

Univerzita Palackého v Olomouci

Přírodovědecká fakulta

Katedra botaniky



**Hybridizace v rodu *Ornithogalum* L. (*Hyacinthaceae*)  
v Panonské nížině**

Bakalářská práce

Autor: **Barbora Píchalová**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Chemie pro víceoborové studium – Biologie

Forma studia: Prezenční

Vedoucí práce: **Doc. RNDr. Bohumil Trávníček, Ph.D.**

Konzultant práce: **Mgr. Michal Hroneš**

Olomouc

2015

## Bibliografická identifikace

<b>Jméno a příjmení autora:</b>	Barbora Píchalová
<b>Název práce:</b>	Hybridizace v rodu <i>Ornithogalