v1	0.139	0.079	v16	-0.049	-0.089	v34	0.051	0.059
v2	0.081	0.076	v17	0.058	-0.001	v35	-0.039	0.092
v3	0.086	0.115	v18	0.116	0.099	v36	0.044	0.072
v5	0.112	0.129	v19	0.092	0.097	v37	0.042	0.066
v6	0.078	0.203	v20	0.120	0.085	v38	0.044	0.011
v7	0.054	0.165	v22	0.071	0.230	v39	0.015	0.052
v8	0.052	0.172	v24	-0.071	0.046	v40	0.053	0.054
v9	0.124	0.093	v25	-0.034	-0.013	v41	0.019	-0.011
v10	0.037	-0.138	v26	-0.016	-0.065	v42	0.043	-0.007
v11	0.139	0.083	v28	-0.064	0.028	v43	0.087	-0.009
v12	0.163	0.096	v29	-0.029	-0.029	v44	0.011	0.025
v13	-0.036	-0.041	v31	-0.071	-0.016	v45	0.016	0.090
v14	-0.053	-0.023	v32	-0.060	-0.074	v46	-0.007	-0.017
v15	-0.055	-0.080	v33	0.120	0.082			

4.3 Klíčící experiment

V letech 2013 a 2015 byl proveden klíčící pokus s 3 205 plůdky *M. spicatum* získaných ze čtyř populací v České republice. Zkušební experiment v roce 2013 měl za cíl zjistit, zda plůdky *M. spicatum* mají dostatečnou klíčivost pro rozsáhlejší pokus. Experiment v roce 2015 měl za cíl odpovědět na několik otázek související s klíčením plůdků *M. spicatum*: (i) Je klíčivost ovlivněna způsobem uchovávání plůdků (na vzduchu nebo ve vodě)?; (ii) Jaké klíčící podmínky jsou pro klíčení nejprůběžnější?; (iii) Jaká je dynamika klíčení v různých klíčících podmínkách? a (iv) Je klíčivost ovlivněna dostupností světla?

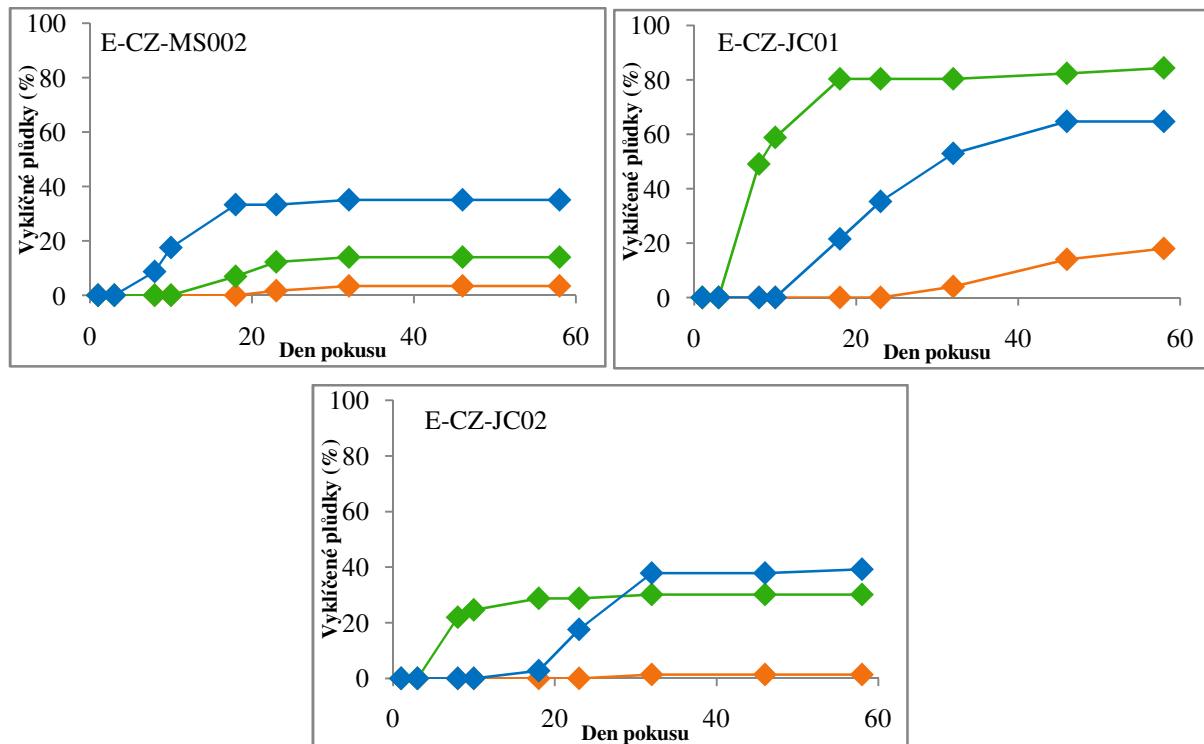
4.3.1 Zkušební experiment v roce 2013

Výsledky pilotního experimentu shrnuje Tab. 48. Dynamiku klíčení ve všech třech populacích během 58 pokusných dnů ukazuje Obr. 62. Celkově nejvyšší klíčivosti 84,3 % dosáhly plůdky v režimu T4 (16:10 °C, 14:10 hod) z populace E-CZ-JC01. V populacích E-CZ-MS002 a E-CZ-JC02 plůdky nejlépe klíčily v režimu T6 (22:18°C, 12:12 hod). Kromě populace E-CZ-JC01 bylo procento vyklíčených plůdků v režimu T2 (4–6,5°C, 0:24 hod) velice nízké, i u populace E-CZ-JC01 však došlo k nárůstu procenta vyklíčených plůdků až po 40. dnu pokusu. Dynamika klíčení se lišila v každé populaci. Zatímco v populacích E-CZ-JC01 a E-CZ-JC02 začaly nejrychleji klíčit plůdky v režimu T4, v populaci E-CZ-MS002 nejrychleji klíčily plůdky v režimu T6.

Tab. 48: Počet a procento vyklíčených plůdků v roce 2013 v režimech T2, T4 a T6 (N_C – počet plůdků celkem, N_V – počet vyklíčených plůdků, % – procento vyklíčených plůdků).

Populace	Režim t den:noc den:noc	T2	T4	T6
		4–6,5 °C 0:24 hod	16:10°C 14:10 hod	22:18 °C 12:12 hod
E-CZ-MS002	N_C	57	57	57
	N_V	2	8	20
	%	3.5%	14.0%	35.1%
E-CZ-JC01	N_C	50	51	51
	N_V	9	43	33
	%	18.0%	84.3%	64.7%
E-CZ-JC02	N_C	73	73	74
	N_V	1	22	29
	%	1.4%	30.1%	39.2%

4. Výsledky



Obr. 62: Dynamika klíčení plůdků *M. spiciatum* v populacích E-CZ-MS002, E-CZ-JC01 a E-CZ-JC02 v režimech T2 (oranžové značky), T4 (zelené značky) a T6 (modré značky) po dobu 58 dní.

4.3.1 Experiment v roce 2015

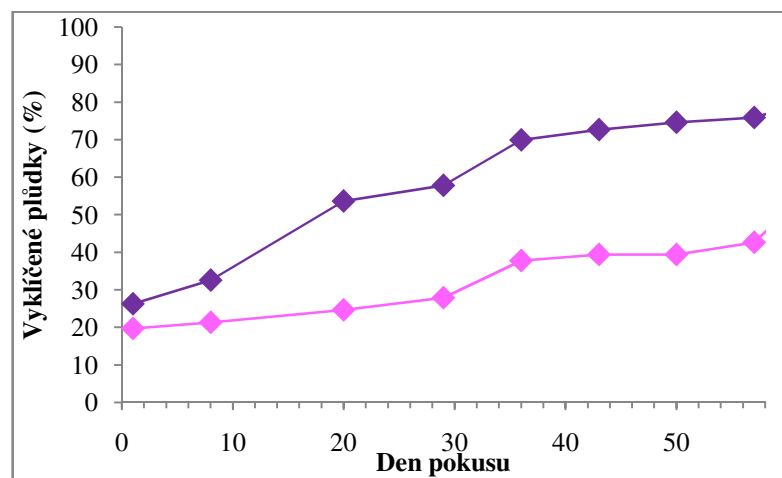
V experimentu bylo použito 1 460 plůdků z populace E-CZ-MS002 a 1 202 z populace E-CZ-JM08. Část plůdků z obou populací byla po dobu 6,5 měsíce před zahájením experimentu skladována ve vodě v režimu T2, zbytek po vysušení na vzduchu. Navzdory očekávání (viz Metodika) 26,3 % plůdků z populace E-CZ-JM08 vyklíčilo i za těchto nízkých teplot a bez přístupu světla. u populace E-CZ-MS002, kde byla část plůdků uchovávaných ve vodě buď (a) vyloupána z obalů plůdků, a nebo (b) ponechána na klasech, vyklíčilo v případě (a) 19,7 % plůdků a v případě (b) pouze 0,8 % plůdků.

Výsledky klíčícího experimentu shrnuje Tab. 49. Přenesené nevyklíčené plůdky z režimu T2 (4–6,5 °C, 0:24 hod) do režimu T1 (2 °C, 0:24 hod) neztratily svou klíčivost a po 57 dnech dosáhly klíčivosti 42,6 % (E-CZ-MS002) a 75,9 % (E-CZ-JM08, viz Obr. 63). Aby byla stanovena zbytková klíčivost plůdků, byly plůdky následně na dalších 27 dní přeneseny zpět do režimu T2 – rozdíl v maximálně 4,5 °C mezi režimy T1 a T2 přispěl ke zvýšení klíčivosti ještě dalších 26,3 % (E-CZ-MS002) a 11,2 % (E-CZ-JM08).

V režimech, kde pokus trval pouze 22 dní, bylo dosaženo nejvyšší klíčivosti v režimu T5 (22:12 °C, 13:11 hod) u obou populací (E-CZ-MS002 – 90,0 %; E-CZ-JM08 – 81,5 %). u všech režimů i populací bylo procento vyklíčených plůdků nižší než u plůdků bez přístupu světla. Nejvyšší procentuální rozdíl v klíčivosti na světle a bez něj byl zjištěn v režimu T3 (E-CZ-MS002 – 44,5 %; E-CZ-JM08 – 51,7 %).

Tab. 49: Počet a procento vyklíčených plůdků v roce 2015 v režimech T1_(+T2) po dobu 282 dní a T3, T5 a T7 po dobu 22 dní (N_C – počet plůdků celkem, N_V – počet vyklíčených plůdků, % – procento vyklíčených plůdků).

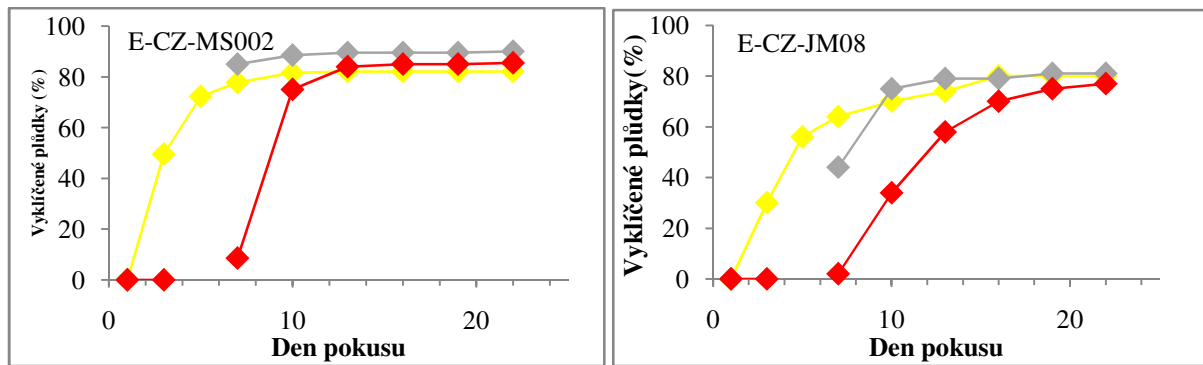
Populace	Režim t den:noc den:noc	T1 _(+T2) 2°C 0:24 hod	T3 15–17:7 °C 12:12 hod		T5 22:12 °C 13:11 hod		T7 25–30:20–25 °C 14:10 hod	
			světlo	tma	světlo	tma	světlo	tma
			E-CZ-MS002	N_C	61	200	200	200
	N_V	42	171	82	180	151	192	180
	%	68.9%	85.5%	41.0%	90.0%	75.5%	82.1%	76.9%
E-CZ-JM08	N_C	621	100	83	100	100	100	98
	N_V	542	77	21	81	77	80	56
	%	87.1%	77.0%	25.3%	81.0%	77.0%	80.0%	57.1%



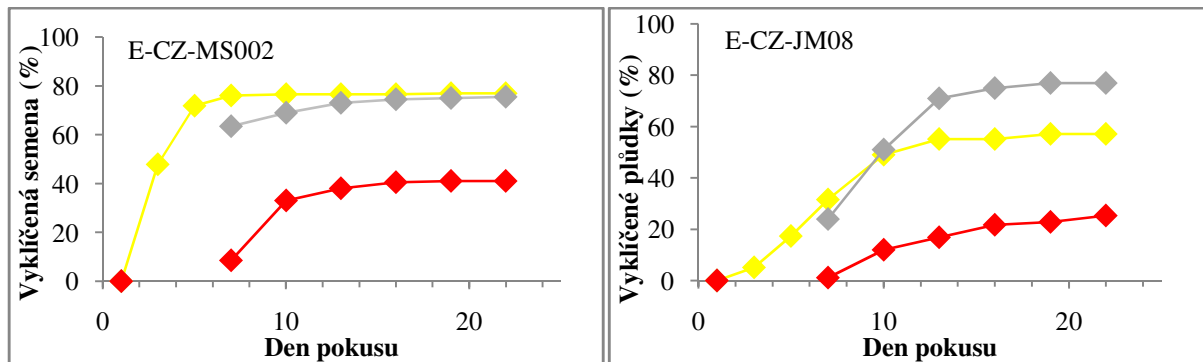
Obr. 63: Dynamika klíčení plůdků *M. spicatum* z populace E-CZ-JM08 (fialové značky) a E-CZ-MS002 (růžové značky) v režimu T1 podobu 57 dní.

Klíčivost vysušených plůdků z populace E-CZ-JM08 byla celkově nižší (67.5 %, režimy T3, T5 a T7) než u plůdků uchovávaných ve vodě z populace E-CZ-MS002 (75.4 %). Nižší klíčivosti vysušených plůdků odpovídá také výsledek klíčení 131 vysušených plůdků z populace E-CZ-MS002 v režimu T7. Do ukončení pokusu vyklíčil pouze jeden; pro zjednodušení není tento údaj ve výsledcích jinde uváděn. Plůdky nicméně zjevně klíčivé byly, protože poté, co byl pokus ukončen a odpojen zdroj světla, byly plůdky ponechány v klíčící komoře a po 20 dnech jejich klíčivost činila již 13.7 %, zatímco u ostatních plůdků zůstal stav nezměněn.

4. Výsledky



Obr. 64: Dynamika klíčení plůdků *M. spicatum* za přístupu světla v režimech T3 (červené značky), T5 (šedé značky) a T7 (žluté značky) z populací E-CZ-MS002 a E-CZ-JM08.

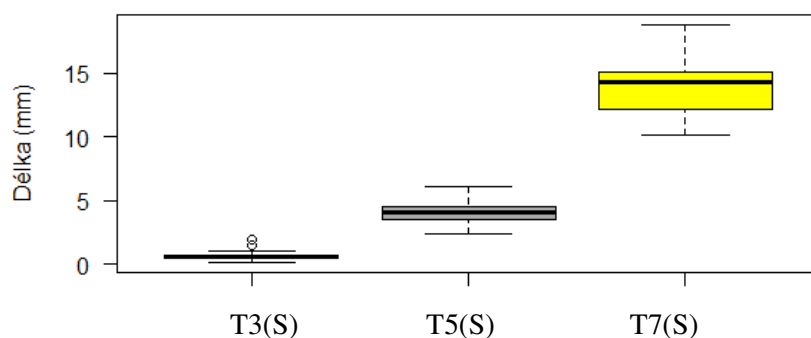


Obr. 65: Dynamika klíčení plůdků *M. spicatum* bez přístupu světla v režimech T3 (červené značky), T5 (šedé značky) a T7 (žluté značky) z populací E-CZ-MS002 a E-CZ-JM08.

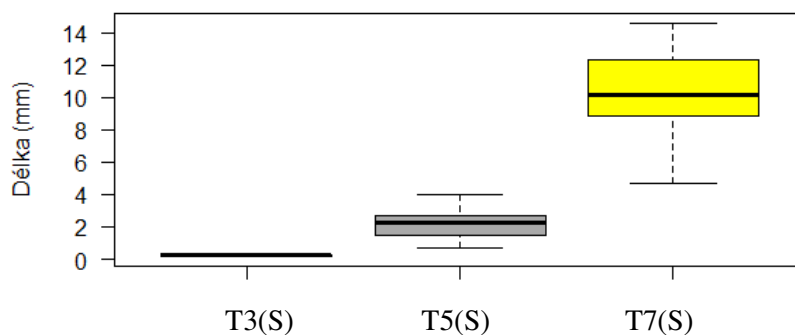
Porovnání dynamiky klíčení mezi režimy T3, T5 a T7 za přístupu světla ukazuje Obr. 64 a bez přístupu světla Obr. 65. Z obrázků je patrné, že čím vyšší teplota je v komoře nastavena, tím rychleji začínají plůdky klíčit. Stejný závěr je možné vyvodit z výsledků měření délek hypokotyly (k_1) a děložního listu (k_2) naklíčených plůdků 7. den od zahájení pokusu (viz Tab. 50 a Obr. 66 a Obr. 67). V režimu T7 (25–30:20–25 °C, 14:10 hod) dosahovaly součty délek hypokotylů a děložních listů (k_1+k_2) plůdků klíčených na světle (S , ve tmě neměřeno) nejvyšších hodnot u obou populací. Kruskal-Walisův test prokázal, že rozdíly mezi jednotlivými režimy jsou u obou populací signifikantní (E-CZ-S002: $\chi^2(2) = 82.03$, $p < 0.001$, E-CZ-JM08: $\chi^2(2) = 62.21$, $p < 0.001$). Vizuální srovnání klíčivosti plůdků umožňuje Obr. 68.

Tab. 50: Výsledky měření délky hypokotyly (k1) a děložního listu (k2) klíčků *M. spicatum* v režimech T3, T5 a T7 (N_M – počet měřených jedinců, průměr \pm s.d – průměrná délka (k1+k2) \pm směrodatná odchylka, R – rozsah).

Populace		Režim					
		T3		T5		T7	
		světlo	tma	světlo	tma	světlo	tma
E-CZ-MS002	N_M	17	17	40	40	40	
	průměr \pm s.d. (mm)	0.71 \pm 0.45	1.16 \pm 1.05	4.05 \pm 0.84	5.39 \pm 0.99	13.98 \pm 2.02	
	R (min – max, mm)	0.16 – 1.93	0.30 – 4.74	2.38 – 6.16	3.19 – 7.17	10.18 – 18.83	
E-CZ-JM08	N_M	2	1	40	25	40	
	průměr \pm s.d. (mm)	0.24 \pm 0.08	1.39	2.10 \pm 0.84	2.28 \pm 1.28	8.31 \pm 4.00	
	R (min – max, mm)	0.18 – 0.30	-	0.71 – 7.17	0.49 – 5.68	2.49 – 14.58	

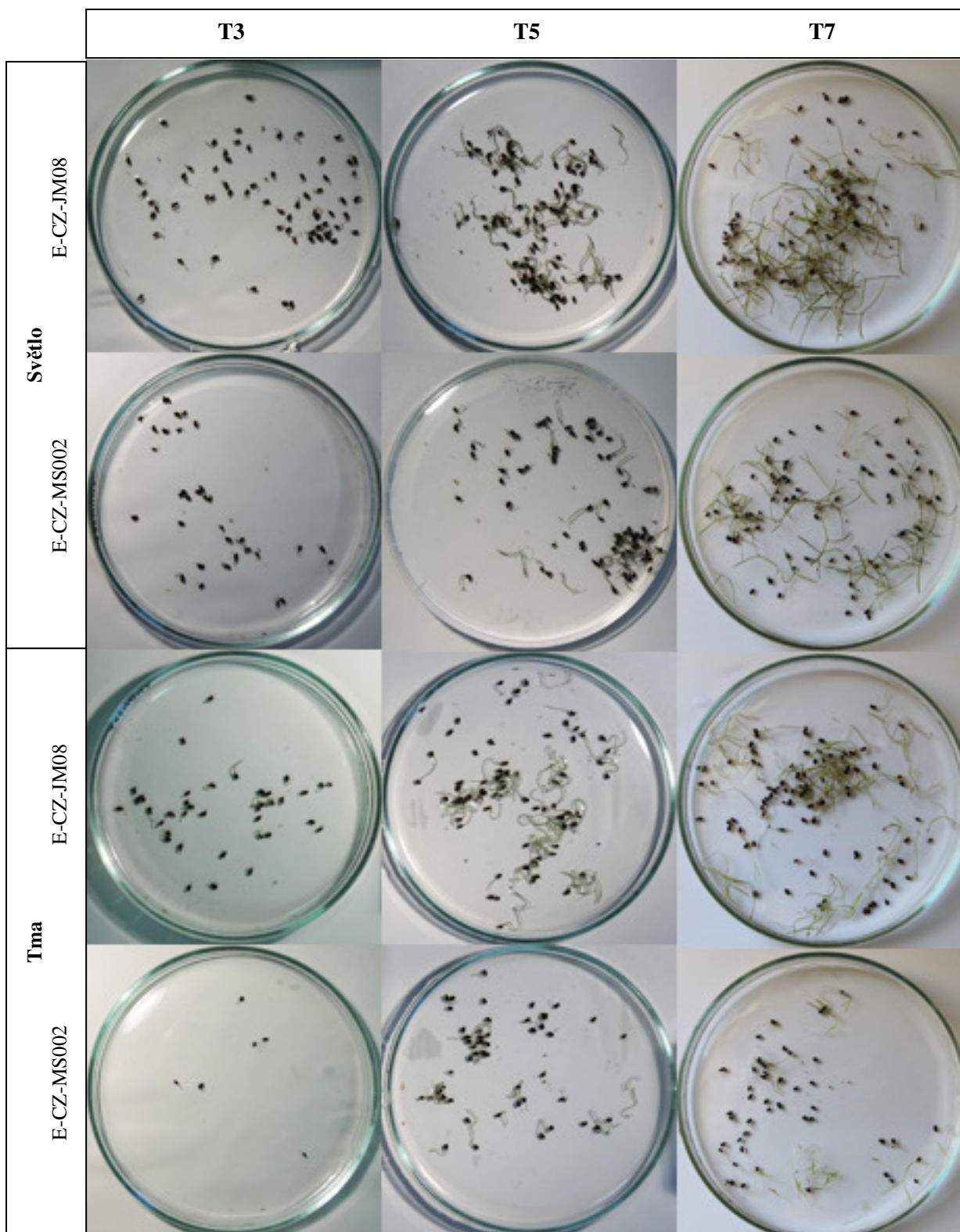


Obr. 66: Porovnání součtu délky hypokotyly a děložního listu mezi režimy T3 (S) – 17 jedinců, T5 (S) – 40 jedinců a T7 (S) – 40 jedinců 7. den pokusu u populace E-CZ-MS002 ($p < 0.001$).



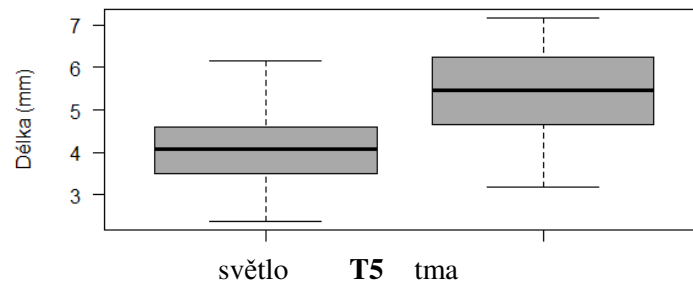
Obr. 67: Porovnání součtu délky hypokotyly a děložního listu mezi režimy T3 (S) – 2 jedinci, T5 (S) – 40 jedinců a T7 (S) – 40 jedinců 7. den pokusu u populace E-CZ-JM08 ($p < 0.001$).

4. Výsledky

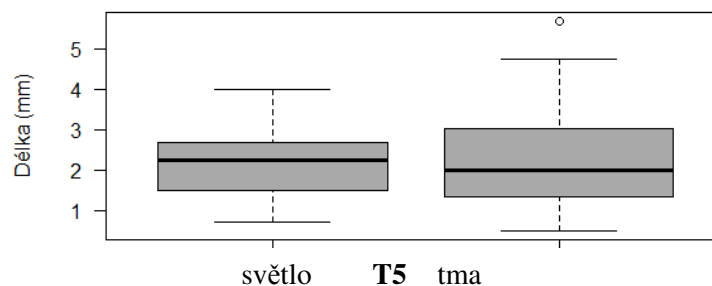


Obr. 68: Srovnání velikosti klíčků mezi režimy T3, T5 a T7 a populacemi E-CZ-MS002 a E-CZ-JM08 10. den pokusu.

Délky (k_1+k_2) byly porovnány také mezi režimy T5 (S, světlo) a T5 (T, tma). Obousměrný t-test prokázal rozdíl v délce ($k_1 + k_2$) u populace E-CZ-MS002 ($t(d.f.) = 75.944$, $p < 0.001$). V této populaci byly dle očekávání klíčky delší v režimu bez přístupu světla. u populace E-CZ-JM08 nebyl rozdíl signifikantní ($t(d.f.) = 36.900$, $p = 0.553$).

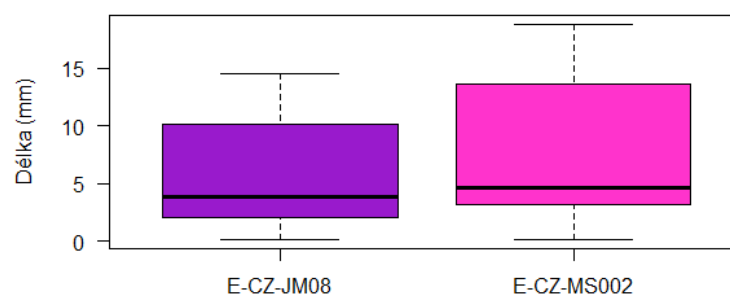


Obr. 69: Porovnání součtu délky hypokotylu a děložního listu ($k_1 + k_2$) v režimu T5 plůdků populace E-CZ-MS002 klíčených na světle (40 jedinců) a ve tmě (40 jedinců); $p < 0.001$.



Obr. 70: Porovnání součtu délky hypokotylu a děložního listu ($k_1 + k_2$) v režimu T5 plůdků populace E-CZ-JM08 klíčených na světle (40 jedinců) a ve tmě (25 jedinců); $p = 0.553$.

Obě populace se lišily počtem vyklíčených jedinců 7. den pokusu (E-CZ-MS002 – 699 vyklíčených plůdků, E-CZ-JM08 – 166 vyklíčených plůdků) i v délkách klíčků a děložních listů (k_1+k_2); jak prokázal neparametrický Wilcoxonův test ($Z = 3179$, $p = 0.021$), tzn. že plůdky uchovávané ve vodě z populace E-CZ-MS002 vyklíčily delšími klíčky než populace E-CZ-JM08 za stejnou dobu. Z krabicových diagramů je však patrné, že rozdíl v délce klíčků není příliš velký (viz Obr. 71).



Obr. 71: Porovnání součtu délky hypokotylu a děložního listu ($k_1 + k_2$) mezi populacemi E-CZ-JM08 (82 jedinců) a E-CZ-MS002 (97 jedinců) napříč všemi klíčícími režimy ($p = 0.021$, $\alpha = 5\%$).

4. Výsledky

V pozdějších fázích vývoje vyvinuly klíčící rostlinky mimo děložních listů také pravé listy (viz Obr. 72), poté vyčerpaly živiny uložené v semeni a odumřely. Přestože jsou plůdky zpravidla jednosemenné, ojediněle byly zaznamenány plůdky se dvěma semeny (viz Obr. 73).



Obr 72: Příklad plně vyvinutého semenáčku *M. spicatum* vyrostlého z plodu umístěného v kohoutkové vodě.



Obr. 73: Naklíčený plůdek (merikaripium, standardně jednosemenný) druhu *M. spicatum* z populace E-CZ-MS002, který obsahuje dvě semena.

4.4 Ekologické nároky

Ekologické nároky stolítků byly zjišťovány prostřednictvím osmi parametrů prostředí zjišťovaných na 135 evropských lokalitách. Na 12 lokalitách byl zaznamenán sympatrický výskyt dvou druhů *Myriophyllum*, které většinou zaujímaly ve vodním tělese podobný prostor a tudíž i parametry prostředí byly v podstatě shodné. Data byla zároveň srovnána s výsledky výzkumu v Severní Americe (Kubátová et al., unpubl.). Základní popisné statistiky parametrů p1–p7 jsou uvedeny v Tab. 51. Tabulka vodních makrofyt, které doprovázely druhy *Myriophyllum* (p8) je uvedena v Příloze 3.

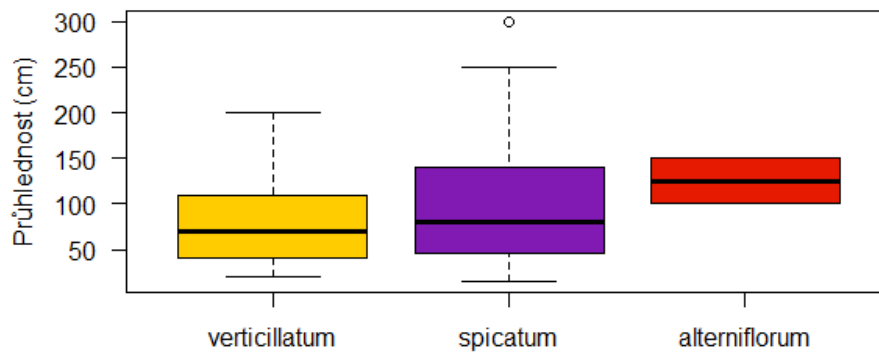
4. Výsledky

Tab. 51: Popisné statistiky 7 parametrů prostředí ve 159 evropských a 141 severoamerických populacích druhů *M. alterniflorum*, *M. sibiricum*, *M. spicatum* a *M. verticillatum* (s.d. – směrodatná odchylka, R – rozsah, N – počet populací, kde bylo možné parametr změřit, u p3 a p5 je průměr nahrazen modem).

	Parametr	p1 [cm]	p2 [cm]	p3 [škála]	p4 [cm]	p5 [škála]	p6 [m.n.m]	p7 [poměr]
Evropa								
<i>ALT</i>	průměr ± s.d.	125 ± 35	61 ± 35	6	7 ± 20	3	493 ± 235	0.94 ± 0.16
	medián	125	50	–	0	–	522	1.00
	R (min–max)	100–150	20–150	–	0–70	–	16–985	0.47–1.00
	N	2	19	18	18	19	20	13
<i>SIB</i>	průměr ± s.d.	30	30	1	15	1	2	1.00
	medián	30	30	–	15	–	0	1.00
	R (min–max)	–	–	–	–	–	0–9	–
	N	2	2	2	1	2	4	2
<i>SPI</i>	průměr ± s.d.	97 ± 68	112 ± 67	1	14 ± 17	1	303 ± 172	1.35 ± 1.10
	medián	100	110	–	5	–	283	1.00
	R (min–max)	15–300	20–300	–	0–60	–	0–700	0.00–6.67
	N	81	75	95	76	94	104	79
<i>VER</i>	průměr ± s.d.	81 ± 48	97 ± 50	1	28 ± 28	26	313 ± 76	1.26 ± 0.95
	medián	70	92	–	20	–	281	1.00
	R (min–max)	20–200	30–200	–	0–100	–	0–608	0.00–4.55
	N	27	26	26	27	1	31	27
Severní Amerika								
<i>SIB</i>	průměr ± s.d.	164 ± 73	119 ± 50	1	18 ± 16	1	417 ± 576	1.13 ± 0.89
	medián	150	110	–	15	–	227	0.80
	R (min–max)	60–300	40–200	–	0–50	–	6–1932	0.89
	N	11	12	15	11	6	15	9
<i>SPI</i>	průměr ± s.d.	132 ± 75	97 ± 61	2	22 ± 16	1	206 ± 148	1.68 ± 1.10
	medián	100	100	–	20	–	191	1.35
	R (min–max)	15–300	15–350	–	0–70	–	-15–700	1.1
	N	68	44	102	45	82	107	18
<i>VER</i>	průměr ± s.d.	104 ± 58	120 ± 54	1	48 ± 30	1	378 ± 649	1.20 ± 0.29
	medián	105	100	–	40	–	168	1.07
	R (min–max)	20–200	75–200	–	25–100	–	7–1950	0.29
	N	8	5	8	5	2	8	5

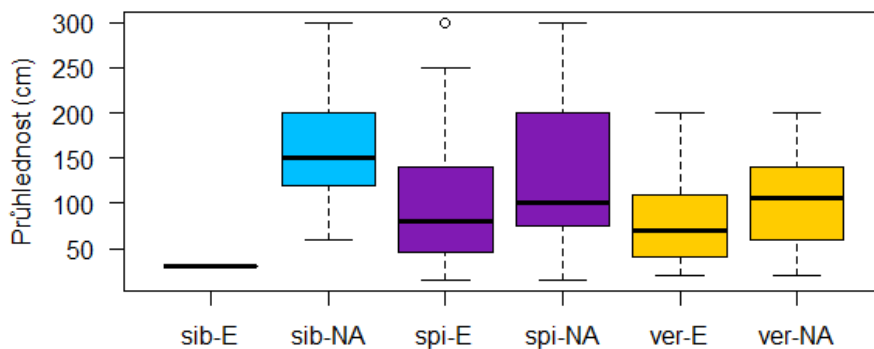
4.4.1 Průhlednost vody (p1):

V průměru rostou *M. spicatum* ($\bar{x} = 97$ cm) a *M. verticillatum* ($\bar{x} = 81$ cm) ve vodě o podobné průhlednosti (viz Obr. 74). Maximální zjištěná průhlednost u *M. verticillatum* (max = 200 cm) je však nižší než u *M. spicatum* (max = 300 cm). u druhu *M. alterniflorum*, který roste v mělkých a čistých vodách, nebylo možné na lokalitě zjistit průhlednost a do analýzy byly zahrnuty pouze dvě populace s dostatečně hlubokým dnem; pro možnost porovnání průhlednosti i u jiných populací byl odvozen parametr p8 (viz níže).



Obr. 74: Porovnání průhlednosti vody (cm, p1), ve které rostly druhy *M. alterniflorum*, *M. spicatum* a *M. verticillatum*.

V porovnání s evropskými populacemi rostli severoameričtí jedinci *M. spicatum* a *M. verticillatum* ve vodách o vyšší průhlednosti než v Evropě. u *M. spicatum* činil rozdíl mezi průměrnou průhledností 35 cm, u *M. verticillatum* 23 cm (viz Obr. 75). Dvě evropské populace *M. sibiricum* podobně jako *M. alterniflorum* rostly v mělké vodě, a proto nebylo možné průhlednost změřit.

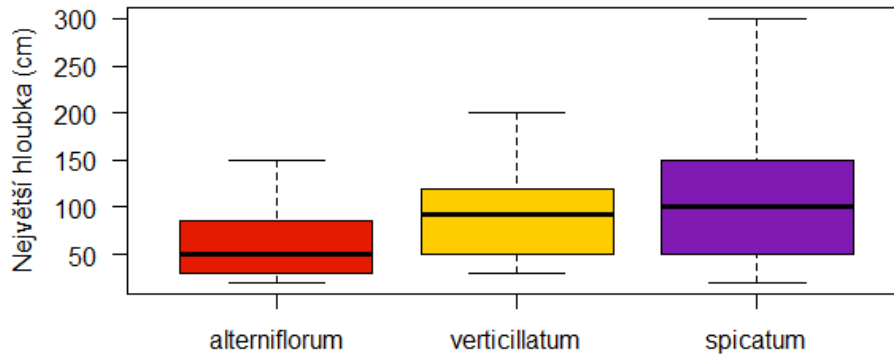


Obr. 75: Rozdíly v naměřených hodnotách průhlednosti vody (cm, p1) mezi evropskými (-E) a severoamerickými (-NA) populacemi *M. sibiricum* (sib), *M. spicatum* (spi) a *M. verticillatum* (ver).

4. Výsledky

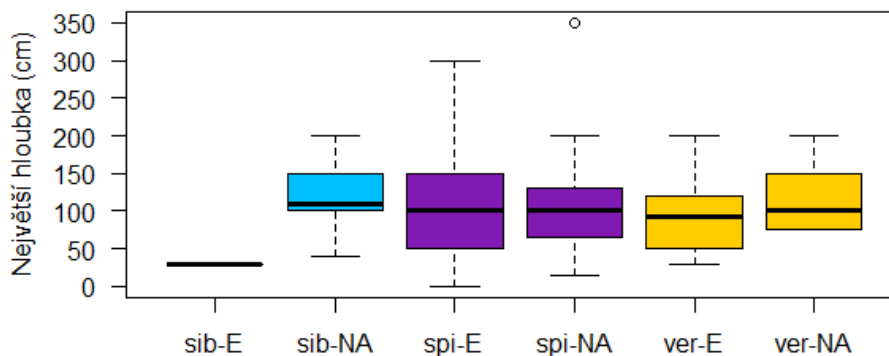
4.4.2 Největší hloubka, kde *Myriophyllum* roste (p2):

Druh *M. alterniflorum* rostl v nejmenších hloubkách ($\bar{x} = 61$ cm). Druh *M. verticillatum* ($\bar{x} = 97$ cm) se vyskytoval v průměru podobných hloubkách jako *M. spicatum* ($\bar{x} = 111$ cm), nicméně rozsah hodnot byl u *M. verticillatum* (R = 20–200 cm) mnohem menší než u *M. spicatum* (R = 20–300 cm).



Obr. 76: Porovnání maximální hloubky vody (cm, p2), kde rostly druhy *M. alterniflorum*, *M. spicatum* a *M. verticillatum*.

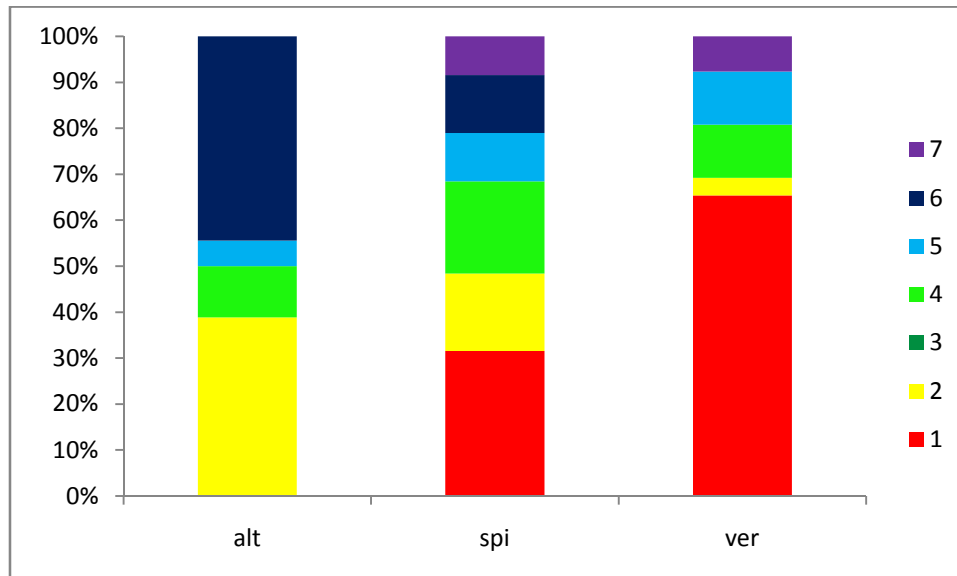
V severoamerických populacích *M. verticillatum* a *M. sibiricum* rostliny rostly ve vyšších hloubkách (viz Obr. 77). Rozdíl v průměrné hloubce činil 134 cm u *M. sibiricum* a 23 cm u *M. verticillatum*. u *M. sibiricum* je ale nutné přihlédnout k tomu, že údaje jsou dostupné jen ze dvou evropských populací. Nicméně určitou vypovídací hodnotu má minimální zaznamenaná hloubka, která byla v evropských populacích *M. sibiricum* o polovinu nižší než v severoamerických populacích ($\min_E = 30$ cm; $\min_{NA} = 60$ cm). Populace *M. spicatum* se mezi areály v průměru téměř nelišily ($\bar{x}_E = 111$ cm, $\bar{x}_{NA} = 97$ cm).



Obr. 77: Rozdíly v maximálních hloubkách, kde *Myriophyllum* roste (cm, p2) mezi evropskými (–E) a severoamerickými (–NA) populacemi *M. sibiricum* (sib), *M. spicatum* (spi) a *M. verticillatum* (ver).

4.4.3 Struktura podloží (p3):

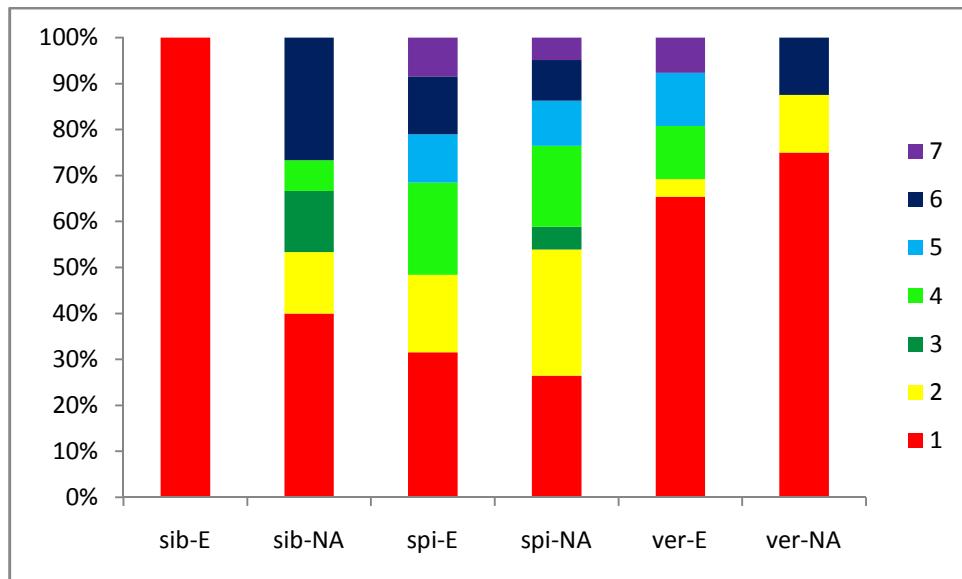
Žádná z evropských populací nerostla na čistě kamenitém podloží (viz Obr. 78). Druh *M. alterniflorum* nejčastěji rostl na písčitém (7 populací) a písčito-kamenitém podloží (8 populací); žádná populace *M. alterniflorum* se nevyskytovala na bahnitěm nebo bahnito-písčito-kamenitém podloží. Druh *M. spicatum* byl nejčastěji nalezen na bahnitěm (30 populací) a bahnito-písčitém podloží (19 populací), další typy podloží byly zastoupeny poměrně rovnoměrně. Druh *M. verticillatum* je svým výskytem vázán nejvíce na bahnitě podloží (17 populací), v žádném případě nebyl detekován na písčito-kamenitém podloží.



Obr. 78: Porovnání struktury podloží (p3), v místě růstu druhů *M. alterniflorum* (alt), *M. spicatum* (spi) a *M. verticillatum* (ver); 1 – bahnitě, 2 – písčité, 3 – kamenité, 4 – bahnito-písčité, 5 – bahnito-kamenité, 6 – písčito-kamenité, 7 – bahnito-písčito-kamenité.

Oproti Evropě byly v Severní Americe zaznamenány populace *M. sibiricum* a *M. spicatum* rostoucí na čistě kamenitém podloží (viz Obr. 79). *M. sibiricum* se v Evropě vyskytovalo jen na bahnitěm podloží (2 populace), v Severní Americe nejčastěji rostlo na bahnitěm (6 populací) a písčito-kamenitém podloží (4 populace). Severoamerické populace *M. spicatum* většinou měly bahnitě (27 populací) nebo písčité podloží (28 populací). u severoamerických populací *M. verticillatum* byly zjištěny pouze tři typy podloží, nejčastěji opět bahnitě (6 populací), poté písčité (1 populace) nebo písčito-kamenité (1 populace).

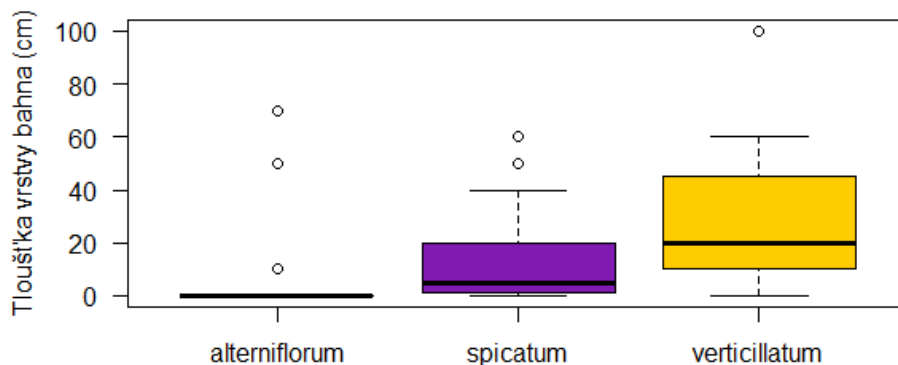
4. Výsledky



Obr. 79: Porovnání struktury podloží (p3) mezi evropskými (-E) a severoamerickými (-NA) populacemi *M. sibiricum* (sib), *M. spicatum* (spi) a *M. verticillatum* (ver); 1 – bahnité, 2 – písčité, 3 – kamenité, 4 – bahnito-písčité, 5 – bahnito-kamenité, 6 – písčito-kamenité, 7 – bahnito-písčito-kamenité.

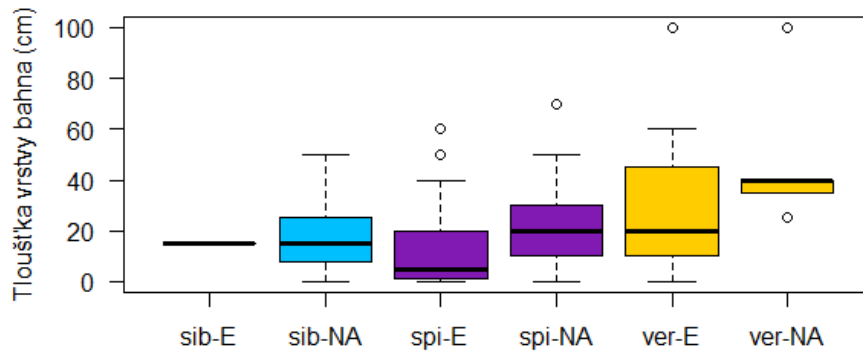
4.4.4 Tloušťka vrstvy bahna (p4)

Pouze u 3 populací *M. alterniflorum* byla zaznamenána přítomnost vrstvy bahna (viz Obr. 80). Jednalo se o dvě netypické populace v jihozápadních Čechách a jednu ve Velké Británii. Tloušťka vrstvy bahna byla v průměru dvakrát větší u *M. verticillatum* ($\bar{x} = 28$ cm) než u *M. spicatum* ($\bar{x} = 14$ cm) a při porovnání mediánů je rozdíl dokonce 4násobný. Také maximální naměřená vrstva bahna je o 40 cm tlustší než u *M. spicatum*.



Obr. 80: Porovnání tloušťky vrstvy bahna (cm, p4) na lokalitách druhů *M. alterniflorum*, *M. spicatum* a *M. verticillatum*.

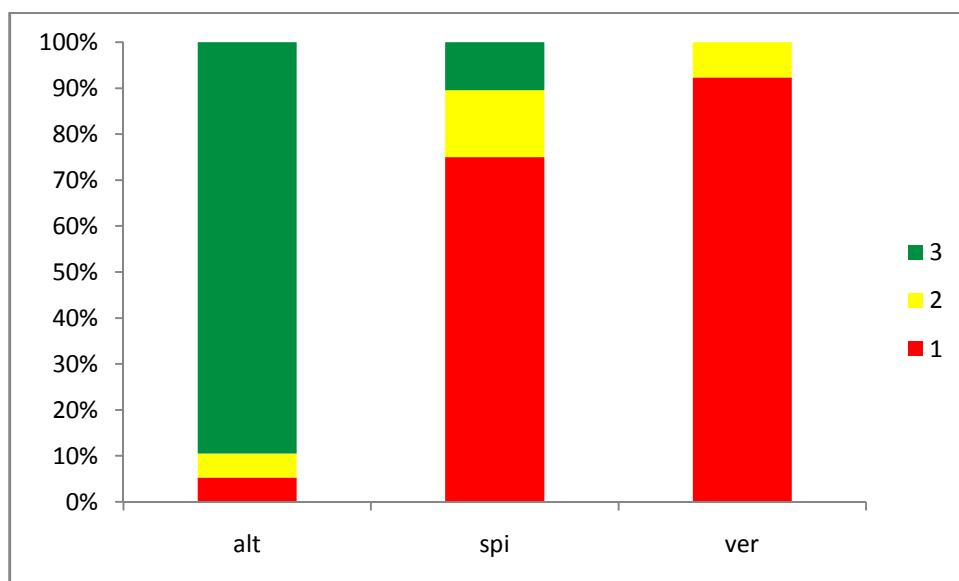
V severoamerických populacích *M. spicatum* byla vrstva bahna v průměru o 8 cm tlustší než u evropských populací ($\bar{x}_E = 14$ cm, $\bar{x}_{NA} = 22$ cm), u *M. verticillatum* činil rozdíl dokonce 20 cm ($\bar{x}_E = 28$ cm, $\bar{x}_{NA} = 48$ cm; viz Obr. 81). Populace *M. sibiricum* se mezi areály v tomto parametru téměř nelišily ($\bar{x}_E = 15$ cm, $\bar{x}_{NA} = 18$ cm).



Obr. 81: Porovnání tloušťky vrstvy bahna (cm, p4) mezi evropskými (-E) a severoamerickými (-NA) populacemi *M. sibiricum* (sib), *M. spicatum* (spi) a *M. verticillatum* (ver).

4.4.5 Rychlost proudění vody (p5)

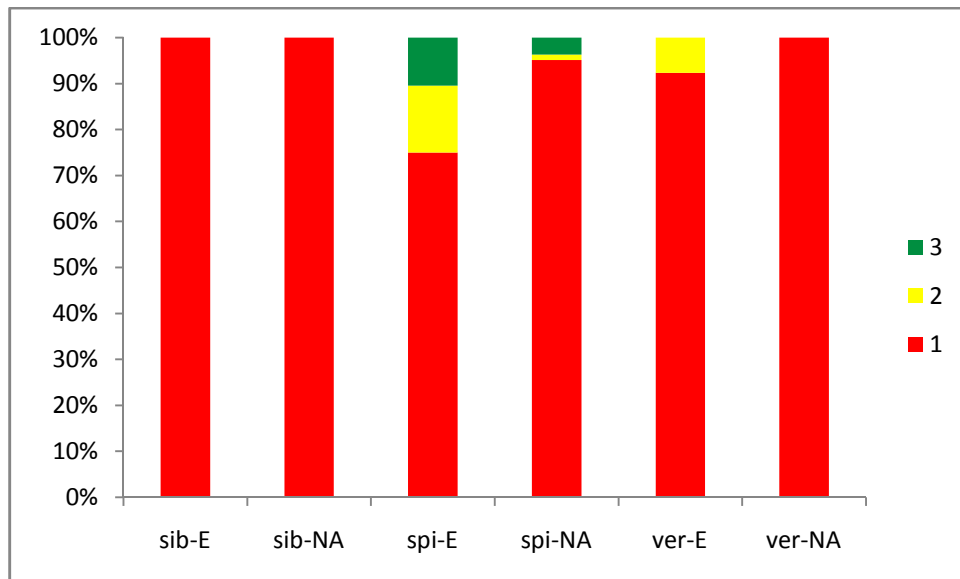
Druh *M. alterniflorum* rostl u 90 % populací v rychle tekoucí vodě, ale byla nalezena i jedna populace ve Velké Británii se stojatou vodou (viz Obr. 82). Druhy *M. spicatum* a *M. verticillatum* se většinou vyskytovaly ve stojaté vodě (75 %, tj. 72 populací a 92 %, tj. 24 populací), popř. v mírně tekoucí vodě (15%, tj. 14 populací a 8%, tj. 2 populace). *M. verticillatum* však nebylo nikdy zjištěno v rychle tekoucí vodě oproti 10% populací *M. spicatum* (tj. 10 populací).



Obr. 82: Porovnání rychlosti proudění vody (p5) na lokalitách druhů *M. alterniflorum* (alt), *M. spicatum* (spi) a *M. verticillatum* (ver); 1 – stojatá, 2 – pomalu tekoucí, 3 – rychle tekoucí.

V obou areálech rostl druh *M. sibiricum* pouze ve stojaté vodě (viz Obr. 83). Na severoamerických lokalitách *M. verticillatum* nebyla nalezena žádná populace s pomalu tekoucí vodou. Také u severoamerických populací *M. spicatum* se lokality se stojatou vodou vyskytovaly o 20 % častěji na úkor pomalu a rychle tekoucích vod.

4. Výsledky

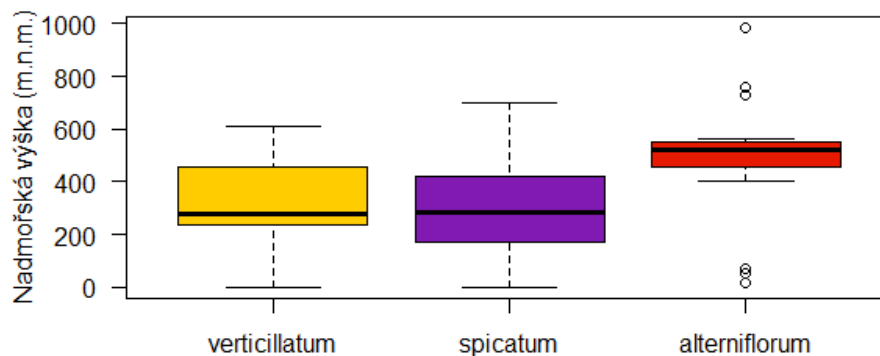


Obr. 83: Porovnání rychlosti proudění vody (p5) mezi evropskými (–E) a severoamerickými (–NA) populacemi *M. sibiricum* (sib), *M. spicatum* (spi) a *M. verticillatum* (ver); 1 – stojatá, 2 – pomalu tekoucí, 3 – rychle tekoucí.

4.4.6 Nadmořská výška (p6)

Druh *M. alterniflorum* má největší rozpětí nadmořské výšky, ve které je schopen růst ($R = 16\text{--}985$ m. n. m., viz Obr. 84) a v průměru obsazuje ze tří uvedených druhů nejvyšší nadmořské výšky ($\bar{x} = 493$ m. n. m.).

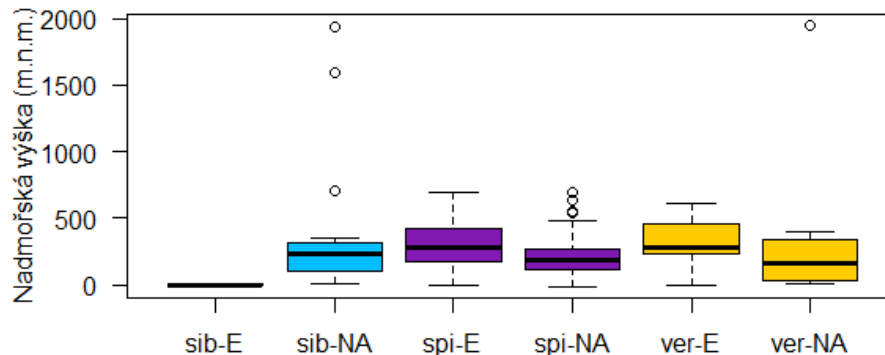
M. spicatum bylo nalezeno v nadmořských výškách 0–700 m. n. m, populace *M. verticillatum* zasahovaly jen do nadmořských výšek 608 m. n. m. Průměrné nadmořské výšky, ve kterých se druhy *M. spicatum* ($\bar{x} = 313$ m. n. m.; medián = 289 m. n. m) a *M. verticillatum* ($\bar{x} = 303$ m. n. m.; medián = 281 m. n. m.) vyskytovaly byly srovnatelné.



Obr. 84: Porovnání nadmořské výšky (m. n. m., p6) na lokalitách druhů *M. alterniflorum*, *M. spicatum* a *M. verticillatum*.

Severoamerické populace *M. verticillatum* (max = 1950 m. n. m.) a *M. sibiricum* (max = 1932 m. n. m.) byly zjištěny v nejvyšších nadmořských výškách ze všech studovaných druhů. *M. sibiricum* bylo v Evropě nalezeno pouze na úrovni hladiny moře. Severoamerické populace druhů *M. spicatum* ($\bar{x} = 206$ m, medián = 191 m. n. m) se vyskytovaly v nižších nadmořských výškách než populace

evropské. Podobně i severoamerické populace *M. verticillatum* se při srovnání mediánů (medián = 168 m.n.m) vyskytovaly v nižších nadmořských výškách než evropské, při porovnání průměrů byla díky odlehlé hodnotě situace opačná (\bar{x} = 378 m.n. m.). Po vyloučení této odlehlé hodnoty činí průměr pro severoamerické populace \bar{x} = 154 m.n. m a medián 130 m.n.m.

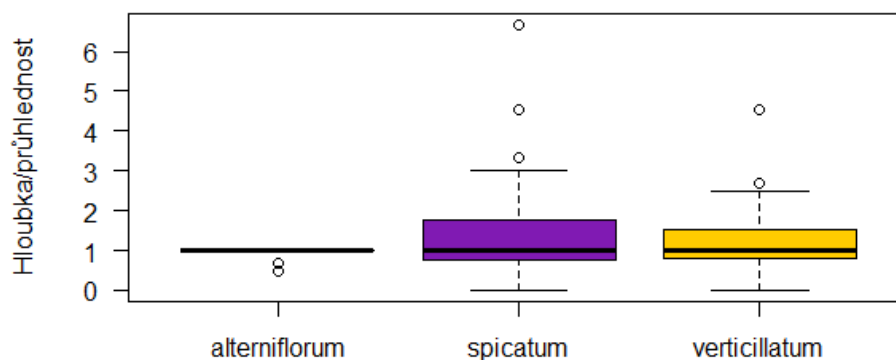


Obr. 85: Porovnání nadmořské výšky (m. n. m., p6) mezi evropskými (-E) a severoamerickými (-NA) populacemi *M. sibiricum* (sib), *M. spicatum* (spi) a *M. verticillatum* (ver).

4.4.7 Největší hloubka, kde *Myriophyllum* rostlo ku průhlednosti vody (p7):

U poměru, který je > 1 , byla průhlednost nižší než hloubka, kde *Myriophyllum* rostlo. u poměru, který je ≤ 1 , nebylo možné průhlednost kvůli nízké hladině vody zjistit, nebo byla průhlednost vyšší než hloubka, kde *Myriophyllum* rostlo. Poměr by měl také odstínit možné rozdíly ve změřených hodnotách u různých sběratelů.

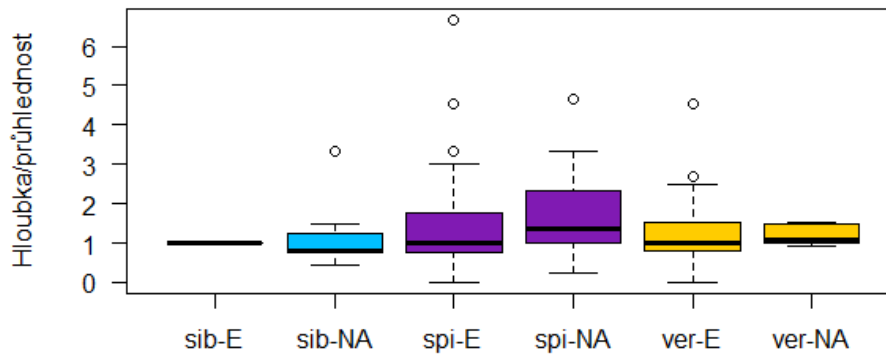
Mediány parametru p7 jsou shodně rovné 1.00 u je prakticky shodný u všech druhů *M. alterniflorum*, *M. spicatum* a *M. verticillatum* (viz Obr. 86). Pokud porovnáme průměrné hodnoty paramteru p7, pak *M. alterniflorum* roste ve vodách s nejnižší průměrnou hodnotou (\bar{x} = 0.94), následuje druh *M. verticillatum* (\bar{x} = 1.26) a nejvyšší hodnoty p7 byly zjištěny u *M. spicatum* (\bar{x} = 1.35). Odlehlé hodnoty u druhu *M. spicatum* byly naměřeny na lokalitách ve východních Čechách, jižním Německu a v jihozápadním Slovensku buď v extrémně znečištěných vodách nebo krátce po dešti. Nejdlehlější hodnota parametru p7 u *M. verticillatum* byla zjištěna na stejné lokality ve východních Čechách jako u *M. spicatum* zmiňované výše.



Obr. 86: Porovnání největší hloubky, kde *Myriophyllum* rostlo ku průhlednosti vody (p7) na lokalitách druhů *M. alterniflorum*, *M. spicatum* a *M. verticillatum*.

4. Výsledky

U severoamerických populací se průměry od evropských populací výrazně neliší až na severoamerické populace *M. spicatum*, kde hodnoty parametru p7 nabývají vyšších hodnot než v Evropě ($\bar{x} = 1.26$, medián = 1.35). Tento údaj koresponduje s výsledkem, že severoamerické lokality *M. spicatum* rostou v čistších vodách než evropské.



Obr. 87: Porovnání největší hloubky, kde *Myriophyllum* rostlo ku průhlednosti vody (p7) mezi evropskými (-E) a severoamerickými (-NA) populacemi *M. sibiricum* (sib), *M. spicatum* (spi) a *M. verticillatum* (ver).

4.4.8 Další vodní makrofyta (p8)

V evropských a severoamerických populacích bylo zjištěno 56 rodů, resp. 136 druhů vodních makrofyt doprovázející výskyt rodu *Myriophyllum*. Předběžné analýzy nevykazovaly žádnou vazbu na druhy *Myriophyllum*, a tudíž jsou výsledky prezentovány pouze v Příloze 3 výčtem druhů doprovázející konkrétní druh *Myriophyllum* v Evropě.

5. Diskuze

5.1 Rozšíření druhů v Evropě

Zatímco terestrické rostliny jsou svým výskytem většinou vázány na jeden kontinent, u vodních rostlin se jedná jen přibližně o 40 % druhů (Sculthorpe, 1967). U rodu *Myriophyllum* však vykazují těsnou vazbu na jeden kontinent 90 % druhů, popř. 87 %, pokud uvažujeme současné rozšíření introdukovaných druhů (Moody & Les, 2010). Nejvyšší míra endemismu je pozorována v Austrálii (37 endemických druhů) a Evropa je v porovnání s ní druhově chudá. Žádný z našich čtyřech původních druhů není v Evropě endemický, jen *M. spicatum* je omezen svým původním výskytem na Eurasii; zbývající druhy *M. alterniflorum*, *M. sibiricum* a *M. verticillatum* se nalézají na celé severní polokouli.

V rámci výzkumu bylo na území České republiky nejčastěji nalezeno *M. spicatum* a také v celoevropském měřítku se jedná o druh nejběžnější. Přesto nebylo mnohdy možné lokality udávané v literatuře ověřit, protože podobně jako jiné vodní rostliny, vykazují i populace stolítků značnou sezonalitu a mohou se na lokalitě objevit jen jednou za mnoho let. I z dlouhodobého hlediska je dynamika výskytu populací poměrně značná, a proto se s každým rokem, o který je nález starší, snižuje pravděpodobnost, že na lokalitě budou stolítky přítomny.

Poněkud jiným případem je *M. verticillatum*, který je druhým nejběžnějším druhem v České republice, kde je svým výskytem vázán hlavně na severní a severovýchodní Čechy a jižní Moravu. Ačkoliv například v Databance flóry České republiky (2015) je soustředěno více než 180 publikovaných lokalit, podařilo se ověřit pouze 23 populací *M. verticillatum* (v celé Evropě bylo nalezeno 49 populací). Domnívám se, že toto nízké číslo již není projevem sezonality výskytu stolítků, nýbrž celkovým úbytkem *M. verticillatum* v České republice. Podobný názor sdílí i někteří další botanici zabývající se vodními rostlinami (Prančl, pers. comm.; Rybka, pers. comm.), a i když je v Moravskoslezském kraji druh v Červeném seznamu řazen pouze k ohroženým rostlinám (Sedláčková & Plášek, 2005), údajně je považován v tomto kraji již za neznámý druh (Prančl, pers. comm.). Důvodem může být postupný úbytek stanovišť s velkou vrstvou organického bahna, na která je tento druh primárně vázán (Šumberová, 2011).

Poslední druh České republiky *M. alterniflorum* je v Červeném seznamu řazen k silně ohroženým druhům (C2r; Grulich, 2012). Jeho populace jsou však stabilní a v těžišti svého výskytu na horním toku Vltavy se jedná o druh zcela běžný. V poslední době se dokonce jeho areál výskytu rozšiřuje (Rydlo & Vydrová, 2000). V Čechách bylo navštíveno 16 lokalit *M. alterniflorum* (v Evropě celkem 26 lokalit) a podařilo se ověřit nově nalezené populace ve slepém rameni Nemanického potoka u Domažlic (Rydlo 2011). Naproti tomu nebyly nalezeny populace *M. alterniflorum* v nejhornějším toku Vltavy u Lenory (Rydlo, 1995), ani na řece Otavě (Moravec, 1973; Paulič 1998, in Databanka

5. Diskuze

flóry ČR), v druhém případě se tudíž zdá pravdivá domněnka Bufkové & Rydla (2008), že v Otavě se druh již nevyskytuje.

Poslední z původních evropských druhů *M. sibiricum* nebyl v České republice nalezen a jeho nejbližší zjištěné populace byly zjištěny v Nizozemí, těžiště výskytu se nalézá ve Skandinávii (Faegri, 1982).

V rámci předkládané práce byl ověřen výskyt nepůvodního *M. aquaticum* v termálních potocích v severním Maďarsku u obcí Detk a Kács (Illés et al., 2006), v prvním případě byl nalezen pouze jeden úlomek emerzní části lodyhy, v druhém případě se jednalo o velice hustý porost v úseku přibližně 300 metrů. *M. aquaticum* bylo do Evropy introdukováno z Jižní Ameriky již v roce 1880 (Cook 1968; Thiébaud 2007) a v některých oblastech zdomácnělo (např. v jižní Francii [Thiébaud, 2007], Německu [Hussner et al., 2010] a Portugalsku [Moreira, Monteiro & Ferreira, 1999]). V Severní Americe se jedná o agresivní invazní druh (Thiébaud 2007) a existují obavy, že by se mohl invazně šířit po Evropě. Sheppard, Shaw & Sforza (2006) ho řadí mezi 20 nejnebezpečnějších invazních rostlin Evropy. Přestože se uvádí, že *M. aquaticum* není schopné růst při teplotách nižších než 8 °C (Duarte et al., 1984, in Moreira, Monteiro & Ferreira, 1999), u populací v Německu bylo zjištěno, že po dobu nejméně 6 týdnů dokážou zůstat pod ledem v zeleném stavu a zimu přečkají v různých typech vod i bez jakékoliv termální anomálie (Hussner, Weyer & Busch, 2009, podobně také Warrington, 1985). Od roku 1988, kdy bylo *M. aquaticum* poprvé do západního Německa introdukováno však nedošlo k žádnému závažnému šíření do okolních spolkových republik (Hussner et al., 2010), a tudíž nejspíše nejsou obavy z jeho invazního šíření po České republice opodstatněné.

Situace je odlišná u druhého nepůvodního druhu *M. heterophyllum* introdukovaného do Německa na konci 50. let 20. století ze Severní Ameriky (Stricker, 1962 in Hussner et al., 2010). Druh je v Německu považován za běžný a vyskytuje se v šesti spolkových republikách, z nichž nejbližší České republice je Sasko. Další blízký zdokumentovaný výskyt je v Maďarsku (v lese u obce Szomód SZ od Budapešti; Barina, 2006) a v Rakousku (Oberdorf am Weiz ve Štýrsku, Höpflinger, 1948). V Evropě byl zaznamenán ještě v nejméně dalších šesti státech (Cirujano & Medina, 1997; Cook, 1968; Dutartre et al., 1997; Egloff 1974; Kubátová, pers. comm, 2012; Lebreton, 2013). V rámci výzkumu Kubátová et al. byl také na několika lokalitách v severozápadní Evropě pozorován. Potenciál *M. heterophyllum* k invaznímu šíření je velký, jelikož je na rozdíl od tropického *M. aquaticum* přizpůsoben nízkým teplotám ve svém původním areálu na jihovýchodě Severní Ameriky. Nedávno došlo navíc k objevení položky *M. heterophyllum* pocházející z Plzně – Skvrňan z roku 1925 (Prančl, 2015, in press). O položce nebylo možné nic bližšího dohledat, a tudíž nelze s určitostí říci, zda se jedná o rostlinu pocházející z přirozené populace nebo pěstovanou v kultuře. I kdyby šlo však o druhou možnost, lze na základě současného rozšíření *M. heterophyllum* v okolních státech v budoucnu očekávat zanesení *M. heterophyllum* do České republiky.

5.2 Cytotypová variabilita a velikost genomu

Až donedávna nebylo známo mnoho chromozomových počtů rodu *Myriophyllum* (Moody & Les, 2010), a proto byla v této práci věnována zvýšená pozornost zhodnocení cytotypové variability rodu. Díky výzkumu Kubátové et al. ve spolupráci s Terezií Mandákovou byly chromozomové počty nově zjištěny u devíti taxonů (převážně severoamerických) a ověřeny u pěti taxonů. Ze zjištěných chromozomových počtů lze odvodit, že základním chromozomovým číslem je $x = 7$, jak uvádí Löve & Löve (1948) a údaj v novější publikaci Löve & Löve (1961) $x = 6$ je nepřesný a vztahuje se pravděpodobně k jiným rodům čeledi Haloragaceae (nejspíše rod *Gonocarpus*, Rice et al., 2015). Výsledky průtokové cytometrie bylo možné na základě těchto výsledků standardizovat a stanovit v Evropě výskyt pěti ploidních úrovní – diploidní, tetraploidní, hexaploidní, oktoploidní a nonaploidní.

Vnitrodruhová cytotypová variabilita byla nalezena u dvou druhů – *M. aquaticum* a *M. sibiricum*. Zatímco v případě *M. aquaticum* se jednalo o jedinou smíšenou populaci dvou cytotypů (hexaploidní a oktoploidní), obě ploidní úrovně *M. sibiricum* (hexaploidní a nonaploidní) byly v Evropě nalezeny opakovaně, ale byly vždy prostorově separované (netvořily sympatrické populace). Nonaploidní *M. sibiricum* bylo objeveno v Belgii, Dánsku, Nizozemí a Švédsku, hexaploidní *M. sibiricum* zatím pouze v Litvě a zdá se, že nonaploidní jedinci v Evropě převažují. V Severní Americe je situace opačná, hexaploidní *M. sibiricum* bylo zjištěno na severu a severozápadě spojených států a nonaploidní jedinec byl nalezen pouze jednou v severozápadní části USA ve státě Washington.

V severoamerických populacích *M. aquaticum* byla zaznamenána pouze oktoploidní úroveň, a tudíž je hexaploidní *M. aquaticum* z Maďarska zvláštností. Moody & Les (2010) na základě ITS sekvencí odvodili, že v celém invazním areálu Severní Ameriky roste jediný klon samičí rostliny z Jižní Ameriky. Zanalyzovali však také dva jedince *Myriophyllum* sp. pocházející z akvarijní kultury z Austrálie a Spojených států. Tito jedinci byli sekvencemi ITS i schopností vytvářet emerzní vegetativní prýty nejbližší právě *M. aquaticum*, rozhodně se však nejednalo o stejný severoamerický klon a při společné kultivaci byli nápadně červenější a kompaktnější než *M. aquaticum* získané *in situ*. Hexaploidní jedinci *M. aquaticum* z Maďarska vykazovali při kultivaci také červenější zbarvení (Prančl, pers comm.), a je proto možné, že se jedná o stejný taxon jako v práci Moody & Les. Na lokalitu se navíc oba cytotypy dostaly pravděpodobně právě z akvarijní kultury odpadní vodou při likvidaci akvária (Illyés et al., 2006). Moody & Les na základě morfologického popisu usuzují, že se může jednat o endemický druh *M. mattogrossense* Hoehne pocházející z Ekvádoru, blízkce příbuzný *M. aquaticum*. V citované práci Orchard & Kasselman (1992) zabývající se tímto druhem však nikde není zmíněno, že by měly lodyhy červené zbarvení, a nebo nápadně často vytvářely emerzní lodyhy, jako tomu bylo u maďarské populace, a proto toto vysvětlení ztrácí na hodnověrnosti.

Další možné vysvětlení je možné hledat v práci Illyés et al. (2006). Autoři z obou známých severomaďarských lokalit *M. aquaticum* odebrali vzorky pro analýzu jaderného úseku ITS a sekvence

5. Diskuze

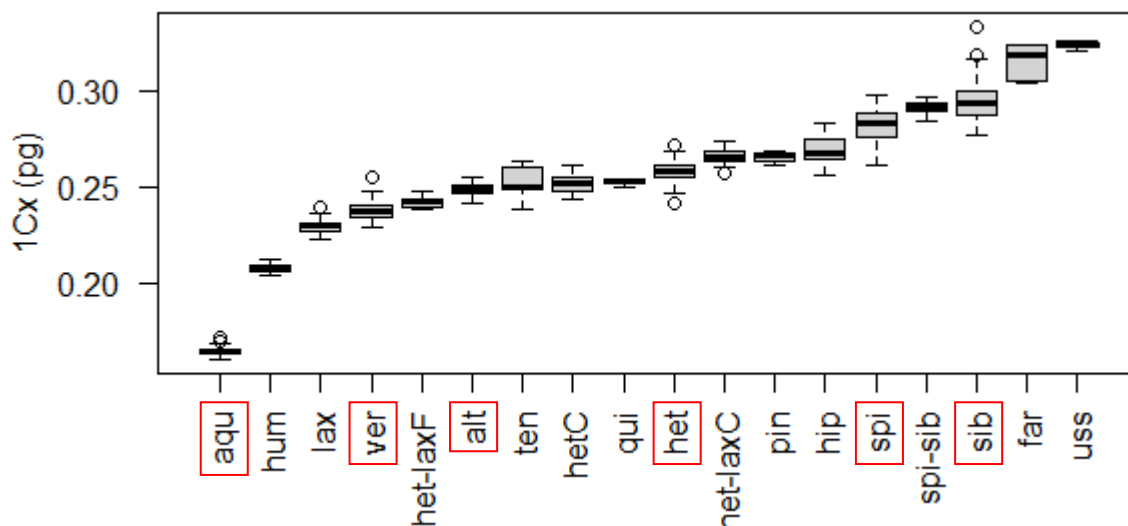
porovnali s dalšími druhy *Myriophyllum*. Vzorek z lokality poblíž obce Detk byl jasně řazen k *M. aquaticum*, vzorek z potoka u obce Kács vykazoval v sekvenci ITS jisté rozdílné charakteristiky na pomezí mezi nepůvodním *M. aquaticum* a původním druhem *M. verticillatum*, který v potoce roste také. Autoři soudí, že buď má *M. aquaticum* velkou variabilitu genomu, nebo na lokalitě došlo k hybridizaci s *M. verticillatum*. Zjištěný chromozomový počet by sice druhé teorii odpovídal (křížení „běžného“ oktoploidního *M. aquaticum*: $2n = 56$ + tetraploidního *M. verticillatum*: $2n = 28$, by mohlo vést ke vzniku hexaploidního taxonu s $2n = 42$), nicméně 1Cx hodnoty obou morfologicky dosti podobných cytotypů *M. aquaticum* jsou téměř totožné a vyvracejí hypotézu o potenciálním křížení s *M. verticillatum*, které má naopak 1Cx hodnotu velmi odlišnou. Vztahy v této skupině tudíž zatím zůstávají neobjasněné.

Na základě údajů publikovaných v literatuře byla očekávána cytopová variabilita u druhů *M. spicatum* ($2n = 28$; 36; 42) a *M. verticillatum* ($2n = 28$; 42); ani u jednoho z druhů však nebyla ploidní variabilita ověřena. V případě druhu *M. spicatum* byla dokonce navštívena slovenská lokalita (E-SK-MS03), ze které byl popsán jedinec *M. spicatum* s chromozomovým počtem $2n = 36$ (Májovský, Murín & Feráková, 1987), avšak všechny nalezené rostliny byly pouze hexaploidní.

Kromě stanovení ploidní úrovně je metoda průtokové cytometrie ideální taxonomickou pomůckou ve výzkumu komplikovaných druhových komplexů a byla již úspěšně využita pro determinaci některých dalších druhů vodních rostlin (Prančl et al., 2014) U druhu *Myriophyllum* lze na základě relativní velikosti genomu spolehlivě odlišit všechny taxony rozdílné ploidní úrovně, kromě tetraploidního *M. verticillatum* a hexaploidního *M. aquaticum*, které jsou si blízké díky nízké monoploidní velikosti genomu *M. aquaticum*. Rozdílnost v relativní velikosti genomu je menší než 5 % (doporučená hranice dle Suda, 2011) také u diploidních druhů *M. alterniflorum* a *M. heterophyllum* a hexaploidních druhů *M. sibiricum* a *M. spicatum*. Na rozdíl od prvních dvou dvojic, není možné od sebe *M. sibiricum* a *M. spicatum* jednoduše morfologicky odlišit a jediným možným determinačním způsobem je použití kombinace morfologických a molekulárních metod.

Zjištěná vnitropopulační variabilita v absolutní velikosti genomu (v průměru 1.4 – 2.5 %) byla v porovnání se studii jiných rodů poměrně nízká (Musilová, 2013; Khodlová, 2011). Celková vnitrodruhová variabilita byla naproti tomu relativně vysoká. Nejvyšších hodnot dosahovala u druhů *M. spicatum* (9.3 %) a *M. verticillatum* (7.7 %), což jsou výsledky srovnatelné např. s vnitrodruhovou variabilitou leknínů (*Nymphaea* L.; Kabátová, 2012). Vysoké koeficienty variance jsou pravděpodobně zapříčiněny relativně rychlým rozpadem pletiv po odebrání rostlinného materiálu a v pozdějších fázích roku nelze často najít dostatek vitálních pletiv ani přímo na lokalitě. Zjištěná variabilita může být také důsledkem zvýšeného obsahu sekundárních metabolitů, který byl popsán u druhů *M. aquaticum*, *M. spicatum* a *M. verticillatum* (Gross et al., 1996; Hilt, Ghobrial & Gross 2006; Nakai et al., 2012; Saito et al., 1989). Při studiu rodu *Myriophyllum* je proto vhodné akceptovat i výsledky s vyššími koeficienty variance vzorků.

V kontextu dalších druhů analyzovaných v rámci výzkumu Kubátová et al. má nejmenší monoploidní velikost genomu druh *M. aquaticum* (viz Obr. 88). Druhy *M. sibiricum* a *M. spicatum* mají naopak jednu z největších monoploidních velikostí genomu a zároveň největší rozsah zjištěných hodnot v evropských a severoamerických populacích; vymykají se tudíž pravidlu ohledně snižování Cx hodnot se zvyšující se ploidií (Leitch & Bennett, 2004).



Obr. 88: Porovnání 1Cx hodnot všech druhů *Myriophyllum*, popř. skupin s nejasným taxonomickým zařazením, rostoucí v Evropě a Severní Americe (alt – *M. alterniflorum*, aqu – *M. aquaticum*, far – *M. farwellii*, het – *M. heterophyllum* [C –SV USA], het-lax – *M. heterophyllum*×*M. laxum* [C –SV USA, F – Florida], hip – *M. hippuroides*, hum – *M. humile*, lax – *M. laxum*, qui – *M. quitense*, pin – *M. pinnatum*, spi – *M. spicatum*, spi-sib – *M. sibiricum*×*M. spicatum*, ten – *M. tenellum*, uss – *M. ussuriense*, ver – *M. verticillatum*); druhy rostoucí v Evropě označeny červeně; upraveno dle Kubátová et al. (unpubl.).

Jelikož rozdíl v 1Cx hodnotách mezi oběma cytotypy *M. sibiricum* nebyl průkazný, ale vzhledem k hexaploidnímu *M. spicatum* ano, je možné usuzovat, že nonaploidní *M. sibiricum* vzniklo autopolyploidizací spojením redukované (3x) a neredukované gamety (6x) hexaploidních jedinců *M. sibiricum*. Pro ověření této hypotézy by však bylo potřeba provést molekulární analýzy obou cytotypů a druhu *M. spicatum*. 1Cx hodnoty hexaploidních taxonů se také výrazně liší v porovnání s 1Cx hodnotami *M. alterniflorum*, čímž se snižuje pravděpodobnost pravdivosti teorie, že hexaploidi vznikli autopolyploidizací s diploidního *M. alterniflorum*, jak naznačují Moody & Les (2010). Autoři zároveň polemizují se závěry Aiken (1981), která považovala *M. alterniflorum*, *M. verticillatum*, *M. sibiricum* a *M. spicatum* za ploidií sérii, která vznikla hybridizací prvních dvou druhů, jelikož v jejich studii není *M. verticillatum* sesterským druhem zbývajících taxonů. Zjištěné velikosti genomu v předkládané práci závěry Moody & Les podporují, neboť teoretická velikost genomu allohexaploida vzniklého hybridizací druhů *M. alterniflorum* a *M. verticillatum* za vzniku triploidního jedince a jeho následnou polyploidizací neodpovídá reálné velikosti genomu *M. spicatum* ani *M. sibiricum*.

5. Diskuze

Při porovnání velikostí genomu mezi areály byl jako signifikantní označen rozdíl 1Cx hodnot evropských a severoamerických jedinců *M. spicatum* (severoamerické populace měly v průměru o 3.8 % větší genom než evropské). Přestože rozdíly v monoploidní velikosti genomu u zbývajících dvou druhů nebyly průkazné, lze pozorovat trend severoamerických populací *M. verticillatum* k menším velikostem genomu (o 1.9 % menší) a populací *M. sibiricum* k větším velikostem genomu (o 6.9 % větší) oproti velikostem v evropských populacích obou druhů. Posun ve velikostech genomu může být zapříčiněn geografickou izolovaností Severní Ameriky od zaniknutí pevninského mostu v oblasti Beringovy úžiny (Chen et al., 2014).

Větší velikost genomu *M. spicatum* v Severní Americe může být způsobena introdukcí jen malého počtu rostlin z evropských areálů s vyšší velikostí genomu a jejich následným vegetativním šířením po celém severoamerickém kontinentu. Zuellig & Thum (2012) nicméně dokládají, že druh *M. spicatum* byl do Ameriky introdukován nejméně dvakrát, což znamená, že introdukované rostliny by musely pravděpodobně pocházet ze stejné geografické oblasti, aby byla uvedená hypotéza pravdivá. Druhým možným vysvětlením je, že byli do analýz zahrnuti také hybridní jedinci *M. spicatum* × *M. sibiricum*, kteří byli v Severní Americe již několikrát detekováni pomocí různých molekulárních markerů (Moody & Les, 2002; Zuellig & Thum, 2012; Grafe et al., 2015). Argumentem pro toto tvrzení je, že průměrná velikost genomu severoamerického *M. spicatum* je přibližně ve středu mezi velikostí genomu severoamerických jedinců *M. sibiricum* a evropských jedinců *M. spicatum*. Nicméně, jak vyplývá z výsledků morfometrických analýz, severoamerické *M. spicatum* není oproti *M. spicatum* z Evropy na pomezí druhého druhu a *M. sibiricum* a při srovnání nejdůležitějších znaků je v mnoha ohledech lépe diferencován než evropské jedinci *M. spicatum*. Nelze tudíž usuzovat, že „čistě“ *M. spicatum*, již ze severoamerických křížením zcela vymizelo.

5.3 Morfologická variabilita

V čeledi Haloragaceae byla zaznamenána vysoká fenotypová plasticita (McCully & Dale, 1961; Schmidt & Millington, 1968) a rod *Myriophyllum* není výjimkou (Aiken, 1981b). Mnoho druhů *Myriophyllum* navíc vypadá podobně a některé druhy je téměř nemožné rozlišit bez květů nebo plodů (Nichols, 1975). To se týká i některých druhů rostoucích v Evropě. Zajisté nejproblematictějšími taxony jsou *M. spicatum* a *M. sibiricum*. Jejich morfologická podobnost vedla u některých botaniků k přesvědčení, že *M. sibiricum* není samostatný druh, nýbrž pouze poddruh *M. spicatum* (Hultén, 1947; Patten, 1954). Některé menší jedince *M. spicatum* je údajně možné zaměnit také s druhem *M. alterniflorum*; díky této záměně je pravděpodobně druh *M. alterniflorum* chybně udáván z Českomoravské vrchoviny (Grulich, 2011, Prančl, pers. comm.). K rozřešení vztahů mezi těmito problematickými druhy a k identifikaci nejdůležitějších determinačních znaků vybraných druhů *Myriophyllum* byla použita metoda klasické morfometrie.

Ze všech pro Evropu původních druhů stolístků byl morfologicky jednoznačně odlišitelný druh *M. alterniflorum*, a to jak od *M. verticillatum*, tak i *M. spicatum*. Zjištěná morfologická rozdílnost

M. alterniflorum a *M. spicatum* neodpovídá počátečnímu předpokladu, že jsou tyto dva druhy v určitých případech zaměnitelní (Grulich, 2011, Prančl, pers. comm.). Z toho důvodu usuzuji, že dřívější chyby v určení se odehrály na velice netypických jedincích rostoucích v neobvyklých podmínkách a na běžných stanovištích záměna nehrozí.

Situace již není tak jednoznačná při odlišování hexaploidního a nonaploidního *M. sibiricum* a hexaploidního *M. spicatum* od tetraploidního *M. verticillatum*, což odpovídá předpokladu Stace (2000), že polyploidizace stírá rozdíly mezi druhy na vyšších ploidních úrovních, zatímco u diploidů je determinace jednoznačná. Přesto lze vysledovat v morfologii těchto druhů určité tendence a za jeden z nejdůležitějších znaků přispívající k částečnému odlišení skupin považovat *počet listů v přeslenu*.

Znaky, které byly označeny jako podstatné pro odlišení výše zmíněných druhů odpovídají determinačním znakům uvedených v Klíči ke květeně ČR (Kaplan, 2002), popř. dalším publikacím (Aiken, Newroth & Wile, 1979; Husák, 1997; Yu et al., 2002). Jedná se o délku listu, počet listů v přeslenu a počet úkrojků (tento znak byl v analýzách silně korelován se znakem *pořadí nejdelšího úkrojků*). Kanonická diskriminační analýza nicméně pomohla odhalit důležité znaky, které v literatuře dosud nebyly explicitně zmíněny. Jedná se o znaky snažící se morfometricky popsat rozdíly v nahloučení článků na apikálním konci lodyh, tzn. průměrná délka a počet internodií na lodyze. Aiken, Newroth & Wile (1979) sice ve své práci zdůrazňuje, že se druhy v tomto znaku liší, nicméně je obtížné na základě jeho slovního popisu rozhodnout, zda tvar konců větví je „kulovitého,, nebo „střapcovitého“ tvaru, a proto morfometrická měření nabízejí vhodné řešení hodnocení tohoto znaku.

Zdaleka nejproblematictější je rozlišení druhů *M. sibiricum* a *M. spicatum*. Většina prací, která se zabývá odlišením těchto druhů, determinuje druhy na základě počtu úkrojků, délky listů, přítomnosti turionů a tvaru a velikosti listenů a listenců v květenství (Aiken, Newroth & Wile, 1979; Fernald, 1919; Nichols 1975). V herbářových položkách pro účely morfometrické analýzy však obvykle nebyla květenství k dispozici a turiony ještě nebyly kvůli časnému sběru rostlin vytvořeny. Navíc většina jedinců *M. sibiricum* vykazuje stejnou ploidní úroveň i areál výskytu jako *M. spicatum*, a proto musel být z diskriminačních analýz vyřazen hlavní determinační znak *počet úkrojků*, který mnoho prací považuje za klíčový, pokud chybí generativní orgány (Aiken, Newroth & Wile, 1979; Fernald, 1919; Moody & Les, 2002; Nichols, 1975).

Přestože nedošlo k řádnému oddělení obou skupin podél kanonické osy, určitý trend v morfologickém posunu pozorovat lze. Nicméně pokud uvážíme, že úspěšnost klasifikační analýzy u druhu *M. sibiricum* činila pouze 43.2 %, případně 50 % při vyřazení nonaploidních jedinců, je nutné se zamyslet také nad tím, zda bylo vhodné zvolit jako hlavní diskriminační znak, který z analýzy vyřadit, počet úkrojků, neboť u některých molekulárně potvrzených jedinců byl jasně patrný překryv v tomto znaku mezi oběma taxony. Druhou možností je, že míra variability obou druhů je natolik vysoká, že použité znaky nedovedou vůči sobě oba taxony spolehlivě vymezit, případně vyloučit jejich možnou hybridizaci a vzájemné prolínání, jak je diskutováno v některých pracích hodnotící variabilitu obou taxonů v Severní Americe (Aiken, Newroth & Wile, 1979; Moody & Les 2002).

5. Diskuze

Jednoznačně určených jedinců na základě nezávislé metody (sekvenace DNA) je prozatím velmi málo, a proto otázka morfologického vymezení *M. spicatum* a *M. sibiricum* zůstává otevřená.

Vnitrodruhová cytotypová variabilita druhu *M. sibiricum* umožnila morfologické srovnání hexaploidních a nonaploidních jedinců a byla provedena, přestože počet jedinců byl pro provedení této analýzy limitní (Marhold & Suda, 2002). V klasifikační diskriminační analýze byla úspěšnost určení nonaploidů byla nulová, z čehož lze vyvodit závěr, že polyploidizace nevedla k výraznému morfologickému rozlišení obou cytotypů, popřípadě se odehrála poměrně nedávno, a cytotypy ještě nestihly diferenciovat. Podobnost těchto cytotypů nejen v monoploidní velikosti genomu, ale i v morfologii zavdává další důvod domnívat se, že nonaploidní jedinci vznikli splynutím redukované a neredukované gamety *M. sibiricum*.

Součástí morfometrických analýz bylo také zhodnocení, do jaké míry přispívají znaky na vegetativních orgánech k rozlišení druhů *Myriophyllum*. Obohacení datasetu o znaky na generativních orgánech zvýšilo úspěšnost klasifikační analýzy o pouhých 2.1 %. Ačkoliv došlo k navýšení úspěšnosti klasifikace u druhů *M. spicatum* i *M. verticillatum*, úspěšnost u druhu *M. sibiricum* se snížila o 10%. Pokles v úspěšnosti může být zapříčiněn buď tím, že v květenstvích si jsou druhy ještě podobnější než v generativních orgánech, nebo byl na generativních orgánech měřen nedostatečný počet znaků. Jelikož do morfometrické analýzy nebyly z důvodu nevhodného zaherbářování zahrnuty znaky na listenech a listencích, je pravděpodobnější druhá možnost a zbylé znaky nejsou pro determinaci dostačující. Tuto domněnku podporují i hodnoty korelačních koeficientů u znaků na generativních orgánech, které v kanonické diskriminační analýze nedosahovaly takových hodnot jako u znaků na vegetativních orgánech. Nicméně je důležité zdůraznit, že počet jedinců pro to, aby byla diskriminační analýza matematicky oprávněná, byl na samé hranici proveditelnosti (Marhold, pers. comm.) a bylo by potřeba analýzu zopakovat s mnohonásobně větším počtem jedinců, aby měly výsledky vypovídající hodnotu.

Ačkoliv nebyl zaznamenán žádný opravdu průkazný rozdíl mezi severoamerickými a evropskými populacemi *M. sibiricum* a *M. spicatum*, lze vypozařovat, že severoamerické *M. spicatum* se skutečně částečně liší od evropských jedinců. Rozdíl je nejvíce patrný u počtu úkrojků na listu u jednotlivých skupin – *M. spicatum* v Severní Americe má často mnohem více úkrojků než v Evropě, a je tudíž mnohem lépe odlišitelný od místních jedinců *M. sibiricum*, zatímco u evropských jedinců dochází v tomto znaku k určitému překryvu. Tento výsledek může být nicméně částečně zkreslen výběrem severoamerických rostlin pro morfometrické analýzy, jelikož u populací ze Severní Ameriky, kde se druhy kříží, byl kladen důraz na jednoznačnou morfologickou odlišnost analyzovaných jedinců.

5.4 Ekologické nároky

Většina prací věnujících se podrobně ekologii stolístků se z pochopitelných důvodů zabývá převážně invazními druhy *Myriophyllum* (např. Hussner, 2008; Moreira, Monteiro & Ferreira, 1999; Nichols & Keeney, 1976; Wersal & Madsen, 2011; Thum & Lennon, 2011), z nichž pouze *M. spicatum* nalezneme také v České republice. Jedná se však povětšinou o studie prováděné v jeho invazním severoamerickém areálu, a tudíž nelze výsledky zobecnit na původní evropský areál.

Snahou překládané práce bylo proto v kontextu České republiky, potažmo Evropy, vymezit ekologické nároky původních druhů stolístků v našich klimatických podmínkách. Získaná data ze Severní Ameriky navíc umožnila zhodnotit, do jaké míry se liší ekologické nároky druhů *Myriophyllum* rostoucí na obou kontinentech.

Z výsledků vyplývá, že druhem s nejširší ekologickou amplitudou z našich druhů je *M. spicatum*, jak je zřejmé i z jeho současného rozšíření. Vykazuje nejširší rozpětí hloubek, do kterých vstupuje, toleruje stojaté až rychle tekoucí vody a prospívá na všech typech podloží od písčitého po zcela bahnitě. Řadí se ke konkurenčně silnějším druhům, zvláště v raních sukcesních stádiích. Jeho typickým biotopem se zdají být nedávno zatopené písčovny (Prančl, pers. comm.). Pozorované preference druhů plně korespondují s dosavadními zjištěními pro společenstva, kde jsou stolístky dominantním druhem (Doll, 1991; Klosowski & Tomaszewicz, 1989; Šumberová, 2011).

Na základě výsledků se lze domnívat, že výskyt druhů v Evropě je předurčen hlavně rychlostí proudění vody v kombinaci s mocností vrstvy bahna na dně vodního tělesa. Chemická analýza by mohla odhalit další faktory prostředí určující jejich výskyt, jakým se např. v minulosti ukázala důležitost koncentrace vápníku a hořčíku ve vodě a v substrátu (Klosowski & Tomaszewicz, 1989).

Za zmínku stojí zjištění, že ačkoliv je u nás druh *M. alterniflorum* považován za druh vázaný téměř výhradně na substráty s malým podílem organické hmoty (Klosowski & Tomaszewicz, 1989), dokáže prosperovat i v čistých a chladných vodách na substrátech pokrytých velkou vrstvou organického bahna, jak bylo pozorováno v Nemanickém potoce u Domažlic a prokázáno také experimentem Aiken (1981b). Nutné však je, aby měly rostliny zajištěn dostatečný přísun kyslíku, který je pro jejich růst esenciální (Klosowski & Tomaszewicz, 1989; Moravec, 1973). Z toho důvodu je pravděpodobně výskyt *M. alterniflorum* ve stojatých vodách značně omezený (Bufková & Rydlo, 2008).

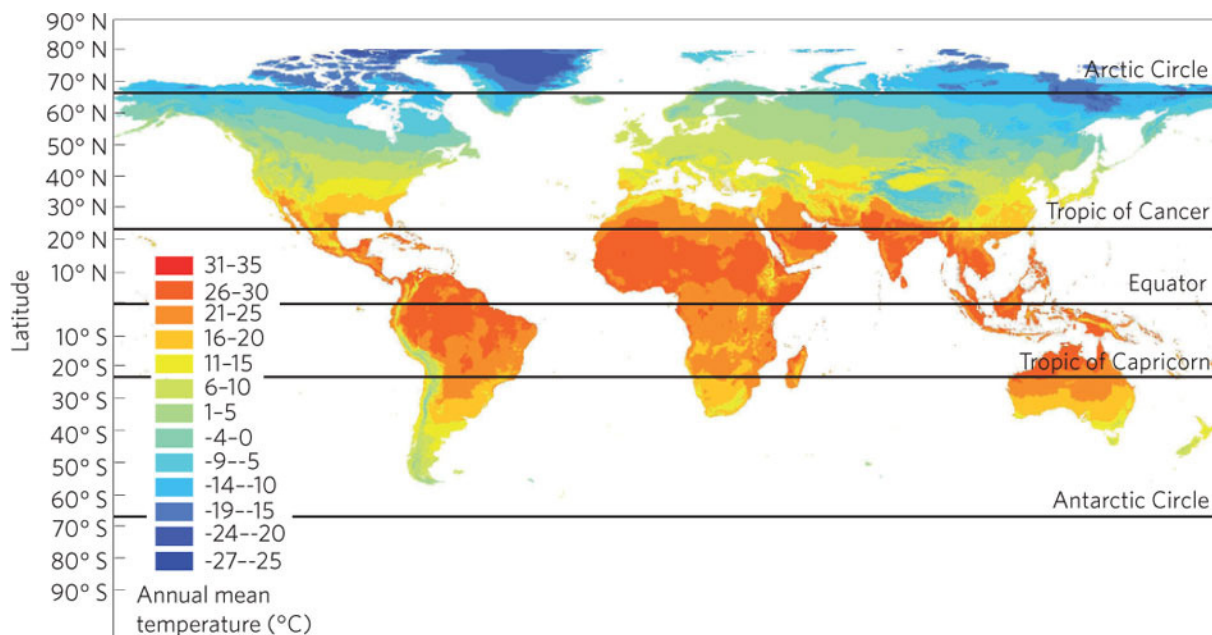
Druhou částí této kapitoly bylo porovnání ekologických nároků druhů *M. spicatum* a *M. verticillatum*, popř. i *M. sibiricum* mezi Evropou a Severní Amerikou. V Severní Americe obsazují druhy *M. spicatum* a *M. verticillatum* lokality průměrně nižší nadmořskou výškou. Rozdíl lze interpretovat tak, že buď ve vyšších nadmořských výškách pro tyto druhy neexistují vhodná stanoviště, a nebo se oproti Evropě posunuly jejich ekologické nároky. U druhu *M. verticillatum* by pro první možnost hovořil fakt, že v jednom případě byl druh *M. verticillatum* pozorován ve značné

5. Diskuze

nadmořské výšce 1950 m.n.m, která ještě o 550 metrů převyšuje maximální zjištěnou hodnotu v Kanadě (Warrington, 1985).

V recentních studiích se ukazuje, že za invazním chováním *M. spicatum* v Severní Americe stojí pravděpodobně hybridizace s *M. sibiricum*, kdy vzniklí kříženci jsou často invazivnější než rodičovský druh *M. spicatum* (Moody & Les, 2002). Z toho důvodu se někteří autoři začali zabývat tím, proč je hybridizace a agresivní šíření *M. spicatum* o tolik častější v Severní Americe než v jiných částech světa, kde tyto druhy rostou rovněž pospolu. Ve výsledcích předkládané práce je patrné, že v parametrech, ve kterých se severoameričtí jedinci *M. spicatum* od evropských nejvíce liší (tj. průhlednost, tloušťka vrstvy bahna a rychlost proudění vody), jsou si zároveň mnohem více podobní s ekologickými nároky severoamerických jedinců *M. sibiricum*. Z toho lze odvodit, že v Severní Americe vyhledávají oba taxony takovou kombinaci přírodních podmínek, která mnohem častěji vede k sympatrickému růstu, čímž je umožněno jejich křížení.

V práci Wu et al. (2015) autoři soudí, že nejdůležitějším faktorem zapříčiňujícím setkávání těchto druhů není složení vody, ani substrátu, jak by naznačovaly výsledky předkládané práce i dalších studií (Klosowski, 2006; Klosowski & Tomaszewicz, 1989; Warrington, 1986), nýbrž klimatická nika. Podle autorů se mohla klimatická nika *M. sibiricum* v Severní Americe kvůli dlouhodobému izolovanému vývoji posunout blíže k optimu *M. spicatum*, zatímco v Eurasii se klimatické preference *M. sibiricum* od *M. spicatum* výrazně liší a ke křížení tak téměř nedochází. Mapa klimatických zón světa (viz Obr. 89) tuto domněnku podporuje, neboť v Evropě je druh *M. sibiricum* soustředěn do oblastí s průměrnou roční teplotou 1–5 °C (tj. do Skandinávie; Faegri, 1982), zatímco v Severní Americe se *M. sibiricum* vyskytuje i v klimatické zóně s průměrnou teplotou 6–10 °C s přesahem až k 15 °C (tj. podél severní a severozápadní části Spojených států, PLANTS, 2015). Tato jednostranná teze ovšem nevysvětluje zjištěný posun v ekologických nárocích *M. spicatum* mezi oběma areály. Pro detailnější diskutování popsané teorie by bylo potřeba získat další údaje o parametrech prostředí z evropských populací *M. sibiricum*.



Obr. 89: Klimatické zóny světa na základě údajů z databáze WorldClim (zdroj: Saikonen et al., 2012).

5.5 Potenciál *M. spicatum* ke generativnímu rozmnožování

Ačkoliv se soudí, že se druh *M. spicatum* rozmnožuje převážně vegetativně (Aiken, Newroth & Wile, 1979), v určitých populacích vytváří mnohdy obrovské množství semen. Přesto nebyly v přirozených populacích nikdy zaznamenány semenáčky *M. spicatum* (Hartleb, Madsen, & Boylen, 1993), a proto se studie generativního rozmnožování zaměřují převážně na hodnocení klíčivosti plůdků druhu *M. spicatum* a zhodnocení jeho potenciálu ke generativnímu rozmnožování (Coble & Vance, 1987; Hartleb, Madsen, & Boylen, 1993; Patten, 1955; Xiao et al., 2010). Žádná z těchto studií však nebyla provedena s plůdky pocházející ze střední Evropy, a proto bylo přikročeno ke klíčicímu experimentu s materiálem získaným ze čtyř českých populací *M. spicatum*.

Výsledky klíčicího experimentu prokázaly, že potenciál *M. spicatum* ke generativnímu rozmnožování je značný. V nejvhodnějších klíčících podmínkách dosahovala klíčivost plůdků 80–90 %). Je však nutné mít na zřeteli, že skutečná míra přežívání vyklíčených semenáčků není dosud uspokojivě zhodnocena.

Ze všech zvolených režimů byl pro klíčení nejlépe vyhovující režim: 22:12 °C, fotoperioda 14:10 hod (den:noc). Plůdky však začaly klíčit nejrychleji v režimu s vyšší průměrnou teplotou: 25–30:25–20°C,14:10 hod (den:noc). Pro některé plůdky však byla zřejmě vysoká teplota limitující a po několika dnech pokusu hodnoty klíčivosti začaly kulminovat. Tyto výsledky jsou v rozporu se studií Xiao et al. (2010), kde plůdky dosahovaly nejvyšší klíčivosti právě v teplotách 25 a 30 °C.

V souladu s výsledky Patten (1955) dosahovaly nejvyšší klíčivosti plůdky, které byly uchovávány po celou dobu ve vodě. Nicméně ani vysušené plůdky neztratily svoji klíčivost (maximální klíčivost 81.5 %) a nástup klíčení byl pouze opožděn a plůdky, které začaly klíčit již záhy

5. Diskuze

po zahájení pokusu, vykazovaly sice zpomalený růst oproti plůdkům uchovávaným ve vodě ($p = 0.021$), ale tento rozdíl nebyl nijak výrazný.

Velkým překvapením byl objev, že plůdky jsou schopné klíčit i za velice nízkých teplot ($2\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $4\text{--}6.5\text{ }^{\circ}\text{C}$), kdy dosažená klíčivost činila u jedné populace 68.9% a u druhé dokonce 87.1% . Přenesení klíčků z teploty $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $4\text{--}6.5\%$ způsobilo nárůst klíčivosti v jedné z populací o 26.3% , což odporuje tvrzení Hartleb, Madsen, & Boylen (1993), kteří považují teplotu $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ za hranici, kdy až po jejím překonání se významně zvýší klíčivost plůdků. Patten (1955) dokonce uvádí, že v teplotě menší než $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ nejsou plůdky *M. spicatum* vůbec schopny klíčení. V jeho experimentu však došlo u jedné z populací k úkazu jako ve zde popisovaném klíčícím experimentu (tj. klíčení za teplot $< 10\text{ }^{\circ}\text{C}$), což Patten přisuzuje tomu, že plůdky byly odebrány o rok dříve než zbylé plůdky a tento prodloužený čas fungoval jako forma skarifikace plůdků. Ve zde prezentovaném experimentu však začaly klíčit plůdky, které byly maximálně 6 měsíců staré a potvrzují domněnku Sculthorpe (1967), který z výsledků studií klíčivosti u druhů *Myriophyllum*, *Hippuris*, *Littorella* a *Potamogeton* vyvozuje, že klíčení je u vodních rostlin proces velmi nahodilý a nedá určit čas, po jaký budou plůdky konkrétního druhu dormantní.

Zajímavé je, že klíčení v tomto režimu započalo pouze u plůdků, které byly odebrány z odumřelých květenství a skladovány ve vodě. U plůdků přechovávaných spolu s rozkládajícími se květenstvími byla klíčivost zcela zanedbatelná. Možných vysvětlení existuje hned několik. (i) Rozkládající se hmota snižuje redukční potenciál vody, což může vést k inhibici klíčení plůdků (Haag, 1983), plůdky vyklíčí až ve chvíli, kdy se redukční potenciál zvýší, např. jarním promícháním vodního sloupce. (ii) Rozkládající se hmota funguje podobně jako anorganický sediment, u kterého bylo prokázáno, že je klíčovým faktorem negativně ovlivňující klíčivost plůdků *Myriophyllum* (Hartleb, Madsen, & Boylen, 1993). Nebo (iii) je inhibice zprostředkována přímo oplodím (Patten, 1955), které může obsahovat specifické látky zabraňující klíčení, které se z plůdků vyplaví až po určité době. To by také vysvětlovalo, proč klíčení vysušených plodů začalo se zpožděním – oplodí potřebovalo čas k vyplavení inhibujících látek vodou, aby mohlo dojít k uvolnění protektivní zátky v endokarpu, bez něhož ke klíčení nedochází.

Z výsledků studie Hartleb, Madsen & Boylen (1993) vyplývá, že dostupnost světla nemá na klíčení plůdků vliv. Zde prezentovaný pokus nebyl designován tak, aby umožnil statistické zhodnocení dostupnosti světla na klíčivost, nicméně klíčivost rostlin bez přístupu světla byla vždy nižší než u rostlin klíčených ve stejných teplotních podmínkách na světle. Rozdíl byl nejmarkantnější u plůdků klíčených v režimu: $15\text{--}17:7\text{ }^{\circ}\text{C}$, $12:12$ hod, kde měly plůdky klíčené ve tmě o 44.5% a 51.7% nižší klíčivost. Výsledky jsou tudíž spíše v souladu se zjištěními v práci Coble & Vance (1987), kde dostupné světlo a jeho složení výrazně ovlivňovalo klíčivost plůdků. Ve zde předkládaném experimentu však nebyla inhibice zdaleka tak vysoká, jako ve studii Coble & Vance, protože i ve tmě byla za vhodných teplotních podmínek $22\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $20\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$ dosažena klíčivost 75.5% a 76.9% .

Je zajímavé, že v porovnání se severoamerickými studiemi (Hartleb, Madsen, & Boylen, 1993, 1993; Patten 1955) mají české plůdky výrazně vyšší klíčivost. Tento výsledek dává prostor k diskuzi, není rozdíl v klíčivosti způsoben tím, že autoři v experimentu použili méně fertlní křížence *M. spicatum* × *M. sibiricum*, u kterých byla již dříve pozorována snížená 30% klíčivost pokusně vytvořených plůdků (Aiken, Newroth & Wile, 1979) a bylo zjištěno, že v přirozených populacích skutečně dochází k hybridizaci a vzniku F1 i F2 kříženců (LaRue, Grimm & Thum; 2013), Navíc byla detekována i určitá míra zpětného křížení s oběma rodičovskými druhy, a je proto možné, že původní *M. spicatum* je v Severní Americe oslabeno introgresí a klíčivost plůdků v nepůvodním areálu, je proto snižená. Toto tvrzení podporuje i výsledek klíčících pokusů s plůdky pocházejících z Číny, tzn. původního areálu *M. spicatum*, kde byla maximální klíčivost plůdků (88 %) srovnatelná s klíčivostí českých plůdků (Xiao et al., 2010). Důležité je jistě také zjištění, že obvykle jednosemenné plůdky (Husák, 1997) mohou v ojedinělých případech být i dvousemenné; tento jev nebyl v žádné literatuře zabývající se rodem *Myriophyllum* popsán.

5.5 Míra hybridizace a genetická variabilita

Na území České republiky a okolních států nebyli pomocí průtokové cytometrie zjištěni žádní hybridní jedinci, přestože alespoň u druhů *M. verticillatum* a *M. spicatum* byly sběry provedeny i na lokalitách, kde rostly oba dva druhy těsně vedle sebe. Jediným opakovaně zdokumentovaným případem křížence, který bys mohl vyskytovat i na území Evropy je *M. spicatum* × *M. spicatum* (Moody & Les, 2002; Wu et al., 2015). V případě křížení hexaploidních jedinců *M. spicatum* a nonaploidních jedinců *M. sibiricum* by průtoková cytometrie dokázala křížence odhalit, u hexaploidních jedinců *M. sibiricum* však průtoková cytometrie není vhodnou metodou při detekci hybridizace. K jejich odhalení by bylo potřeba zapojit také výsledky molekulárních analýz Kubátová et al., kvůli problematické izolaci DNA rodu *Myriophyllum* je však zanalyzovaných vzorku pro interpretaci výsledků prozatím málo.

Neodhalení hybridních jedinců může být do jisté míry dáno také způsobem sběru materiálu, neboť předpokladem bylo, že díky vysoké klonalitě je variabilita uvnitř populací nízká (Hofstra, Adam & Clayton, 1995), a pokud by již k uchycení křížence došlo, byl by zastoupen na velké ploše ve daném vodním tělesu.

Tento předpoklad je podpořen také výsledky průtokové cytometrie, kdy vnitropopulační variabilita byla poměrně nízká. Jiní autoři studující genetickou variabilitu v rodě *Myriophyllum* však došli k opačnému závěru (Harris, Maberly & Abbott; 1992; Wu, Yu & Xu 2013), a proto by bylo patrně vhodné v budoucích vnitropopulačních studiích přehodnotit způsob sběru materiálu, pokud by jejich cílem bylo vyloučení přítomnosti hybridů jiných ploidních úrovní v Evropě.

6. Závěr

Předkládaná diplomová práce shrnuje poznatky o druzích rodu *Myriophyllum* L. (stolístek) rostoucích Evropě a studuje jejich rozšíření, ekologii a morfologickou a ploidní variabilitu se zaměřením na Českou republiku a sousedící státy.

Nejdůležitější výsledky práce lze shrnout následovně:

- Na mezidruhové úrovni je cytotypová variabilita v rodu *Myriophyllum* běžná (5 zjištěných ploidních úrovní), na vnitrodruhové se vyskytuje pouze sporadicky (u druhů *M. aquaticum* a *M. sibiricum*).
- Velikost genomu stanovená metodou průtokové cytometrie je vhodným markerem k odlišení téměř všech druhů a je tedy velmi vhodným nástrojem k rychlému určení morfologicky obtížně rozlišitelných taxonů. Výjimku tvoří hexaploidní jedinci *M. sibiricum* a *M. spicatum*, kteří mají velmi podobnou velikost genomu.
- Na území Evropy nebyl pomocí průtokové cytometrie zjištěn žádný hybridní jedinec, tato metoda však neumožňuje rozpoznat křížence u druhů *M. sibiricum* a *M. spicatum*, u kterých je výskyt mezidruhového křížení v Evropě nejpravděpodobnější.
- Morfologicky jsou všechny původní druhy rostoucí na území Evropy dobře odlišitelné i ve vegetativním stavu kromě druhů *M. sibiricum* a *M. spicatum*. Setření rozdílů mezi těmito druhy může být například dáno jejich shodnou ploidní úrovní nebo kombinací takových znaků jejich předků, která vede k morfologickému překryvu obou druhů. Nelze ani vyloučit, že druhy mají společnou evoluční historii a k diferenciaci ze společného předka došlo buď jen částečně, nebo poměrně nedávno. Vznik druhů *M. sibiricum* a *M. spicatum* zatím nebyl molekulárně objasněn a tudíž nelze o historii této komplikované skupiny nic bližšího soudit.
- Zdá se, že diferenciace mezi původním a invazním areálem druhu *M. spicatum* se odehrává jak na úrovni velikosti genomu (rozdíl ve velikosti je statisticky průkazný), tak i morfologie. Námětem pro další výzkum tohoto druhu je, zda je posun způsoben změnami druhu jako takového, nebo zda je ovlivněn křížením *M. spicatum* s původním druhem *M. sibiricum* na severoamerickém kontinentu.
- Studium ekologických nároků našich druhů vedlo k potvrzení dříve publikovaných preferencí druhů a obohacení znalostí ekologie rodu *Myriophyllum* o data z několika dalších států Evropy.
- Bylo ověřeno, že potenciál *M. spicatum* ke generativnímu rozmnožování není alespoň v České republice zanedbatelný a je tudíž možné, že pohlavní rozmnožování hraje v životním cyklu *M. spicatum* neméně důležitou roli jako rozmnožování nepohlavní. Zjištěný invazní potenciál druhu *M. spicatum* se tím ještě zvyšuje.

7. Seznam citovaných zdrojů

- AIKEN, S.G. (1978a):** Counts on Haloragaceae. In Löve, Á [ed.]: IOPB Chromosome Number Reports LXII. *Taxon*, 27:522.
- AIKEN, S.G. (1978b):** Pollen morphology in the genus *Myriophyllum* (Haloragaceae). *Canadian Journal of Botany*, 56: 976–982.
- AIKEN, S.G. (1981a):** A conspectus of *Myriophyllum* (Haloragaceae) in North America. *Brittonia*, 33: 57–69.
- AIKEN, S.G. (1981b):** An experiment relating vegetative morphology of *Myriophyllum alterniflorum* DC.(Haloragaceae) to growth substrate. *Aquatic Botany*, 10: 383–388.
- AIKEN, S.G., P.R. NEWROTH & I. WILE (1979):** The biology of Canadian weeds. 34. *Myriophyllum spicatum* L. *Canadian Journal of Plant Science*, 59: 201–215.
- AIKEN, S.G. & J. MCNAIL (1980):** The discovery of *Myriophyllum exalbescens* Fernald (Haloragaceae) in Europe and the typification of *M. spicatum* L. and *M. verticillatum* L. *Botanical Journal of Linnean Society*, 80: 213–222.
- AIKEN, S. G., & R.R. PICARD (1980).** The influence of substrate on the growth and morphology of *Myriophyllum exalbescens* and *Myriophyllum spicatum*. *Canadian Journal of Botany*, 58(9): 1111–1118.
- AINOUCHE, M., H. CHELAIFA, DE C. J. FERREIRA, S. BELLOT, A. AINOUCHE & A. SALMON (2012):** Polyploid evolution in *Spartina*: dealing with highly redundant hybrid genomes. In Soltis P.S. & D. E. Soltis [eds.] *Polyploidy and genome evolution*. Springer, *New York*: 225–244.
- ADAMEC, L. & Š. HUSÁK (2001):** Omezení porostů stolístku klasnatého v Břežyňském rybníce. *Živa*, 2: 57–58.
- ANDERSON, R.R., R.G. BROWN & R.D. RAPPLEYE (1965):** Mineral composition of Eurasian water milfoil, *Myriophyllum spicatum* L. *Chesapeake Science*, 6: 68–72.
- ANDERSON, M. R. & J. KALFF (1986):** Nutrient limitation of *Myriophyllum spicatum* growth *in situ*. *Freshwater Biology*, 16(6): 735–743.
- ARBER, A. [ONLINE] (1920):** Water plants: A study of aquatic angiosperms [cit. 2015-08-06]. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=ccplJVJsf3UC>.
- ARSHID, S. & A.A. WANI (2011):** Phenological episodes of *Myriophyllum spicatum* (Haloragaceae); a highly invasive species in Kashmir Himalayan aquatic ecosystems. *Nature and Science*, 9(5): 42–45.
- BARINA, Z. (2006):** A Gerecse hegység flórájának katalógusa. Flora of the Gerecse Mountains. *Magyar Természettudományi Múzeum és Duna-Ipoly Nemzeti Park Igazgatóság*, Budapest.
- BENNETT, M.D., I.J. LEITCH & L. HANSON (1998):** DNA amounts in two samples of angiosperm weeds. *Annals of Botany*, 82: 121–134.
- BENNETT, M.D. & I.J. LEITCH (2005):** Plant genome size research: a field in focus. *Annals of Botany*, 95: 1–6.
- BHAT, B.K., S.K. BAKSHI & M.K. KAUL (1975):** Counts on Haloragaceae. In Löve, Á [ed.]: IOPB chromosome number reports XLIX. *Taxon*, 24: 514.
- BORROWMAN, K.R., E.P.S. SAGER & R.A. THUM (2014):** Distribution of biotypes and hybrids of *Myriophyllum spicatum* and associated *Euhrychiopsis lecontei* in lakes of Central Ontario, Canada. *Lake and reservoir management*, 30: 94–104.

7. Seznam citovaných zdrojů

- BRENAN, J.P. & J.F.G. CHAPPLE (1949):** The australian *Myriophyllum verrucosum* Lindley in Britain. *Watsonia*, 1: 63–70.
- BSBI DISTRIBUTION DATABASE [ONLINE] (2015):** Botanical Society of British & Ireland Distribution Database. [cit. 15-08-12]. Dostupné z: <http://floraweb.de/>.
- BUFKOVÁ, I. & J. RYDLO (2008):** Vodní makrofyta a mokřadní vegetace odstavených říčních ramen horní Vltavy (Hornovltavský luh, NP Šumava). *Silva Gabreta*, 14(2): 93–134.
- CAFFREY, J.M. & C. MONAHAN (2006).** Control of *Myriophyllum verticillatum* L. in Irish canals by turion removal. In Caffrey, J.M., A. Dutartre, J. Hauray, K.J.Murphy & P.M.Wade [eds.] *Macrophytes in Aquatic Ecosystems: From Biology to Management*. Springer, Netherlands: 211–215.
- CESKA, A., O. CESKA (1986):** Notes on *Myriophyllum* (Haloragaceae) in the Far East: the identity of *Myriophyllum sibiricum* Komarov. *Taxon*, 35: 95–100.
- CESKA, O. (1977):** Phytochemical differentiation of *Myriophyllum* taxa collected in British Columbia. *Report of the Department of Biology, University of Victoria*, Victoria.
- CESKA, O., A. CESKA & P.D. WARRINGTON (1986):** *Myriophyllum quitense* and *Myriophyllum ussuriense* (Haloragaceae) in British Columbia, Canada. *Brittonia*, 38(1): 73–81
- CHAMBERS, P.A., P. LACOUL, K.J. MURPHY & S.M. THOMAZ (2008):** Global diversity of aquatic macrophytes in freshwater. *Hydrobiologia*, 595(1): 9–26.
- CHEN, L.-Y., S.-Y. ZHAO, K.-S. MAO, D.H. LES, Q.-F. WANG, M.L. MOODY (2014):** Historical biogeography of Haloragaceae: An out-of-Australia hypothesis with multiple intercontinental dispersals. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 78: 87–95.
- CHICKEN, (1977):** *Myriophyllum aquaticum* (Velloso) Verdc. (*M. brasiliense* Camb.) in Britain. *Watsonia*, 11: 375–376.
- CIRUJANO, S. & L. MEDINA (1997):** *Myriophyllum heterophyllum* Michx. (Haloragaceae), naturalized in Spain. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 55: 164–165.
- CILLIERS, C.J. (1999):** *Lysathia* n. sp. (Coleoptera: Chrysomelidae), a host-specific beetle for the control of the aquatic weed *Myriophyllum aquaticum* (Haloragaceae) in South Africa. *Hydrobiologia*, 415: 271–276.
- COBLE, T.A. & B.D. VANCE (1987).** Seed germination in *Myriophyllum spicatum* L. *Journal of Aquatic Plant Management*, 25(1): 8–10.
- COCK, M.J.W, P. HÄFLIGER, H.L. LINZ, G. GROSSKOPF & M. SEIER (2008):** A review of the distribution and recorded natural enemies of Eurasian watermilfoil (*Myriophyllum spicatum* L.) in Eurasia, and the potential for classical biological control in North America. *Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 3(19): 1–20.
- COOK, C.D.K. (1968):** Haloragaceae. In T. G. Tutin [ed.], *Flora Europaea* 2. Cambridge. 311–312.
- COOK, C.D.K., B.J. GUT, E.M. RIX, J. SCHNELLER [ONLINE] (1974):** Water plants of the world. *Dr. W. Junk b.v., Publishers, The Hague* [cit. 2015-08-09]. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=uRFTK3T4WTUC>.
- DATABANKA FLÓRY ČR [ONLINE] (2015):** Databanka flóry České republiky [cit. 2015-08-03]. Dostupné z: <http://florabase.cz/databanka/>.
- DENYS, L., J. PACKET & W. VAN LANDUYT (2004):** Neofyten in het Vlaamse water : signalement van vaste waarden en rijzende sterren. *Natuur focus*, 3: 120–128.

- DOLEŽEL, J., J. GREILHUBER & J. SUDA (2007):** Flow Cytometry with Plant Cells. Analysis of Genes, Chromosomes and Genomes. Wiley, Weinheim.
- DOLL, R. (1991):** Die Pflanzengesellschaften der stehenden Gewässer in Mecklenburg-Vorpommern Teil I. 3. Potamogetonetea Tx. et Prsg. 42–Laichkrautgesellschaften. *Feddes Repertorium*, 102(3-4): 217–317.
- DOSTÁL, J. (1989):** Čeled' Haloragaceae - zrnulovitě. In Nová květena ČSSR 1. *Academia*, Praha.
- DUTARTRE A., J. HAURY & A.M. PLANTY-TABACCHI (1997):** Introductions de macrophytes aquatiques et riverains dans les hydrosystèmes français métropolitains: essai de bilan. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture*, 344/345: 407–426.
- EGLOFF, F. (1974):** Neue und beachtenswerte Arten den Schweizerflora. *Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft*, 84: 333–342.
- EKRT, L. & D. PŮBAL (2008):** Novinky v květeně cévnatých rostlin české Šumavy a přiléhajícího Předšumaví. II. *Silva Gabreta*, 14(1): 19–38.
- ELLSTRAND, N.C. & K.A. SCHIERENBECK (2000):** Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97: 7043–7050.
- FAEGRI, K. (1982):** The *Myriophyllum spicatum* group in north Europe. *Taxon*, 31(3): 467–471.
- FERNALD, M. L. (1919):** Two new *Myriophyllums* and a species new to the United States. *Rhodora*, 21: 121–124.
- FLORAWEB [ONLINE] (2015):** FloraWeb – Daten und Informationen zu Wildpflanzen und zur Vegetation Deutschlands. [cit. 15-08-12]. Dostupné z: <http://floraweb.de/>.
- GETSINGER, K.D., A.G. POOVEY, W.F. JAMES, R.M. STEWART, M.J. GRODOWITZ, M.J. MACEINA & R.M. NEWMAN (2002):** Management of Eurasian watermilfoil in Houghton Lake, Michigan: workshop summary. Technical Report ERDC/EL TR-02-24, *U.S. Army Engineer Research and Development Center*, Vicksburg.
- GLOBAL INVASIVE SPECIES DATABASE [ONLINE] (2015)** [cit. 2015-08-07]. Dostupné z: <http://www.issg.org/database/welcome/>.
- GLOMSKI, L.M. & M.D. NETHERLAND (2010):** Response of Eurasian and hybrid watermilfoil to low use rates and extended exposures of 2,4-D and triclopyr. *Journal of Aquatic Plant Management*, 48: 12–14.
- GRACE, J.B. & R.G. WETZEL (1978):** The production biology of Eurasian watermilfoil (*Myriophyllum spicatum* L.): a review. *Journal of Aquatic Plant Management*, 16: 1–11.
- GRAFE, S.F., C. BOUTIN, F. R. PICK, R. D. BULL (2015):** A PCR-RFLP method to detect hybridization between the invasive Eurasian watermilfoil (*Myriophyllum spicatum*) and the native northern watermilfoil (*Myriophyllum sibiricum*), and its application in Ontario lakes. *Botany*, 93: 117–121.
- GROSS, E. M., H. MEYER & G. SCHILLING (1996):** Release and ecological impact of algicidal hydrolysable polyphenols in *Myriophyllum spicatum*. *Phytochemistry*, 41:133–138.
- GRULICH, V. [ONLINE] (2011):** *Myriophyllum alterniflorum* DC. – stolístek střídavokvětý. [cit. 2015-08-05]. Dostupné z: <http://botany.cz/cs/myriophyllum-alterniflorum/>.
- GRULICH, V. [ONLINE] (2012):** Červený seznam cévnatých rostlin České republiky. [cit. 2015-08-03]. Dostupné z: <http://botany.cz/cs/cervený-seznam/>.

7. Seznam citovaných zdrojů

- HARADA, I. (1952):** Chromosome studies of some dicotyledonous water plants. *The Japanese Journal of Genetics*, 27: 117–120.
- HARRIS, S.A., S.C. MABERLY & R.J. ABBOTT (1992):** Genetic variation within and between populations of *Myriophyllum alterniflorum* DC. *Aquatic Botany*, 44: 1–21.
- HARTLEB, C.F., J. D. MADSEN, & C. W. BOYLEN (1993):** Environmental factors affecting seed germination in *Myriophyllum spicatum* L. *Aquatic Botany*, 45(1): 15–25.
- HILT, S., M.G.N. GHOBRIAL & E. M. GROSS (2006):** In situ allelopathic potential of *Myriophyllum verticillatum* (Haloragaceae) against selected phytoplankton species. *Journal of Phycology*, 42(6): 1189–1198.
- HOFSTRA, D.E., K.D. ADAM & J.S. CLAYTON (1995):** Isozyme variation in New Zealand populations of *Myriophyllum* and *Potamogeton* species. *Aquatic Botany*, 52(1–2): 121–131.
- HÖPFLINGER, F. [ONLINE] (1948):** *Myriophyllum heterophyllum* Michx. In Virtual Herbaria – Herbarium GZU, Karls Franzes University of Graz. [cit. 2015-08-03]. Dostupné z: <http://herbarium.univie.ac.at/database/detail.php?ID=307445>.
- HULTÉN, E. (1947):** Flora of Alaska and Yukon VII. *Lund*, Hakan Ohlssons Boktryckeri.
- HULTÉN, E. & M. FRIES (1986):** Atlas of North European vascular plants: north of the Tropic of Cancer I-III. *Koeltz Scientific Books*, Königstein.
- HUSÁK, Š. (1997):** Haloragaceae R. Br. – zrnulovité. In Slavík, B. [ed.]: Květena České republiky. *Academia*, Praha. 135–139.
- HUSSNER, A. [ONLINE] (2008):** Ökologische und ökophysiologische Charakteristika aquatischer Neophyten in Nordrhein-Westfalen. Dissertationen [cit. 2015-08-03]. Dostupné z: <http://docserv.uni-duesseldorf.de/servlets/DocumentServlet?id=8333>.
- HUSSNER, A. & R. LÖSCH (2005):** Alien aquatic plants in a thermally abnormal river and their assembly to neophyte-dominated macrophyte stands (River Erft, Northrhine-Westphalia). *Limnologia*, 35: 18–30.
- HUSSNER, A., C. MEYER & J. BUSCH (2009):** The influence of water level and nutrient availability on growth and root system development of *Myriophyllum aquaticum*. *Weed Research*, 49: 73–80.
- HUSSNER, A., K. VAN DE WEYER, E.M. GROSS & S. HILT (2010):** Comments on increasing number and abundance of non-indigenous aquatic macrophyte species in Germany. *Weed Research*, 50: 519–526.
- HUTCHINSON, G.E. (1970):** The chemical ecology of three species of *Myriophyllum* (Angiospermae, Haloragaceae). *Limnology and Oceanography*, 15: 1–5.
- ILLYÉS, Z., E. TÓTH, G. MAGOS & Z. TÓTH (2006):** Egy akváriumú növény, a *Myriophyllum brasiliense* Camb. megjelenése természetes vizeinkben. *Tájökológiai Lapok*, 4(2): 317–325.
- KABÁTOVÁ, K. (2012):** Kritické zhodnocení hybridizace mezi středoevropskými zástupci rodu *Nymphaea* pomocí cytometrických a morfometrických metod. Diplomová práce. Depon. In: Knihovna katedry botaniky Přírodovědecké fakulty UK, Praha.
- KAPLAN, Z. (2002):** *Myriophyllum* L. In Kubát, K., L. Hrouda, J. Chrtek, jun., Z. Kaplan, J. Kirschner & J. Štěpánek [eds.]: Klíč ke květeně České republiky. *Academia*, Praha: 440–441.
- KHODLOVÁ, Z. (2011):** Polyploidní speciace u rodu *Anthoxanthum* v Evropě. Diplomová práce. Depon. In: Knihovna katedry botaniky Přírodovědecké fakulty UK, Praha.

- KŁOSOWSKI, S. & H. TOMASZEWICZ (1989):** Habitat conditions of the phytocoenoses of *Myriophylletum alterniflori* Lemée 1937 em. Siss. 1943, *Myriophylletum verticillati* Soó 1927 and *Myriophylletum spicati* Soó 1927 in Poland. *Aquatic Botany*, 35: 337–356.
- KŁOSOWSKI, S. (2006):** The relationships between environmental factors and the submerged Potametea associations in lakes of north-eastern Poland. *Hydrobiologia*, 560(1): 15–29.
- KOUTECKÝ, P. (2015):** MorphoTools: a set of R functions for morphometric analysis. *Plant Systematics and Evolution*, 301: 1115–1121.
- LAFUMA, L., K. BALKWILL, E. IMBERT, R. VERLAQUE & S. MAURICE (2003):** Ploidy level and origin of the European invasive weed *Senecio inaequidens* (Asteraceae). *Plant Systematics and Evolution*, 243(1–2): 59–72.
- LANGE, P.J. DE & B.G. MURRAY (2002):** Contributions to a chromosome atlas of the New Zealand flora—37. Miscellaneous families. *New Zealand Journal of Botany*, 40(1): 1–23.
- LANGE, P.J. DE & B.G. MURRAY & P.M. DATSON (2004):** Contributions to a chromosome atlas of the New Zealand flora—38. Counts for 50 families. *New Zealand Journal of Botany*, 42(5): 873–904.
- LARUE, E.A., D. GRIMM & R.A. THUM (2013):** Laboratory crosses and genetic analysis of natural populations demonstrate sexual viability of invasive hybrid watermilfoils (*Myriophyllum spicatum* × *M. sibiricum*). *Aquatic Botany*, 109: 49–53.
- LARUE, E.A., M.P. ZUELLIG, M.D. NETHERLAND, M.A. HEILMAN & R.A. THUM (2013):** Hybrid watermilfoil lineages are more invasive and less sensitive to a commonly used herbicide than their exotic parent (Eurasian watermilfoil). *Evolutionary Applications*, 6: 462–471.
- LEBRETON, A. (2013):** *Myriophyllum heterophyllum* Michaux [Haloragaceae] en Haute-Vienne (Limousin, France), et situation de cette plante invasive en France et en Europe. *EPPO Bulletin*, 43: 180–192.
- LEITCH, I.J. & M.D. BENNETT (2004):** Genome downsizing in polyploid plants. *Biological Journal of the Linnean Society*, 82: 651 – 663.
- LES, D. & L. MEHRHOFF (1999):** Introduction of non-indigenous aquatic vascular plants in Southern New England: a historical perspective. *Biological Invasions*, 1: 281–300.
- LINDHOLM, T., E. RÖNNHOLM & K. HÄGGQVIST (2008):** Changes due to invasion of *Myriophyllum sibiricum* in a shallow lake in Åland, SW Finland. *Aquatic Invasions*, 3(1): 10–13.
- LÖVE, Á. & D. LÖVE (1948):** Chromosome numbers of northern plant species. *Inóólfsprent*, Reykjavík.
- LÖVE, Á. (1954):** Cytotaxonomical evaluation of corresponding taxa. *Vegetatio*, 5: 212–224.
- LÖVE, Á. & D. LÖVE (1961):** Chromosome number of central and northwes European plant species. *Almqvist & Wiksell*, Stockholm.
- MÁJOVSKÝ, J., A. MURÍN & V. FERÁKOVÁ (1987):** Kryptogamologický prehľad flóry Slovenska. *Vydavateľstvo slovenskej akadémie vied*, Bratislava.
- MADSEN, J.D., J.W. SUTHERLAND, J.A. BLOOMFIELD, L.W. EICHLER & C.W. BOYLEN (1991):** The decline of native vegetation under dense Eurasian watermilfoil canopies. *Journal of Aquatic Plant Management* 29: 94–99.
- MARHOLD, K. & J. SUDA (2002):** Statistické zpracování mnohorozměrných dat v taxonomii (Fenetické metody). *Karolinum*, Praha.

7. Seznam citovaných zdrojů

- MARTIN, C.W. & J.F. VALETINE (2014): Sexual and asexual reproductive strategies of invasive Eurasian watermilfoil (*Myriophyllum spicatum*) in estuarine environments. *Hydrobiologia*, 727: 177–184.
- MĚSÍČEK, J. & V. JAVŮRKOVÁ-JAROLÍMOVÁ (1992): List of chromosome numbers of the Czech vascular plants. *Academia*, Praha.
- MCCULLY, M.E & H.M. DALE (1961): Heterophylly in *Hippuris*, a problem in identification. *Canadian Journal of Botany*, 39:1099–1116.
- MOREIRA, I., A. MONTEIRO & T. FERREIRA (1999): Biology and control of Parrotfeather (*Myriophyllum aquaticum*) in Portugal. *Ecology, Environment & Conservation*, 5: 171–179.
- MOODY, M.L. & D.H. LES (2002): Evidence of hybridity in invasive watermilfoil (*Myriophyllum*) populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences Of the United States of America*, 99: 14867–14871.
- MOODY, M.L. & D.H. LES (2007a): Geographic distribution and genotypic composition of invasive hybrid watermilfoil (*Myriophyllum spicatum* × *M. sibiricum*) populations in North America. *Biological Invasions*, 9: 559–570.
- MOODY, M.L. & D.H. LES (2007b): Phylogenetic systematics and character evolution in the angiosperm family Haloragaceae. *American Journal of Botany*, 94: 2005–2025.
- MOODY, M.L. & D.H. LES (2010): Systematics of the aquatic angiosperm genus *Myriophyllum* (Haloragaceae). *Systematic Botany*, 35: 121–139.
- MORAVEC, J. (1973): Příspěvek k rozšíření stolítku střídavokvětého – *Myriophyllum alterniflorum* DC. – v jižních Čechách. *Zprávy Československé botanické společnosti*, 8: 16–19.
- MURPHY, K.J. (2002): Plant communities and plant diversity in softwater lakes of northern Europe. *Aquatic Botany*, 73(4): 287–324.
- MUSILOVÁ, L. (2013): Riziko hybridizace ohrožené třešně křovité (*Prunus fruticosa*) s pěstovanými zástupci rodu *Prunus*. Diplomová práce. Depon. In: Knihovna katedry botaniky Přírodovědecké fakulty UK, Praha.
- MUZTAR, A.J., S.J. SILINGER & J.H. BURTON (1976): Nutritive value of aquatic plants for chicks. *Poultry Science*, 55: 1917–1922.
- NAKAI, S., G. ZOU, T. OKUDA, W. NISHIJIMA, M. HOSOMI, & M. OKADA (2012): Polyphenols and fatty acids responsible for anti-cyanobacterial allelopathic effects of submerged macrophyte *Myriophyllum spicatum*. *Water Science & Technology*, 66(5): 993–999.
- NICHOLS, S.A. (1975) Identification and management of Eurasian water milfoil in Wisconsin. *Transactions of the Wisconsin Academy of Sciences, Arts, and Letters*, 63: 116–128.
- NICHOLS, S.A. (1984): Phytochemical and morphological differentiation between *Myriophyllum spicatum* L. and *Myriophyllum exalbescens* Fern. in two Wisconsin lakes. *Transactions of the Wisconsin Academy of Science, Arts, and Letters*, 72:153–156.
- NICHOLS, S.A. & G. COTTAM (1972): Harvesting as a control for aquatic plants. *Water Resources Bulletin*, 8: 1205–1210.
- NICHOLS, D.S. & D.R. KEENEY (1976): Nitrogen nutrition of *Myriophyllum spicatum*: uptake and translocation of ¹⁵N by shoots and roots. *Freshwater Biology*, 6(2): 145–154.
- ORCHARD, A.E. (1981): A revision of South American *Myriophyllum* (Haloragaceae), and its repercussions on some Australian and North Species. *Brunonia*, 4: 27–65.

- ORCHARD, A.E. & C. KASSELMANN (1992): Notes on *Myriophyllum mattogrossense* (Haloragaceae). *Nordic Journal of Botany*, 12: 81–84.
- PATTEN, B. C. (1954): The status of some American species of *Myriophyllum* as revealed by the discovery of intergrade between *M. exalbescens* Fern. and *M. spicatum* L. in New Jersey. *Rhodora*, 56: 213–225.
- PATTEN, B. C. (1955): Germination of the seed of *Myriophyllum spicatum* L. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 82 (1): 50–56.
- PEETERS (2004): Een vreemd vederkruid in het Zwartwater: *Myriophyllum heterophyllum* Michx. *Natuurhistorisch Maandblad*, 93(8): 251–252.
- PLANTS [ONLINE] (2015): Natural Resources Conservation Service – United States Department of Agriculture [cit. 2015-06-18]. Dostupné z: <http://plants.usda.gov/>.
- POOVEY, A.G., J.G. SLADE & M.D. NETHERLAND (2007): Susceptibility of Eurasian Watermilfoil (*Myriophyllum spicatum*) and a Milfoil Hybrid (*M. spicatum* × *M. sibiricum*) to Triclopyr and 2,4-D Amine. *Journal of Aquatic Plant Management*, 45: 111–115.
- PRANČL, J, Z. KAPLAN, P. TRÁVNÍČEK & V. JAROLÍMOVÁ (2014): Genome Size as a Key to Evolutionary Complex Aquatic Plants: Polyploidy and Hybridization in *Callitriche* (Plantaginaceae). *PLOS ONE*, 9(9): 1–15.
- PRANČL, J. (2015, in press): *Myriophyllum heterophyllum* Michx. In Hadinec, J. & P. Lustyk [eds.] *Additamenta ad floram Reipublicae Bohemicae XIII. Zprávy České botanické společnosti*, 50.
- PRESTON, C.D., J.M. CROFT [ONLINE](1997): Aquatic plants in Britain and Ireland. *Harley Books*, Colchester. [cit. 2015-08-08] Dostupné z: <https://books.google.cz/books?hl=cs&lr=&id=3AgSBQAAQBAJ&oi>.
- PROBATOVA, N.S. & A.P. SOKOLOVSKAYA (1995): Chromosome numbers in some species of vascular plants from the Russian Far East. *Botaničeskij žurnal*, 80: 85–88.
- RHAZI, L, P. GRILLAS, M. RHAZI, J-C. AZNAR (2009): Ten-year dynamics of vegetation in a Mediterranean temporary pool in western Morocco. *Hydrobiologia*, 643(1): 185–194.
- RICE, A., L. GLICK, S. ABADI, M. EINHORN, N.M. KOPELMAN, A. SALMAN-MINKOV, J. MAYZEL, O. CHAY & I. MAYROSE [ONLINE] (2015): The Chromosome Counts Database (CCDB) – a community resource of plant chromosome numbers. *New Phytologist*. 206(1): 19–26. [cit. 2015-08-03]. Dostupné z: <http://ccdb.tau.ac.il/home/>.
- RODWELL, J. S. [ONLINE] (1991): British plant communities: volume 4, aquatic communities, swamps and tall-herb fens (Vol. 4). *Cambridge University Press*, Cambridge [cit. 2015-08-07] Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=1yRSf0Ctud0C&dq>.
- ROLEY, S.S. & R.M. NEWMAN (2006): Developmental performance of the milfoil weevil, *Euhrychiopsis lecontei* (Coleoptera: Curculionidae), on Northern Watermilfoil, Eurasian Watermilfoil, and hybrid (Northern × Eurasian) watermilfoil. *Environmental Entomology*, 35: 121–126.
- RYDLO, J. (1995): Vodní makrofyta horní Vltavy. *Muzeum a současnost*, 9: 115–128.
- RYDLO, J. (1998): Vodní makrofyta Horní Vltavy v letech 1992 a 1997. *Muzeum a současnost*, 12: 123–128.
- RYDLO, J. & A. VYDROVÁ (2000): Vodní makrofyta Vltavy mezi Lipnem n. Vlt. a Týnem n. Vlt. *Muzeum a současnost*, 14: 137–160.
- RYDLO, J (2011): Příspěvek k poznání vodní vegetace na Domažlicku. *Muzeum a současnost*, 26: 187–197.

7. Seznam citovaných zdrojů

- SAAD, L., M-S. TIÉBRÉ, O.J. HARDY, G. MAHY & S. VANDERHOEVEN (2011): Patterns of hybridization and hybrid survival in the invasive alien *Fallopia* complex (Polygonaceae). *Plant Ecology and Evolution*, 144 (1): 12–18.
- SAIKKONEN, K., K. TAULAVUORI, T. HYVÖNEN, P.E. GUNDEL, C. E. HAMILTON, I. VÄNNINEN, A. NISSINEN & M. HELANDER (2012): Climate change-driven species' range shifts filtered by photoperiodism. *Nature Climate Change*, 2(4): 239–242.
- SAITO, K., M. MATSUMOTO, T. SEKINE & I. MURAKOSHI (1989): Inhibitory substances from *Myriophyllum brasiliense* on growth of blue-green algae. *Journal of Natural Products*, 52(6): 1221–1226.
- SARIKA-HATZINIKOLAOU, M. L. KOUMPLI-SOVANTZI & A. YANNITSAROS (1994): *Myriophyllum alterniflorum* DC. (Haloragaceae), a New Record for the Greek Flora. *Phyton*, 34(2): 243–246.
- SCHEERER, H. (1939): Chromosomenzahlen aus der Schleswig-Holsteinischen Flora I. *Planta* 29: 636–642.
- SCHEERER, H. (1940): Chromosomenzahlen aus der Schleswig-Holsteinischen Flora II. *Planta* 30: 725.
- SCHMIDT, B.L. & W.F. MILLINGTON (1968): Regulation of Leaf Shape in *Proserpinaca palustris*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 95 (3): 264–286.
- SCHÖNSWETTER, P., J. SUDA, M. POPP, H. WEISS-SCHNEEWEISS & C. BROCHMANN (2007): Circumpolar phylogeography of *Juncus biglumis* (Juncaceae) inferred from AFLP fingerprints, cpDNA sequences, nuclear DNA content and chromosome numbers. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 42: 92–103.
- SCRIBAILO, R.W. & M.S. ALIX [ONLINE] (2014): Haloragaceae. Flora of North America, provisional publication. *Flora of North America Association* [cit. 2015-08-11]. Dostupné z: http://floranorthamerica.org/files/Haloragaceae.provisional.Gal_.pdf.
- SCULTHORPE, C.D. (1967): The biology of aquatic vascular plants. *Edward Arnold Ltd.*, London.
- SEDLÁČKOVÁ, M. & V. PLÁŠEK [EDS.] (2005): Červený seznam cévnatých rostlin Moravskoslezského kraje (2005). *Časopis Slezského Muzea Opava (A)*, 54: 97–120.
- SEIMON, A., S.R.P. HALLOY, & T.A. SEIMON (2007): Recent observation of a proliferation of *Ranunculus trichophyllus* Chaix. in high-altitude lakes of the Mount Everest region: Comment. *Arctic, Antarctic and Alpine Research*, 39(2): 340–341.
- SHELDON, S.P. (1986): The Effects of short-term disturbance on a freshwater macrophyte community. *Journal of Freshwater Ecology*, 3(3): 309–317.
- SHELDON, S.P. & R.P. CREED (1995): Use of a native insect as a biological control for an introduced weed. *Ecological Applications*, 5: 1122–1132.
- SHEPPARD, A.W., R.H. SHAW & R. SFORZA (2006): Top 20 environmental weeds for classical biological control in Europe: a review of opportunities, regulations and other barriers to adoption. *Weed Research*, 46: 93–117.
- SILVESTRE, S. (1980): Numeros cromosomicos para la flora Española 121–182. *Lagascalia*, 9: 249–284.
- SMITH, C. S., & ADAMS, M. S. (1986). Phosphorus transfer from sediments by *Myriophyllum spicatum* L. *Limnology and Oceanography*, 31(6): 1312–1321.
- SMITH, C.S. & J.W. BARKO (1990): Ecology of Eurasian watermilfoil. *Journal of Aquatic Plant Management*, 28: 55–64.
- STACE, C.A. (2000): Cytology and cytogenetics as a fundamental taxonomic resource for the 20th and 21st century. *Taxon*, 49: 451–477.

- STEVENS, P. F. [ONLINE] (2015): Angiosperm Phylogeny Website. Version 13 [cit. 2015-08-04]. Dostupné z: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>.
- STURTEVANT, A.P., N. HATLEY, G.D. PULLMAN, R. SHEICK, D. SHOREZ, A. BORDINE. R. MAUSOLF, A. LEWIS, R. SUTTER & A. MORTIMER (2009): Molecular characterization of Eurasian watermilfoil, Northern milfoil, and the invasive interspecific hybrid in Michigan lakes. *Journal of Aquatic Plant Management* 47: 128–135.
- SUDA, J. (2011): Průtoková cytometrie a její využití v botanice. In: Mandák, B., F. Krahulec & Z. Hroudová [eds.]: Zprávy České botanické společnosti, 25: 21–42.
- SZAŃKOWSKI, M. & S. KŁOSOWSKI (2006): Habitat variability of the Littorelletea uniflorae plant communities in Polish Lobelia lakes. *Hydrobiologia*, 570: 117–126.
- ŠUMBEROVÁ, K. (2011): Vegetace vodních rostlin zakořeněných ve dně. In Chytrý, M. [ed.]: Vegetace České republiky. 3. Vodní a mokřadní vegetace. *Academia*, Praha: 159–165, 215–218.
- TAVALIRE, H.F., G.E. BUGBEE, E.A. LARUE & R.A. THUM (2012): Hybridization, cryptic diversity, and invasiveness in introduced variable-leaf watermilfoil. *Evolutionary Applications*, 5: 892–900.
- THE PLANT LIST [ONLINE] (2015) [cit. 2015-08-08]. Dostupné z: <http://www.theplantlist.org/>.
- THIÉBAUT, G. (2007): Invasion success of non-indigenous aquatic and semi-aquatic plants in their native and introduced ranges. A comparison between their invasiveness in North America and in France. *Biological Invasions*, 9: 1–12.
- THUM, R. A., J.T.LENNON, J. CONNOR & A.P. SMAGULA (2006): A DNA fingerprinting approach for distinguishing native and non-native milfoils. *Lake and Reservoir Management*, 22(1), 1–6.
- THUM, R.A., M.P. ZUELLIG, R.L. JOHNSON, M.L. MOODY & C. VOSSBRINCK (2011): Molecular markers reconstruct the invasion history of variable leaf watermilfoil (*Myriophyllum heterophyllum*) and distinguish it from closely related species. *Biological Invasions*, 13: 1687–1709.
- SCHIPCZINSKY, N.V. [ONLINE] (1912): *Myriophyllum sibiricum* - Specimen from Collections of W.N.Sukaczew from Siberia. In Tropicos – Missouri Botanical Garden [cit. 2015-08-10]. Dostupné z: <http://www.mobot.org/mobot/research/leguide/collections/101/1531.html>.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE [ONLINE] (2015): *Myriophyllum spicatum* L. [cit. 2015-06-18]. Dostupné z: <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=MYS2>.
- VELAYOS M., M.A. CARRASCO & S. CIRUJANO (1989): Las lagunas del Campo de Calatrava (Ciudad Real). *Botanica Complutensis*, 14: 9–50.
- WALLENSTEIN, A., & L.S. ALBERT (1963): Plant morphology: its control in *Proserpinaca* by photoperiod, temperature, and gibberellic acid. *Science*, 140(3570): 998–1000.
- WARRINGTON, P.D. (1985): Factors associated with the distribution of *Myriophyllum* in British Columbia. In Proceedings of the 1st International Symposium on Watermilfoil (*Myriophyllum spicatum*) and related Haloragaceae species. *The Aquatic Management Plant Society*, Vancouver: 79–94.
- WEBER, J.A. & L.D. NOODÉN (2005): The causes of sinking and floating in turions of *Myriophyllum verticillatum*. *Aquatic Botany*, 83: 219–226.
- WEYER, K. VAN DE & A. HUSSNER (2008): Die aquatischen Neophyten (Gefäßpflanzen, Armeleuchteralgen und Moose) Deutschlands - eine Übersicht. *Deutsche Gesellschaft für Limnologie*. 214–218.

7. Seznam citovaných zdrojů

- WIMMER, W. (1997): *Myriophyllum heterophyllum* Michaux in Niedersachsen und Bremen. *Floristische Rundbriefe*, 31: 23–31.
- WU, Z.-G., D. YU & X.-W. XU (2013): Development of microsatellite markers in the hexaploid aquatic macrophyte, *Myriophyllum spicatum* (Haloragaceae). *Applications in Plant Sciences*, 1(2): apps.1200230: 1–3.
- WU, Z.-G., D. DING, D. YU & X.-W. XU (2015): Influence of niche similarity on hybridization between *Myriophyllum sibiricum* and *M. spicatum*. *Journal of Evolutionary Biology* (early-view).
- WILE, I., J. NEIL, G. LIMIS & J. POS (1978): Production and utilization of aquatic plant compost. *Journal of Aquatic Plant Management*, 16: 24–27.
- XIAO, C., X. WANG, J. XIA & G. LIU (2010): The effect of temperature, water level and burial depth on seed germination of *Myriophyllum spicatum* and *Potamogeton malaianus*. *Aquatic Botany*, 92(1) 28–32.
- YU, D., W. DONG, L. ZHEN-YU & M.M. FUNSTON (2002): Taxonomic revision of the genus *Myriophyllum* (Haloragaceae) in China. *Rhodora*, 104: 396–421.
- ZHANG, X., X. LIU & Q. DING (2013): Morphological responses to water-level fluctuations of two submerged macrophytes, *Myriophyllum spicatum* and *Hydrilla verticillata*. *Journal of Plant Ecology*, 6(1): 64–70.
- ZOBODAT [ONLINE] (2015): Zobodat – Biologie Zentrum Linz. [cit. 15-08-12]. Dostupné z: <http://www.zobodat.at/>.
- ZUELLIG, M. P., & R.A. THUM (2012): Multiple introductions of invasive Eurasian watermilfoil and recurrent hybridization with northern watermilfoil in North America. *Journal of Aquatic Plant Management*, 50: 1–19.

7.1 Software

- BRAAK, T. & P. ŠMILAUER (2012): Canoco reference manual and user's guide: software for ordination, version 5.0. Microcomputer Power, Ithaca, USA.
- ESRI (2011): ArcGIS Desktop: Release 10. 2. Redlands, CA: Environmental Systems Research Institute.
- MENDIBURU, F. D. (2014): agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research. R package version 1.2-1. <http://CRAN.R-project.org/package=agricolae>.
- OKSANEN, J., F.G. BLANCHET, R. KINDT, P. LEGENDRE, P.R. MINCHIN, R. B. O'HARA, G. L. SIMPSON, P. SOLYMO, M.H.H. STEVENS AND H. WAGNER (2015): vegan: Community Ecology Package. R package version 2.2-1. <http://CRAN.R-project.org/package=vegan>.
- POHLERT, T. (2015): PMCMR: Calculate Pairwise Multiple Comparisons of Mean Rank Sums. R package version 1.1. <http://CRAN.R-project.org/package=PMCMR>.
- QGIS DEVELOPMENT TEAM (2015): QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. <http://qgis.osgeo.org>.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM (2015): R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. <http://www.R-project.org>.
- REVELLE, W. (2015): psych: Procedures for Personality and Psychological Research, Northwestern University, Evanston, Illinois, USA. <http://CRAN.R-project.org/package=psych> Version = 1.5.6.
- SARKAR, D. (2008): Lattice: Multivariate Data Visualization with R. *Springer*, New York.

SIMPSON, G.L. (2014): permute: Functions for generating restricted permutations of data. R package version 0.8-3. <http://CRAN.R-project.org/package=permute>.

VENABLES, W.N. & B.D. RIPLEY (2002): Modern Applied Statistics with S. Fourth Edition. *Springer*, New York.

7.2 Obrázky

CAMERON, D. [ONLINE] (2015a): *Myriophyllum alterniflorum* DC. In Go Botany [cit. 2015-08-08]. Dostupné z: <https://gobotany.newenglandwild.org/species/myriophyllum/alterniflorum/>.

CAMERON, D. [ONLINE] (2015b): *Myriophyllum sibiricum* Komarov. In Go Botany [cit. 2015-08-08]. Dostupné z: <https://gobotany.newenglandwild.org/species/myriophyllum/sibiricum/>.

CAMERON, D. [ONLINE] (2015c): *Myriophyllum spicatum* L. In Go Botany [cit. 2015-08-08]. Dostupné z: <https://gobotany.newenglandwild.org/species/myriophyllum/spicatum/>.

CAMERON, D. [ONLINE] (2015d): *Myriophyllum verticillatum* L. In Go Botany [cit. 2015-08-08]. Dostupné z: <https://gobotany.newenglandwild.org/species/myriophyllum/verticillatum/>.

DATABANKA FLÓRY ČR (2015a): *Myriophyllum alterniflorum* (od roku 1990). In Databanka flóry České republiky [cit. 2015-08-08]. Dostupné z: http://florabase.cz/databanka/index.php?page=findings-map&tname=myriophyllum+alterniflorum&date_from=1990-01-01.

DATABANKA FLÓRY ČR (2015b): *Myriophyllum spicatum* (od roku 1990). In Databanka flóry České republiky [cit. 2015-08-08]. Dostupné z: http://florabase.cz/databanka/index.php?page=findings-map&tname=myriophyllum+spicatum&date_from=1990-01-01.

DATABANKA FLÓRY ČR (2015c): *Myriophyllum verticillatum* (od roku 1990). In Databanka flóry České republiky [cit. 2015-08-08]. Dostupné z: http://florabase.cz/databanka/index.php?page=findings-map&tname=myriophyllum+verticillatum&date_from=1990-01-01.

DIJKSTRA, K. [ONLINE] (2015a): Aarvederkruid. In Wilde planten in Nederland en België [cit. 2015-08-08]. Dostupné z: <http://wilde-planten.nl/aarvederkruid.htm>.

DIJKSTRA, K. [ONLINE] (2015b): Kransvederkruid. In Wilde planten in Nederland en België [cit. 2015-08-08]. Dostupné z: <http://wilde-planten.nl/kransvederkruid.htm>.

DIJKSTRA, K. [ONLINE] (2015c): Teer vederkruid. In Wilde planten in Nederland en België [cit. 2015-08-08]. Dostupné z: <http://wilde-planten.nl/teer%20vederkruid.htm>.

OPK V HL. M. PRAZE [ONLINE] (2006): Stolístek klasnatý (*Myriophyllum spicatum*). In Ochrana přírody a krajiny v Hlavním městě Praze [cit. 2015-08-08]. Dostupné z: <http://www.wmap.cz/opk/vmp/ros/ros14856.htm>.

PLANTS [ONLINE] (2015a): *Myriophyllum sibiricum* Kom. In Natural Resources Conservation Service – United States Department of Agriculture [cit. 2015-06-18]. Dostupné z: <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=MYSI>.

PLANTS [ONLINE] (2015b): *Myriophyllum spicatum* L. In Natural Resources Conservation Service – United States Department of Agriculture [cit. 2015-06-18]. Dostupné z: <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=MYS2>.

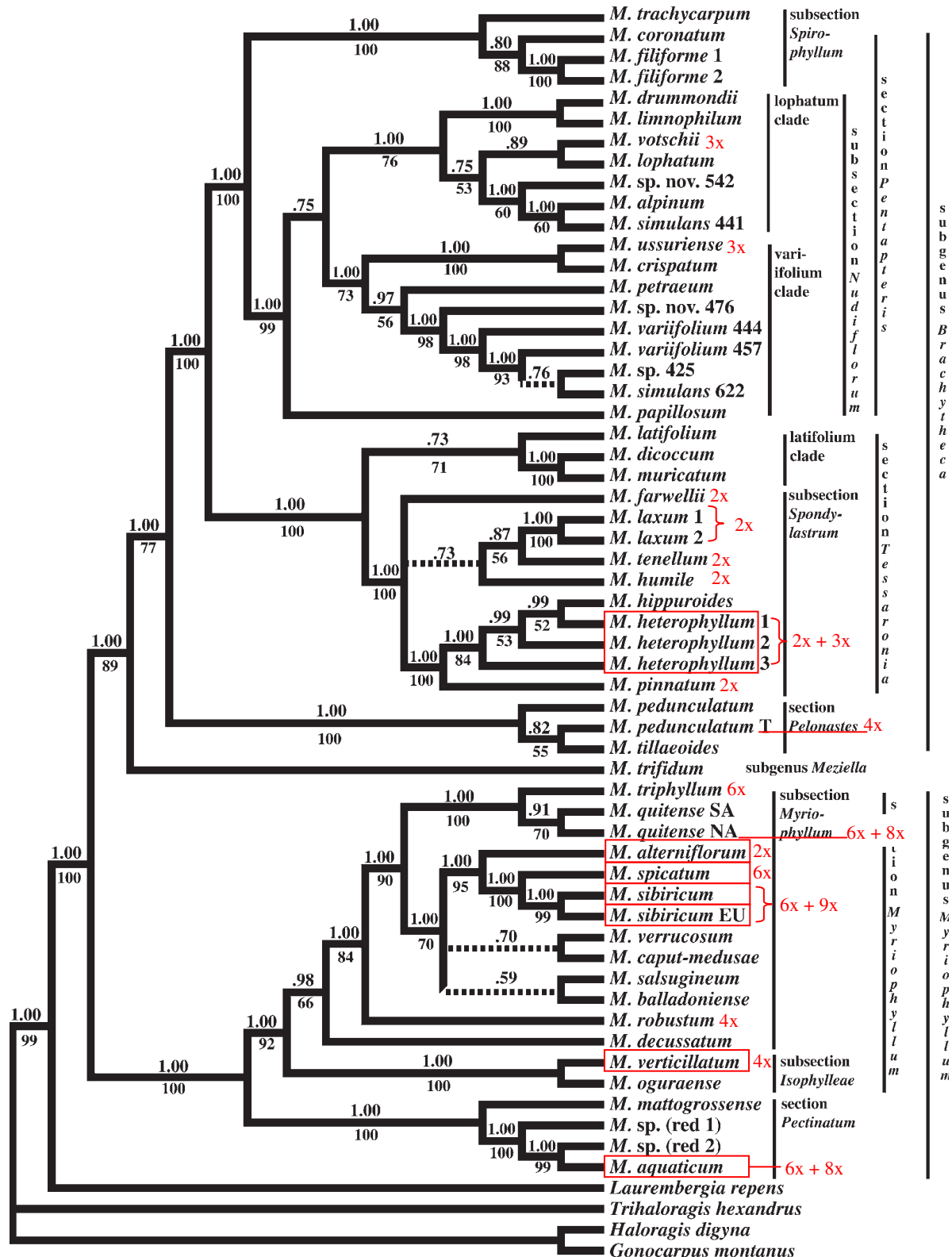
7. Seznam citovaných zdrojů

Q-BANK [ONLINE] (2015a): *Myriophyllum aquaticum*. In Comprehensive databases on quarantine plant pests and diseases [cit. 2015-08-08]. Dostupné z: <http://www.q-bank.eu/Plants/BioloMICS.aspx?Link=T&TableKey=491790000000008&Rec=36&Fields=All>.

Q-BANK [ONLINE] (2015b): *Myriophyllum heterophyllum*. In Comprehensive databases on quarantine plant pests and diseases [cit. 2015-08-08]. Dostupné z: <http://www.q-bank.eu/Plants/BioloMICS.aspx?Link=T&TableKey=491790000000008&Rec=37&Fields=All>.

8. Přílohy

Příloha 1: Fylogenetické vztahy uvnitř rodu *Myriophyllum* (převzato z Moody & Les, 2010; obdélníky vyznačují pozici zájmových druhů; červená čísla za druhy uvádí ploidní úroveň ověřenou počítáním chromozomů [Mandáková, 2014, unpubl.] nebo publikovanou v zahraniční literatuře).



Phylogenetic relationships in *Myriophyllum* as indicated by a majority rule consensus tree of 29,000 trees (after discarding burn-in) from Bayesian analysis of combined ITS and cpDNA sequence data analyzed under models as defined in Table 2. Harmonic mean $-\ln L$ likelihood = 17,532.97. Dashed lines refer to clades not resolved in the strict consensus of the parsimony analysis. Numbers above branches refer to posterior probabilities and numbers below branches are bootstrap support from parsimony analyses. When numbers are lacking below branches parsimony did not resolve clades or had bootstrap values $\leq 50\%$ supporting that node. Numbers after species refer to unique genotypes among accessions fitting species descriptions. Clade-based classification system is represented along the right margin. EU = Europe, NA = North America, SA = South America, T = Tasmania.

8. Přílohy

Příloha 2: Přehled všech evropských lokalit, na kterých byl získán materiál pro předkládanou práci.

Zkratky sběratelů: **AP** = Anna Potůčková, **BK** = Barbora Kubátová, **FK** = Filip Kolář, **JP** = Jan Praněl, **JCH** = Jindřich Chrtěk jun., **JAR** = Jan Rydlo, **JR** = Jaroslav Rydlo, **KK** = Klára Kabátová, **LP** = Lenka Pachmanová, **MH** = Magdalena Hrdinová, **ML** = Magdalena Lučanová, **PS** = Petra Straková **PT** = Pavel Trávníček, **PV** = Petr Vít, **SP** = Soňa Píšová, **ZK** = Zdeněk Kaplan).

Název populace	Lokalita	Bližší popis lokality	Latitude	Longitude	Sběratel	Datum sběru	Taxon	Ploidie
Belgie (BE)								
E-BE-B10	Willebroek	Willebroek - Jezero Hazewinkel - loděnice u Windsurfigového klubu	51.061660	4.404710	PT & BK	VII 2012	sib	9x
E-BE-B01	Dessel-Witgoor	Dessel/Herentals kanál u Dessel-Witgoor	51.232318	5.165765	PT & BK	VII 2012	spi	6x
E-BE-B03	Geel	Dessel/Herentals kanál u Geel	51.210707	5.037844	PT & BK	VII 2012	spi	6x
E-BE-B02	Retie	Dessel/Schöten kanál u Retie	51.277330	5.150740	PT & BK	VII 2012	het spi	2x 6x
E-BE-B04	Ravels	Dessel/Schöten kanál u Ravels	51.361417	4.992277	PT & BK	VII 2012	het spi	2x 6x
E-BE-B05	Turnhout	Dessel/Schöten kanál u Turnhout	51.326920	4.926990	PT & BK	VII 2012	het spi	2x 6x
E-BE-B06	Rijkevorsel	Dessel/Schöten kanál u Rijkevorsel	51.328880	4.760060	PT & BK	VII 2012	het spi	2x 6x
E-BE-B07	Brecht	Dessel/Schöten kanál u Brecht	51.338384	4.651951	PT & BK	VII 2012	het spi	2x 6x
E-BE-B08	Sint-Job-in-t'-Goor	Dessel/Schöten kanál u Sint-Job-in-t'-Goor	51.299490	4.563130	PT & BK	VII 2012	het spi	2x 6x
E-BE-B09	Schöten	Dessel/Schöten kanál u Schöten	51.253096	4.507767	PT & BK	VII 2012	het	2x
Česká republika (CZ)								
E-CZ-006-08	Jabkenice	zarůstající JV litorál vypuštěného bagrovaného rybníka Vidlák v Jabkenické oboře	50.316983	15.042158	JP	22.8.2007	ver	?
E-CZ-007-08	Loučeň	vyschlý Knížecí rybník SZ obce, obnažené dno	50.291436	15.007986	JP	22.8.2007	ver	?
E-CZ-023-08	Soumarský most	Teplá Vltava při vstupu do kempu od železniční zastávky	48.907731	13.827131	JP	6.9.2008	alt	?
E-CZ-025-11	Praha-Horní Počernice	V cíp nejzápadnějšího rybníka J od dálnice D11 u Xaverovského háje	50.098750	14.614694	JP	11.5.2011	spi	6x
E-CZ-042-12	Mariánské Radčice	nádrž cca 800 m VSV od kostela v obci, příbřežní tůňky u JZ břehu	50.575694	13.674944	JP	27.5.2012	spi	?
E-CZ-Libkovice	Mariánské Radčice	bývalé Libkovice, malá vodní plocha v již téměř vyschlé JZ části nádrže Libkovice, cca 1,6 km VJV od kostela v obci	50.571000	13.686500	JP	27.5.2012	spi	6x
E-CZ-059-09	Dřísy	rybníček u rekreačního zařízení Kačer, cca 300 m JV od V cípu pískovny v Ovčárech	50.245219	14.624247	JP	9.5.2009	ver	?
E-CZ-111-10	Chotkov	v Ohři na J okraji obce	50.116100	12.505067	JP & ZK	19.7.2010	spi	?
E-CZ-141-11	Bačice	Stinský rybník V-VJV od obce u JZ břehu	49.080472	16.055972	JP, JCH et al.	6.7.2011	spi	?
E-CZ-144-11	Praha - Modřany	vyplavené rostliny ve Vltavě u železniční zastávky Praha - Modřany zastávka	50.003056	14.402500	JP	23.7.2011	spi	?
E-CZ-5309	Jelenice	tůň (asi umělá) v lese u J okraje vých. rybníčku u JZ okraje NPR Polabská černava	50.339894	14.537719	JP	8.5.2009	ver	?
E-CZ-Aldasin	Aldašín	Jevany, rybníček na přítoku Bohumilského potoka cca 500 m Z-ZSZ od rozcestí Šemrincova lávka, cca 500 m VSV od kostelíku Aldašín	49.968389	14.839778	JP	9.9.2013	spi	6x
E-CZ-Alter01	Hrudkov	Vltava JV obce, cca 530 m ZSZ od vlakové zastávky Rožmberk nad Vltavou	48.626917	14.355667	JP	19.7.2012	alt	2x
E-CZ-Alter02	Rožmberk nad Vltavou	Vltava nad lávkou u vodáckého kempu při S okraji obce	48.657750	14.364417	JP	20.7.2012	alt	2x
E-CZ-Alter03	Čeřín	Vltava J obce, cca 60 m JJV od ústí Rožmitálského potoka do Vltavy	48.701417	14.354056	JP	20.7.2012	alt	2x
E-CZ-Alter04	Hašlovice	Vltava u vodáckého kempu Viking SV obce	48.749528	14.325194	JP	20.7.2012	alt	2x
E-CZ-Alter05	Český Krumlov	Vltava cca 800 m V od kláštera, cca 250 m JV od kostela P. Marie Bolestné	48.813694	14.329722	JP	21.7.2012	alt	2x
E-CZ-Alter06	Rájov	Vltava cca 670 m VJV od silničního mostu u obce	48.842028	14.373333	JP	21.7.2012	alt	2x
E-CZ-Beroun	Beroun	Berounka pod železničním mostem, při pravém břehu	49.959667	14.085861	KK & JR	19.7.2014	spi	6x
E-CZ-Bezpravi	Bezpráví	Tichá Orlice cca 70 m po proudu od mostu s červenou turistickou značkou	49.998778	16.333667	JP & KK	1.9.2013	spi	6x
E-CZ-Blesno	Blešno	zazemněná tůň v nivě Orlice, cca 275 m J od mostu přes Orlici (se zelenou turistickou značkou)	50.208167	15.929250	JP & KK	1.9.2013	ver	4x
E-CZ-Boletice-n-Labem	Boletice nad Labem	tůň na pravém břehu Labe	50.739325	14.183904	JAR & JR	23.7.2014	spi	6x
E-CZ-Brandys-n-Orlici	Brandýs nad Orlicí	Tichá Orlice pod západním mostem v obci (se žlutou turistickou značkou)	50.001361	16.279194	JP	15.8.2012	spi	6x
E-CZ-Bukovany	Bukovany	Kachní rybník cca 650 m JV od autobusové zastávky v obci	50.711111	14.584556	JP	31.5.2014	ver	4x
E-CZ-Bukovec	Plzeň-Bukovec	Berounka	49.773243	13.441935	KK & JR	4.10.2013	spi	6x
E-CZ-Bukovina	VÚ Hradiště	osada Bukovina, rybníček u hájovny cca 2,2 km JZ od kaple v osadě	50.201389	13.201639	FK	3.7.2014	spi	6x
E-CZ-Buskovice	Buškovice	zatopený kaolinový lom Velký Olpram na JV okraji obce	50.221194	13.376639	ZK	3.7.2014	spi	6x
E-CZ-Capkovo-jezírko	Mělice	Čepkovo jezírko u Labe	50.036744	15.633028	PV	VIII 2011	ver	4x

Název populace	Lokalita	Bližší popis lokality	Latituda	Longituda	Sběratel	Datum sběru	Taxon	Ploidie
E-CZ-Cernosice	Černošice	Berounka v obci, říční km 9-8,5	49.957575	14.325051	KK & JR	11.9.2014	spi	6x
E-CZ-Darkovske-M	Karviná-Darkov	laguna při SZ okraji Darkovského moře, cca 430 m JV od mostu Sokolovských hrází přes Olši	49.836972	18.549167	JP	13.7.2012	spi	6x
E-CZ-Druztova	Plzeň-Druztová	Druztová; Berounka pod Malochovou skalkou	49.782417	13.434	KK & JR	8.8.2014	spi	6x
E-CZ-G88	Stráž nad Ohří	v Ohří u silničního mostu v obci	50.339263	13.054005	AP et al.	8.9.2012	spi	6x
E-CZ-Horin01	Vrbno	nejsevernější nezaniklá tůň na levém břehu Vltavy J-JJV od Hořína, cca 2 km VSV od kostela ve Vrbně	50.328861	14.476528	JP	13.5.2012	spi	6x
E-CZ-Horin02	Vrbno	druhá nejsevernější nezaniklá tůň na levém břehu Vltavy J-JJV od Hořína, cca 1,95 km VSV od kostela ve Vrbně	50.328528	14.476583	JP	13.5.2012	spi	6x
E-CZ-Hrastice	Mokrovraty	Dolní Tušimský rybník cca 1,1 km SSZ od železniční zastávky	49.807167	14.234361	JP & KK	11.6.2013	spi	6x
E-CZ-Chocen02	Choceň	v korytu Tiché Orlice poblíž ul. Revoluční na JZ kraji města, cca 180 m V vrcholu Homole (332)	49.995333	16.210028	JP	15.8.2012	spi	6x
E-CZ-Choltice-Jedousov	Jedousov	rybník v obci	49.994195	15.607390	PV	VIII 2011	spi	6x
E-CZ-JC01	Dubeneč	v Předozábalském rybníku cca 600 m SSV od centra obce Dubeneč	49.120561	14.298447	MH	12.8.2012	spi	6x
E-CZ-JC02	Malovice u Netolic	v rybníku Potůček 1170 m JJZ od kostela v obci Malovice	49.081610	14.220293	MH	11.8.2012	spi	6x
E-CZ-JC03	Soumarský most	ve Vltavě cca 380 m ZSZ od vlakové stanice Soumarský most, v pástu do 150 m SZ od mostu přes Vltavu u tábořiště Soumarský most	48.909364	13.823664	MH	14.8.2012	alt	2x
E-CZ-JC04	Pěkná	ve Vltavě do 150 m SZ od mostu přes Vltavu nacházející se mezi vlakovou stanicí Pěkná a obcí Pěkná	48.852701	13.919836	MH	15.8.2012	alt	2x
E-CZ-JC05	Ovesná	ve Vltavě cca 600 m JV od vlakové stanice Ovesná v pásu rekreačních chatek	48.805153	13.946453	MH	15.8.2012	alt	2x
E-CZ-JC06	Dívčí kámen	ve Vltavě u pravého břehu naproti elektrárně cca 200 m SZ od zříceniny Dívčí Kámen	48.890600	14.357450	MH	15.8.2012	alt	2x
E-CZ-JC07	Boršov n. Vltavou	ve Vltavě do vzdálenosti cca 100 m jižně od vlakového mostu přes Vltavu v Boršově n. Vltavou	48.924741	14.437364	MH	15.8.2012	alt	2x
E-CZ-JC08	Písečné	v Moravské Dyji	48.964481	15.465158	BK	21.7.2013	spi	6x
E-CZ-JC09	Břehy	ve Vltavě (pravý břeh) cca 450 m JJZ od jižního konce obce Břehy	49.201685	14.443851	MH	18.8.2013	spi	6x
E-CZ-JM01	Mašovice	lom 870 m VSV od kostela v Obci Mašovice	48.859281	15.985400	BK	22.7.2013	spi	6x
E-CZ-JM02	Oslavany	v řece Oslavě pod jezem	49.117000	16.342646	MH	22.8.2014	spi	6x
E-CZ-JM03	Tulešice	vypuštěný rybník	49.048772	16.204230	MH	22.8.2014	spi	6x
E-CZ-JM04	Lechovice	v Jevišovce	48.873416	16.226894	MH	22.8.2014	spi	6x
E-CZ-JM05	Šiv	v Jevišovce	48.823271	16.399237	MH	22.8.2014	spi	6x
E-CZ-JM06	Ostrožská Nová Ves	pískovna 1,5 km SZ-ZSZ od železniční stanice	49.016144	17.426834	MH	22.8.2014	spi	6x
E-CZ-JM07	Milotice	rybník Písečný, velká populace	48.960338	17.150817	MH	22.8.2014	ver	4x
E-CZ-JM08	Kobeřice u Brna	rybník Horáček	49.077017	16.897770	MH	23.8.2014	spi	6x
E-CZ-JZC01	Nemaničky	slepé rameno Nemanického potoka, cca 300 m JZ od obce Nemaničky (okres Domažlice)	49.430156	12.711283	MH	10.8.2013	alt	2x
E-CZ-JZC02	Novosedly	Nemanický potok, cca 450 m JZ od obce Novosedly (okres Domažlice)	49.439270	12.707616	MH	11.8.2013	alt	2x
E-CZ-Kamenne-Zehrovice	Kamenné Žehrovice	rozsáhlá tůň – zbytek vodní plochy po vyschnutí nejdolejší odkalovací nádrže Z obce	50.126472	14.008972	JP	17.5.2012	spi	?
E-CZ-Karanice	Káranice	pískovna 1,5 km SZ-ZSZ od železniční stanice	50.159722	15.542333	JP	28.5.2013	spi	6x
E-CZ-Karlovy-Vary	Karlovy Vary-Stará Role	východní ze dvou rybníčků na levém břehu Rolavy, cca 1,3 km SZ od kostela Nanebevzetí Páně	50.255139	12.813750	JP	19.6.2014	spi	6x
E-CZ-Karvina-Darkov	Karviná-Darkov	kanál tekoucí z Darkovského moře do Olše, vysychající rameno kanálu pod ulicí Svornosti, cca 90 m J od mostu Sokolovských hrází přes Olši	49.839417	18.545583	JP	13.7.2012	spi	6x
E-CZ-Kerhartice	Ústí nad Orlicí-Kerhartice	v Tiché Orlici pod jezem při Z okraji obce, cca 500 m JZ od kostela Povýšení sv. Kříže	49.972111	16.362222	JP	15.8.2012	spi	6x
E-CZ-Kersko	Třebestovice		50.131389	14.930556	?	IV 2012	spi	6x
E-CZ-Kravina-Doly	Karviná-Doly	nádrž JV od býv. Dolu Gabriela, cca 1,1 km JV od šikmého kostela sv. Petra z Alkantary	49.828250	18.501750	JP	15.7.2012	spi	6x
E-CZ-Krcak	Bohuslav	rybník Krčák	50.518333	15.209472	JP & PT	14.6.2012	spi	6x
E-CZ-Lapek	Žehrov	rybníček Lápek v soustavě rybníků Z obce	50.532611	15.087889	JP & PT	14.6.2012	ver	4x
E-CZ-Lety	Lety	Berounka	49.921209	14.261282	KK & JR	11.9.2014	spi	6x
E-CZ-Lhotecky	Střemy	rybník Lhotka na potoku Pšovce ZSZ od vsi	50.392012	14.546780	KK	20.6.2013	ver	4x

8. Přílohy

Název populace	Lokalita	Bližší popis lokality	Latituda	Longituda	Sběratel	Datum sběru	Taxon	Ploidie
E-CZ-Lutovnik	Loučeň	dlouhodobě vypuštěný a zarůstající rybník Lutovnick SZ obce, v mělké vodě poblíž hráze	50.293000	15.002306	JP	7.6.2013	ver	4x
E-CZ-Machac	Doksy	Máchovo jezero	50.583679	14.649283	?	VIII 2013	spi	6x
E-CZ-Melice	Mělice	PP Mělické labiště, slepé rameno Labe	50.033528	15.626528	KK	VIII 2011	ver	4x
E-CZ-MS001	Obříství	na levém břehu Labe JV od obce Obříství, až po most přes Labe silnice č. 9	50.291333	14.495533	MH	15.9.2011	spi	6x
E-CZ-MS002	Hodějovice	v odkališti cca 1 km SV od vlakové stanice Nové Hodějovice	48.956867	14.513367	MH	21.9.2011	spi	6x
E-CZ-MS01	Moravská Nová Ves	šterkovna JV obce, oddělená vodní plocha poblíž asfaltové cesty vedoucí po S okraji šterkovny, cca 1,7 km VJV od nádraží	48.793639	17.043639	MH & JP	4.6.2013	spi	6x
E-CZ-Ohre-Loket	Loket	v Ohři pod mostem T.G.M., který vede z Lokte směrem na Sokolov, proti proudu řeky na levém břehu	50.187393	12.752331	BK	13.9.2012	spi	6x
E-CZ-Olomouc-cihelna	Olomouc-Slavonín	zatopená cihelna cca 600 m SZ od aquaparku	49.576500	17.214472	JP & ZK	20.6.2013	spi	6x
E-CZ-Pasohlavky	Pasohlávky	břeh koupaliště (býv. pískovny) Velká laguna u břehů nádrže Nové Mlýny-horní v autokempu Merkur, cca 1,9 km VJV od kostela v obci	48.897000	16.567389	JP	20.7.2014	spi	6x
E-CZ-Pisechny	Milotice	Milotický rybník v PR Písečný rybník SV obce, severozápadní břeh	48.963528	17.149917	JP	20.5.2014	ver	4x
E-CZ-RacekII	Jedlová	rybník Ráček II cca 700 m JJZ od samoty Stašov-Balda	49.670639	16.331250	JP & ZK	20.6.2013	spi	6x
E-CZ-Rybensky-mlyn	Buškovice	zatopený kaolínový lom cca 1,9 km JZ od kostela v obci	50.232056	13.348445	KK & JR	1.7.2014	spi	6x
E-CZ-SC01	Břehyně	Břehýňský rybník, S a SZ břeh rybník, cca 1 km SV od obce Břehyně	50.582033	14.702667	MH	22.9.2012	spi	6x
							ver	4x
E-CZ-SC02	Břehyně	rybníček v lese cca 3,2 km VJV od obce Břehyně, 200 m od křižovatky cest	50.567658	14.736392	MH	23.9.2012	spi	6x
E-CZ-SC03	Hradčany, Ralsko	SV břeh Vavrouškova rybníku (Hradčanské rybníky), cca 3 km VJV od obce Hradčany	50.610030	14.751240	MH	23.9.2012	spi	6x
							ver	4x
E-CZ-SC04	Hradčany, Ralsko	SV břeh rybníku Držník (Hradčanské rybníky), cca 1 km JV od minizoo Osamělá hvězda v obci Hradčany	50.611295	14.722695	MH	23.9.2012	spi	6x
							ver	4x
E-CZ-Sedlec	Sedlec u Radonic	PR Sedlec, SV břeh vodní nádrže Sedlec	50.270194	13.244833	JP	3.7.2014	spi	6x
E-CZ-Sedlecko	Sedlečko	tůň na levém břehu Ohře 2 km ZSZ od vsi, cca 365 m n. m	50.240833	12.930278	JAR & JR	29.8.2013	ver	
E-CZ-Spaleny-mlyn	Spálený mlýn	Berounka; zřícenina mlýna u osady Telín JJZ obce Nadryby	49.813592	13.520735	KK & JR	8.8.2014	spi	
E-CZ-Srbsko	Srbsko	Berounka 100 m pod lávkou, při levém břehu	49.935556	14.133639	KK & JR	19.7.2014	spi	6x
E-CZ-STC01	Lány	nejvýchoďnější rybník na Pánově louce, cca 1,9 km JJZ od zámku v Lánech	50.107964	13.945528	MH	25.6.2013	spi	6x
E-CZ-STC02	Řitka	rybník cca 100 m JV od zámku v obci Řitka	49.896089	14.293578	MH	25.6.2013	spi	6x
E-CZ-STC03	Praha - Prosek	v nádrži u mostu cca 450 m JZ od stanice metra Prosek	50.115089	14.496128	MH	20.8.2013	ver	4x
E-CZ-STC04	Starý Knín	návesní rybník u kapličky ve Starém Kníně	49.787922	14.283383	MH	IX 2013	spi	6x
E-CZ-STC05	Svaté Pole	Svatopolský rybník	49.751928	14.174648	MH	IX 2013	spi	6x
E-CZ-Stepan	Ostrava-Martínov	rybník Štěpán SV-VSV obce, při severních březích rybníka	49.866611	18.194722	JP & LP	14.7.2012	spi	6x
E-CZ-Sudislav	Sudislav	Orlické Podhůří (okr. Ústí nad Orlicí), Klopoty, Luh, Tichá Orlice u železničního mostu u osady	49.992778	16.335972	JP & KK	1.9.2013	spi	
E-CZ-Svadov	Svádov	Ústí nad Labem-Svádov, v tůňce na pravém břehu Labe	50.663430	14.095386	JAR & JR	23. 7. 2014	spi	
E-CZ-Svihov	Sítítež	vodní nádrž Švihov, Okraj zátoky vedoucí k ústí Brzotického potoka	49.669042	15.156941	ML	1 2014	spi	6x
E-CZ-Troja	Praha-Troja	ve Vltavě při pravém břehu v okolí lávky vedoucí od zámecké zahrady Trojského zámku na Císařský ostrov	50.114583	14.418222	JP	26.5.2012	spi	6x
E-CZ-Tyn-n-Bečvou	Týn nad Bečvou	komplex propojených tůň v S části chráněného území	49.527000	17.642583	JP & ZK	21.6.2013	ver	4x
E-CZ-VC01	Petrovice nad Orlicí	staré rameno Orlice cca 100 m JZ od silnice č. 11 vedoucí z Hradce Králové do Týniště nad Orlicí	50.161580	16.054086	MH	11.9.2013	spi	6x
E-CZ-VC02	Petrovice nad Orlicí	tůň cca 430 m SV od táborové osady Sutě Břehy	50.160300	16.030583	MH	11.9.2013	spi	6x
							ver	4x
E-CZ-VC03	Běleč nad Orlicí	tůň cca 240 m SSV od silnice z Krhovic do Běleče nad Orlicí	50.197842	15.964329	MH	11.9.2013	spi	6x
							ver	4x

Název populace	Lokalita	Bližší popis lokality	Latituda	Longituda	Sběratel	Datum sběru	Taxon	Ploidie
E-CZ-VC04	Poděbrady	v Labi u pravého břehu u silničního mostu silnice č. 38	50.166450	15.089249	MH	11.9.2013	spi	6x
E-CZ-VC05	Pardubice - Hürka	v Labi u levého břehu	50.051625	15.787960	MH	VI 2014	spi	6x
E-CZ-VC06	Dolany	v rybníku Hrádek u hráze uprostřed rybníka, cca 1,9 km VJV od zastávky Dolany, V Chalupách	50.105000	15.717778	MH	22.7.2014	spi	6x
E-CZ-Vidlak	Bohuslav	rybník Vidlák, ústí přítoku na Z okraji rybníka	50.523278	15.215028	JP & PT	14.6.2012	ver	4x
E-CZ-Vyrovka	Pečky	potok Výrovka u mostu silnice Pečky – Vrbová Lhota, cca 750 m SV od okraje obce	50.102861	15.045556	JP	27.5.2013	spi	6x
E-CZ-Zalhostice	Žalhostice	v Labi u pravého břehu, ř. km 790,5-790	50.524501	14.100641	JAR & JR	20.7.2014	spi	6x
E-CZ-Zatluky	Zatluky	Mokřina 1,1 km V od rozcestníku v Horním Dehtově a cca 300 m JZ od křižovatky silnic 325 a 300	50.424340	15.750750	PT	11.8.2013	ver	4x
E-CZ-ZC01	Plzeň-Bolevec	rybník Nováček cca 330 m Z od vlakové stanice Plzeň-Bolevec	49.785253	13.381311	MH	16.9.2013	spi	6x
E-CZ-ZC02	Plzeň-Bolevec	Šídlavský rybník cca 550 m Z od vlakové stanice Plzeň-Bolevec	49.784581	13.378103	MH	16.9.2013	spi	6x
E-CZ-Zeleznice-Hluboky	Železnice	Hluboký rybník cca 1,3 km SZ od Náměstí Svobody	50.482889	15.372111	KK	2.7.2013	spi	6x
E-CZ-Zernoseky	Velké Žernoseky	velká pískovna u Velkých Žernosek (Žernosecké jezero)	50.527108	14.075196	JAR & JR	20.7.2014	spi	6x
E-CZ-ZK2341	Hradec Králové	V Labi 100 m nad Pražským mostem	50.210854	15.828201	JR	#####	spi	
E-CZ-ZK3105	Lanžhot	pískovna na Dědově louce v oboře Soutok 9,5 km J od obce	48.632889	16.959972	ZK	7.6.2014	spi	6x
E-CZ-ZK3108	Lanžhot	Lánské louky, říň 1,4 km JV od zámku Lány 2,3 km JZ od obce	48.704665	16.934168	ZK	7.6.2014	spi	6x
Dánsko (DK)								
E-DK-D-Cerato	Nees	fjord Indfjorden	56.410639	8.230556	JP et al.	1.8.2012	spi ver	6x 4x
E-DK-D-Verticil	Tange	stoka poblíž Varde Å river	55.644750	8.543250	JP et al.	3.8.2012	ver	4x
E-DK-Gudena02	Bjerringbro	řeka Gudena	56.376500	9.699139	JP et al.	2.8.2012	spi	6x
E-DK-Gudena04	Ulstrup	řeka Gudena	56.392806	9.781472	JP et al.	2.8.2012	spi	6x
E-DK-Gudena05	Langå	řeka Gudena	56.379583	9.883833	JP et al.	2.8.2012	spi	6x
E-DK-Gudena06	Langå	řeka Gudena	56.398389	9.911083	JP et al.	2.8.2012	spi	6x
E-DK-Gudena07	Grensten	řeka Gudena	56.411778	9.925972	JP et al.	2.8.2012	spi	6x
E-DK-Myrio-Jih01	Højer	Højer Havn, drenážní odvodňovací systém jihojihozápadně od vesnice	54.944750	8.687583	JP et al.	3.8.2012	sib	9x
E-DK-Myrio-Jih02	Højer	Højer Havn, drenážní odvodňovací systém jihojihozápadně od vesnice	54.937833	8.686694	JP et al.	3.8.2012	sib	9x
Finsko (FI)								
E-FI-Helsinki	Viiikki	odvodňovací kanál	60.219351	24.991690	PS	19.9.2012	ver	4x
E-FI-Helsinki-Konala	Helsinki-Konala	jezero v parku	60.240196	24.863745	PS	2.10.2012	ver	4x
E-FI-ZK2981	Muonio	Lappland (Lappi): Muonio: Řeka Jerisjoki 0,9 km proti proudu od jejího ústí do řeky Muonio (Muonionjoki) v Muonio; 232 m.n.m	67.955556	23.675000	ZK	6.8.2013	alt	2x
E-FI-ZK2991	Karesuando	Prov. Lappland: kraj Norrbotten: mlčičina řeky Muonio (Muonionjoki) po ptoudod mostu severněna okraj Karesuando; 320 m.n.m	68.442500	22.481667	ZK	6.8.2013	alt	2x
Itálie (IT)								
E-IT-IT01	Silla		40.368120	15.599620	?	V 2013	spi	6x
E-IT-IT02	Riva del Garda	Lago di Garda, v místě ústí řeky Sarca	45.883056	10.869358	BK	7.9.2013	spi	6x
E-IT-IT03	Arco	u Kempu Zoo Camping Arco, řeka Sarca	45.935758	10.894900	BK	7.9.2013	spi	6x
Litva (LT)								
E-LT-P06	Simnas village	jezero Giluitis blízko k vesnici Simnas	54.370177	23.627252	PT & BK	VIII 2012	spi	6x
E-LT-P07	Verebiejai	Jezero Žuvintas	54.457356	23.638162	PT & BK	VIII 2012	sib ver	6x 4x
E-LT-P08	Veisiejai	jezero Ancis blízko k vesnici Veisiejai	54.100457	23.682027	PT & BK	VIII 2012	sib ver	6x 4x
E-LT-P09	Klepočiai	jezero Galstas	54.127738	23.581838	PT & BK	VIII 2012	spi	6x
E-LT-P10	Klepočiai	jezero Zapsys	54.112277	23.564739	PT & BK	VIII 2012	sib	6x
Maďarsko (HU)								
E-HU-MA01	Detk	potok Tarnóca u města Detk, naplavenina u mostu přes potok	47.749683	20.154550	MH	8.6.2013	aqu	?
E-HU-MA02	Detk	potok v obci Detk pod mostem	47.744400	20.092433	MH	8.6.2013	spi	6x
E-HU-MA03	Kács	potok SZ od obce Kács	47.959317	20.610550	MH	8.6.2013	aqu aqu	6x 8x
Německo (DE)								
E-DE-B14	Löhne	řeka Werre u města Löhne	52.184890	8.667070	PT & BK	VII 2012	spi	6x
E-DE-B15	Salzgitter-Bad	Salzgitter-Bad - Finkenkuhle - bývalý povrchový důl	52.050730	10.354490	PT & BK	VII 2012	het	2x
E-DE-B16	Salzgitter-Bad	Salzgitter-Bad - Greifark - malé jezírko v parku	52.039290	10.378970	PT & BK	VII 2012	ver	4x

8. Přílohy

Název populace	Lokalita	Bližší popis lokality	Latituda	Longituda	Sběratel	Datum sběru	Taxon	Ploidie
E-DE-B17	Salzgitter-Bad	Salzgitter-Bad - zatopený lom u Engerode ("Hannoversche treue")	52.083254	10.376501	PT & BK	VII 2012	het	2x
E-DE-B18	Salzgitter	Salzgitter - Üfingen - zatopený pískový lom	52.195325	10.442520	PT & BK	VII 2012	spi	6x
E-DE-D-Ortze	Germany, Baven	řeka Örtze	52.844972	10.100194	JP & ZK	4.8.2012	alt	2x
E-DE-JN01	Pocking	přírodní koupaliště u silnice č. 12 cca 1,65 km ZJZ od vlakového nádraží ve městě Pocking	48.392056	13.304583	MH	24.7.2014	spi	6x
E-DE-JN02	Waltersdorf	nádrž cca 600 m J od odbočky ze silnice č. 12 do vesnice Waltersdorf	48.271447	13.055045	MH	24.7.2014	ver	4x
E-DE-JN03	Seeon	Klostersee, v rákosí u pláže JZ od obce Seeon	47.972772	12.457549	MH	25.7.2014	spi	6x
E-DE-JN04	Grünweg	nádrž u vesnice Grünweg JZ od obce Seeon	47.965388	12.445845	MH	25.7.2014	spi	6x
E-DE-JN05A	Buch	Buchsee u osady Buch cca 1,3 JJZ od obce Hinzing	47.957302	12.367869	MH	25.7.2014	spi ver	6x 4x
E-DE-JN05B	Buch	malá vodní nádrž vedle jezera Buchsee u osady Buch cca 1,3 JJZ od obce Hinzing	47.956890	12.367043	MH	25.7.2014	ver	4x
E-DE-JN06	Eggstätt	severní zátoka Langbürgner See cca 3 km JZ od obce Eggstätt	47.909539	12.348738	MH	25.7.2014	spi	6x
E-DE-JN07	Untershofen	jezero Simsee, cca 400 m JJV od nádrže v obci Untershofen	47.887111	12.245375	MH	25.7.2014	spi	6x
E-DE-JN08	Kleinhartpenning	rašelinné jezero Hackensee cca 800 m Z od obce Kleinhartpenning	47.847525	11.645440	MH	25.7.2014	spi	6x
E-DE-JN09	Königsdorf	Bibisee, cca 2 km JJV od centra města Königsdorf	47.834417	11.470056	MH	26.7.2014	spi	6x
E-DE-JN10	Iffledorf	SV zátoka Staltracher See, cca 650 km SSZ od vlakového nádraží Iffledorf	47.783901	11.322118	MH	26.7.2014	spi ver	6x 4x
E-DE-JN11	Iffledorf	Z část Staltracher See, cca 780 ZSZ od vlakového nádraží Iffledorf	47.784802	11.319455	MH	26.7.2014	spi ver	6x 4x
E-DE-JN12	Seehaupt	Breitenauer See, cca 3 km JJV od vlakového nádraží v obci Seehaupt	47.795615	11.293813	MH	26.7.2014	ver	4x
E-DE-JN13	Bernried	vodní nádrž nejbližší domku 2,5 km JZ od vlakového nádraží Bernried	47.841938	11.266433	MH	26.7.2014	spi	6x
E-DE-JN14	Andechs	Ammersee, 3 km JZ od kláštera v Andechs (Kloster Andechs)	47.957154	11.150562	MH	26.7.2014	spi	6x
E-DE-JN15	Widdersberg	Pilsensee, cca 750 m SZ od obce Widdersberg	48.020731	11.192404	MH	26.7.2014	spi	6x
E-DE-JN16	Walchstadt	Wörthsee, cca 520 m ZJZ od autobusové zastávky Steinebach, Maistraße	48.072731	11.195923	MH	26.7.2014	spi	6x
Nizozemí (NL)								
E-NL-B11	Breda	Breda - kanál v Zaaipark	51.572530	4.761180	PT & BK	VII 2012	het	2x
E-NL-B12	Utrecht	Utrecht - Oudegracht (starý kanál) v centru města	52.082288	5.124089	PT & BK	VII 2012	spi	6x
E-NL-B13	Amersfoort	Amersfoort - malé jezírko u kanálu Eem v centru města	52.165500	5.400740	PT & BK	VII 2012	sib	9x
Norsko (NO)								
E-NO-M04	NP Jotunheim	jezero Nedre Leirungen	61.479222	8.814111	SP	9.8.2013	alt	2x
Polsko (PL)								
E-PL-075-11	Czarna Orawa	Poland, kraj Małopolskie, řeka Czarna Orawa 0,6 km ZJZ od Jablonka	49.468833	19.673000	JP, ZK et al.	25.6.2011	spi	6x
E-PL-P01	Zator	Pobliskie jeziora	49.960192	19.426616	PT & BK	VII 2012	spi ver	6x 4x
E-PL-P02	Elk	řeka Elk ve městě	53.832276	22.383240	PT & BK	VII 2012	spi ver	6x 4x
E-PL-P03	Elk	bývalí pískový důl u Chrzlwo	53.840779	22.270417	PT & BK	VII 2012	ver	4x
E-PL-P04	Przytuły	Jeziro Przytułskie u Przytuły	53.929806	22.382612	PT & BK	VII 2012	spi	6x
E-PL-P05	Olecko	Jeziro Olecko - Severní část jezera	54.060117	22.496387	PT & BK	VII 2012	ver	4x
E-PL-P11	Ogrodniki	Jeziro Holny u vesnice Ogrodniki	54.132090	23.456311	PT & BK	VII 2012	spi	6x
E-PL-P12	Magdalenowo	Jeziro Dowcien	54.076519	23.116840	PT & BK	VII 2012	ver	4x
E-PL-P13	Magdalenowo	Jeziro Wigry	54.073850	23.102842	PT & BK	VII 2012	spi	6x
E-PL-P14	Widminy	Wydminskie jezioro - vesnice Widminy	53.987219	22.033853	PT & BK	VII 2012	ver	4x
E-PL-P15	Ruda	Jeziro Nialk blízko u Ruda	53.972920	21.828796	PT & BK	VII 2012	spi	6x
E-PL-P16	Zegrze	Jeziro Zegrze - blízko u vesnice Zegrze	52.460236	21.024322	PT & BK	VII 2012	spi	6x
E-PL-P17	Smardzewice	Jeziro Sulejow - záliv Sulejowski blízko u vesnice Smardzewice	51.470003	20.011536	PT & BK	VII 2012	spi	6x
Rakousko (AT)								
E-AT-R01	Haslach am der Mühl	v řece Grosse Mühl cca 640 m JZ od obce Haslach am der Mühl	48.572217	14.035147	MH	7.8.2014	alt	2x
E-AT-R02	Minihof	v řece Grosse Mühl Z od obce Laimbach	48.615779	14.010821	MH	7.8.2014	alt	2x
E-AT-R03	Pürnstern	v řece Grosse Mühl S od obce Pürnstern	48.509140	14.014130	MH	7.8.2014	alt	2x
E-AT-R04	Gmunden	na břehu Traunsee v loděnici v SV části jezera ve městě Gmunden	47.913814	13.806429	MH	8.8.2014	spi	6x

Název populace	Lokalita	Bližší popis lokality	Latituda	Longituda	Sběratel	Datum sběru	Taxon	Ploidie
E-AT-R05	Bad Ischl	vodní nádrž Z od silnice č. 145 cca 1,3 km JJZ od vlakové stanice Bad Ischl	47.700852	13.621702	MH	8.8.2014	ver	4x
E-AT-R06	Bad Ischl	okrasný rybníček v parku 1,8 m JZ od vlakové stanice Bad Ischl	47.700675	13.609729	MH	8.8.2014	ver	4x
E-AT-R07	Au	odtok z jezera Mondsee do Attersee v obci Au	47.803847	13.449873	MH	8.8.2014	spi	6x
E-AT-R08	Zell am Moos	naplavenina u mola na koupališti v Irsee u fotbalového hřiště u obce Zell am Moos	47.900982	13.312756	MH	8.8.2014	spi	6x
E-AT-R09	Matzing	naplavenina u břehu v nejseverovýchodnější části Wallersee u obce Matzing	47.929315	13.206676	MH	8.8.2014	spi	6x
E-AT-R10	Palting	v řece Mattig JV od obce Bruck	48.014265	13.120923	MH	9.8.2014	spi	6x
E-AT-R11	Ostermiething	kanál SZ od koupaliště Ostermiething	48.040851	12.829278	MH	9.8.2014	ver	4x
E-AT-R12	Schacha	nádrž JZ od obce Schacha u přírodní rezervace	48.201100	13.172800	MH	9.8.2014	spi	6x
E-AT-R13	Mining	rozšířený kanál u obce Frauenstein vleouvající se do Innu	48.281657	13.161879	MH	9.8.2014	spi	6x
E-AT-R14	Untersunzing	nejsevernější rybník ze tří v obci Untersunzing	48.289361	13.191508	MH	9.8.2014	spi	6x
E-AT-R15	Mühlheim am Inn	nádrž západně od obce Mühlheim a SV od jezera Angelsee Ranftl	48.282610	13.232370	MH	9.8.2014	spi	6x
E-AT-R16	Ufer	nádrž u vodní elektrárny u Innu cca 1 km Z od obce Kirchdorf am Inn	48.293560	13.266180	MH	9.8.2014	spi ver	6x 4x
E-AT-ZK3140	Grünau in Almtal	Almsee, vyplavené fragmenty u JZ cípu jezera	47.747222	13.950556	ZK	28.7.2014	spi	6x
Slovensko (SK)								
E-SK-Klatovske-rameno	Horné Mýto	Klátovské rameno u mostu u osady Ostrov	48.014722	17.721389	JR	21.5.2014	ver	4x
E-SK-Klucovec	Kľúčovec	kanál 1 km JJZ od kostela v obci	47.785556	17.710833	JR	20.5.2014	spi	6x
E-SK-Kuty	Sekule	Slovensko, Záhorská nížina, Sekule (okr. Senica), vlhká písčina na břehu drobné pískovny v soustavě zatopených pískoven 1,2 km SSV od SSZ okraje obce	48.613528	17.000556	JP, ZK et al.	26.6.2011	spi	6x
E-SK-Lom-Nezbud	Nezbudská Lúčka	lom Nezbud cca 350 m SV od nádraží Strečno	49.183647	18.874100	JR	5.6.2014	ver	4x
E-SK-MS02	Sekule	šterkovna Oširid cca 1,7 km SSZ od SZ okraje obce	48.625350	16.987467	MH & JP	4.6.2013	spi	6x
E-SK-MS03	Bratislava-Trnávka	pískovna Zlaté piesky	48.184017	17.185667	MH & JP	5.6.2013	spi	6x
E-SK-MS04	Senec	Slunečné jazerá v obci	48.214983	17.411000	MH & JP	5.6.2013	spi	6x
E-SK-MS05	Pusté Úľany	osada Tarmok, pískovna cca 0,75 km VJV osady	48.234233	17.555967	MH & JP	5.6.2013	spi	6x
E-SK-MS06	Žihárec	rybník u silnice na SZ okraji obce	48.079083	17.872417	MH & JP	5.6.2013	spi	6x
E-SK-MS07	Komoča	osada Pačeroč, vodní plocha při S okraji osady	47.936083	18.022617	MH & JP	5.6.2013	spi	6x
E-SK-MS08	Kameničná	osada Balvany, spojovací kanál mezi kanály Kolárovo-Kameničná a Vinohrady-Kameničná	47.842417	18.006333	MH & JP	6.6.2013	spi ver	6x 4x
E-SK-MS09	Komárno	osada Hadovce, Komárňanský kanál na okraji osady	47.788567	18.075683	MH & JP	6.6.2013	spi ver	6x 4x
E-SK-MS10	Malacky	Marhecké rybníky J od města, nejzápadnější rybník	48.411800	17.020150	MH & JP	6.6.2013	spi	6x
E-SK-MS11	Malacky	Marhecké rybníky J od města, 3. nejzápadnější rybník, dlouhodobě polovypuštěný	48.409683	17.022800	MH & JP	6.6.2013	spi	6x
E-SK-MS12	Malé Leváre	pískovna u chatové kolonie Rudava, cca 1,25 km od kostela v obci	48.493417	16.959850	MH & JP	6.6.2013	spi	6x
E-SK-Nezbudska-lucka	Nezbudská Lúčka	horní zatopený lom 600 m V od nádraží Strečno	49.182222	18.878056	JR	5.6.2014	spi	6x
E-SK-Orava01	Zubrohlava	Slovensko, Západné Beskydy, Zubrohlava (okr. Námestovo), mělký okraj vodní nádrže Orava 1,7 km J od obce	49.418444	19.514139	JP et al.	24.6.2011	spi	6x
E-SK-Orava02	Bobrov	Slovensko, Západné Beskydy, Bobrov (okr. Námestovo), obnažený litorál vodní nádrže Orava 1,4 km JJZ od obce	49.413389	19.529833	JP et al.	24.6.2011	ver	4x
E-SK-Sirava	Kaluža	vodní nádrž Zemplínská Širava v obci	48.806306	22.008972	KK	26.7.2014	spi	6x
Švédsko (SE)								
E-SE-M01	NR Järnavik	v zátočině Edstorpaviken Baltského moře	56.184889	15.062056	SP	31.7.2013	sib	9x
E-SE-M02	Öland	v Baltickém moři u jižního cípu ostrova	56.199844	16.398222	SP	31.7.2013	sib	9x
E-SE-M03	NP Skuleskogen	v zátočině moře u ostrůvku Tärnättholmarna	63.110444	18.543861	SP	2.8.2013	spi	6x
E-SE-Stavre	Stavre	řeka Gimån před ústím do jezera Revsundsjön	62.815107	15.353446	FK	11.8.2011	alt	2x
Velká Británie (GB)								
E-GB-UK01	Callander	u levého břehu v řece Eas Gobhain	56.243292	-4.221379	MH	13.9.2014	alt	?
E-GB-UK02	Douglas	jezero 2,2 km SV od kostela v obci Douglas JZ od města Lanark	55.572698	-3.823528	MH	27.9.2014	spi	6x

8. Přílohy

Název populace	Lokalita	Bližší popis lokality	Latituda	Longituda	Sběratel	Datum sběru	Taxon	Ploidie
E-GB-UK03	Parish Holm	Glenbuck Loch u osady Parish Holm, západně od obce Muirkirk	55.532057	-3.963651	MH	27.9.2014	spi	6x
E-GB-UK04	Glasgow, Dennistoun	v nádrži v Alexandra Park	55.863474	-4.201910	MH	28.9.2014	spi	6x
E-GB-UK05	Arden	v nádržích u jezera Loch Lomond v areálu golfového hřiště u obce Arden	56.034249	-4.636108	MH	28.9.2014	alt	2x

Příloha 3: Doprovodné rody, případně druhy vodních makrofyt na studovaných lokalitách rodu *Myriophyllum* (N = počet populací; rody jsou uvedeny v případě, že na některých lokalitách nebyly dané rody určeny do druhu).

<i>Myriophyllum alterniflorum</i>	N = 20
<i>Batrachium</i>	14
<i>Batrachium peltatum</i>	11
<i>Callitriche</i>	10
<i>Callitriche hamulata</i>	8
<i>Callitriche platycarpa</i>	3
<i>Elodea canadensis</i>	4
<i>Fontinalis</i>	2
<i>Isoëtes</i>	1
<i>Potamogeton</i>	8
<i>Potamogeton alpinus</i>	2
<i>Potamogeton crispus</i>	4
<i>Potamogeton gramineus</i>	1
<i>Potamogeton obtusifolius</i>	1
<i>Potamogeton perfoliatus</i>	2
<i>Sagittaria sagittifolia</i>	2
<i>Sparganium</i>	5
<i>Sparganium angustifolium</i>	1
<i>Sparganium emersum</i>	4

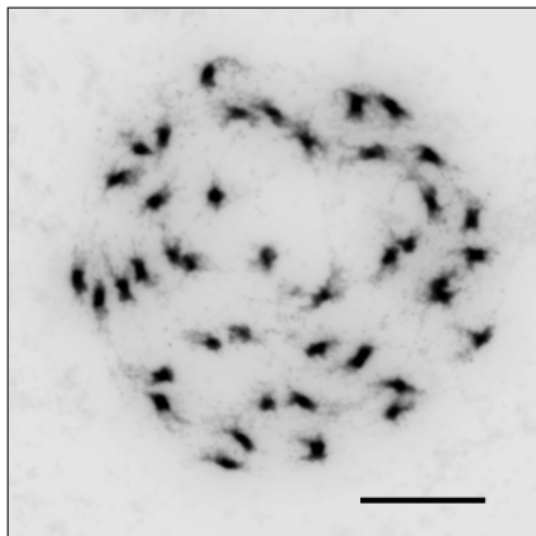
<i>Myriophyllum sibiricum</i>	N = 4
<i>Batrachium circinatum</i>	2
<i>Bolboschoenus maritimus</i>	1
<i>Callitriche obtusangula</i>	1
<i>Ceratophyllum demersum</i>	2
<i>Potamogeton</i>	1
<i>Potamogeton compressus x acutifolius</i>	1
<i>Potamogeton friesii</i>	1
<i>Potamogeton lucens</i>	1
<i>Potamogeton lucens</i>	1
<i>Potamogeton x nitens</i>	1
<i>Ruppia</i>	1
<i>Stratiotes aloides</i>	1
<i>Stuckenia</i>	3
<i>Stuckenia pectinata</i>	3

<i>Myriophyllum spicatum</i>	N = 70
<i>Acorus calamus</i>	1
<i>Alisma gramineum</i>	1
<i>Alisma plantago-aquatica</i>	1
<i>Batrachium</i>	26
<i>Batrachium baudotii</i>	3
<i>Batrachium cf. penicillatum</i>	1
<i>Batrachium circinatum</i>	13
<i>Batrachium fluitans</i>	1
<i>Batrachium peltatum</i>	5
<i>Batrachium rionii</i>	2
<i>Batrachium trichophyllum</i>	3
<i>Berula erecta</i>	1
<i>Butomus umbellatus</i>	1
<i>Callitriche</i>	8

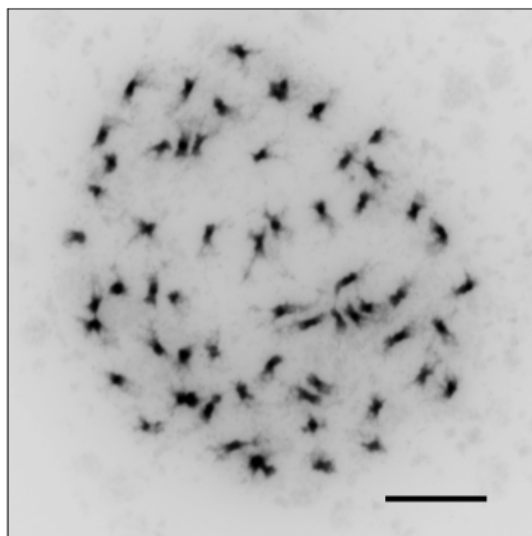
<i>Myriophyllum spicatum</i>	N = 70
<i>Callitriche cophocarpa</i>	2
<i>Callitriche hamulata</i>	5
<i>Callitriche hermaphroditica</i>	1
<i>Callitriche obtusangula</i>	1
<i>Callitriche platycarpa</i>	1
<i>Ceratophyllum</i>	14
<i>Ceratophyllum demersum</i>	10
<i>Ceratophyllum submersum</i>	2
<i>Elatine hydropiper</i>	1
<i>Eleocharis palustris</i>	1
<i>Elodea canadensis</i>	4
<i>Fontinalis</i>	1
<i>Glyceria maxima</i>	1
<i>Chara</i>	2
<i>Juncus compressus</i>	1
<i>Lemanea</i>	1
<i>Lemna</i>	10
<i>Lemna minor</i>	4
<i>Lemna trisulca</i>	2
<i>Lemna turionifera</i>	1
<i>Mentha</i>	1
<i>Myosotis palustris subsp. laxiflora</i>	1
<i>Myriophyllum verticillatum</i>	6
<i>Najas</i>	2
<i>Najas marina</i>	1
<i>Nuphar</i>	7
<i>Nuphar lutea</i>	7
<i>Nymphaea</i>	5
<i>Persicaria amphibia</i>	3
<i>Phragmites australis</i>	4
<i>Potamogeton</i>	22
<i>Potamogeton berchtoldii</i>	2
<i>Potamogeton crispus</i>	7
<i>Potamogeton lucens</i>	1
<i>Potamogeton lucens</i>	1
<i>Potamogeton natans</i>	2
<i>Potamogeton nodosus</i>	4
<i>Potamogeton perfoliatus</i>	5
<i>Potamogeton pusillus</i>	4
<i>Potamogeton trichoides</i>	2
<i>Schoenoplectus</i>	2
<i>Schoenoplectus lacustris</i>	1
<i>Sparganium</i>	2
<i>Sparganium erectum</i>	1
<i>Stuckenia</i>	9
<i>Stuckenia pectinata</i>	9
<i>Typha latifolia</i>	1
<i>Utricularia</i>	4
<i>Utricularia australis</i>	2
<i>Zannichellia palustris</i>	3

<i>Myriophyllum verticillatum</i>	N = 31
<i>Alisma gramineum</i>	1
<i>Alisma plantago-aquatica</i>	1
<i>Batrachium</i>	9
<i>Batrachium aquatile</i>	1
<i>Batrachium circinatum</i>	4
<i>Batrachium peltatum</i>	1
<i>Batrachium rionii</i>	1
<i>Batrachium trichophyllum</i>	2
<i>Butomus umbellatus</i>	2
<i>Callitriche</i>	9
<i>Callitriche cophocarpa</i>	1
<i>Callitriche obtusangula</i>	2
<i>Callitriche palustris</i>	2
<i>Callitriche platycarpa</i>	2
<i>Callitriche stagnalis</i>	1
<i>Carex paniculata</i>	1
<i>Ceratophyllum</i>	7
<i>Ceratophyllum demersum</i>	5
<i>Elatine hydropiper</i>	1
<i>Elodea canadensis</i>	3
<i>Hippuris vulgaris</i>	1
<i>Hottonia palustris</i>	2
<i>Hydrocharis morsus-ranae</i>	2
<i>Chara</i>	1
<i>Lemna</i>	3
<i>Lemna trisulca</i>	1
<i>Myriophyllum spicatum</i>	9
<i>Nuphar lutea</i>	9
<i>Nymphaea</i>	13
<i>Nymphaea alba</i>	1
<i>Oenanthe aquatica</i>	1
<i>Persicaria amphibia</i>	1
<i>Phragmites australis</i>	3
<i>Potamogeton</i>	9
<i>Potamogeton berchtoldii</i>	1
<i>Potamogeton berchtoldii x pusillus</i>	1
<i>Potamogeton compressus x trichoides</i>	1
<i>Potamogeton crispus</i>	2
<i>Potamogeton lucens</i>	1
<i>Potamogeton lucens</i>	1
<i>Potamogeton natans</i>	2
<i>Potamogeton perfoliatus</i>	1
<i>Potamogeton pusillus</i>	2
<i>Potamogeton trichoides</i>	2
<i>Rorippa amphibia</i>	1
<i>Schoenoplectus lacustris</i>	1
<i>Stuckenia pectinata</i>	6
<i>Tillaea aquatica</i>	1
<i>Utricularia</i>	7
<i>Utricularia australis</i>	3
<i>Utricularia minor</i>	1
<i>Veronica scutellata</i>	1

Příloha 4: Mitotické chromozomy dvou ploidních úrovní druhu *M. sibiricum* nabarvené DAPI, měřítko = 10 μ m (Mandáková, 2014, unpubl.).



Hexaploidní *M. sibiricum* ($2n = 6x = 42$)
z populace NA-MN-Myr023.



Nonaploidní *M. sibiricum* ($2n = 9x = 63$)
z populace E-DK-Myrio-Jih01.

8. Přílohy

Příloha 5: Přehled korelovaných znaků u jednotlivých taxonomických úrovní morfometrické analýzy, kde byl korelační koeficient $> |0.95|$; **tučně** zvýrazněné znaky byly v příslušné analýze vyřazeny.

Porovnávané taxony	Korelované znaky
<i>alt</i> × <i>sib</i> × <i>spi</i> × <i>ver</i>	v3/v4; v7/v23 ; v10/v21; v24/v27; v27/v28
<i>sib</i> × <i>spi</i> × <i>ver</i>	v3/v4; v4/v5 ; v7/v23 ; v24/v27; v27/v28 + v21
<i>sib</i> × <i>ver</i>	v4/v5 ; v7/v23; v24/v27; v27/v28
<i>alt</i> × <i>ver</i>	v10/v21; v24/v27; v27/v28
<i>alt</i> × <i>spi</i>	v7/v23; v10/v21; v24/v28 ; v24/v27; v25/v29; v27/v28
<i>sib</i> × <i>spi</i>	v3/v4; v4/v5 ; v6/v23; v7/v23; v27/v28 + v21
<i>sib6x</i> × <i>sib9x</i>	v4/v5; v5/v9 ; v6/v23; v7/v23; v22/v23; v24/v27; v27/v28
E- <i>spi</i> ×NA- <i>spi</i>	v4/v5 ; v7/v23; v27/v28
E- <i>sib</i> ×NA- <i>sib</i>	v4/v5; v5/v9 ; v6/v23; v7/v23; v22/v23; v24/v27; v27/v28
E- <i>spi</i> ×NA- <i>spi</i> × <i>sib</i>	v3/v4; v4/v5 ; v6/v23; v7/v23; v27/v28 + v21
E-6x×NA-6x	v4/v5; v6/v23; v7/v23; v24/v27; v27/v28
<i>spi</i> × <i>ver</i>	v3/v4; v4/v5 ; v7/v23; v24/v27; v25/v29; v27/v28
květenství: <i>sib</i> × <i>spi</i> × <i>ver</i>	v3/v4; v4/v5 ; v7/v23; v13/v30; v22/v23; v24/v27; v27/v28

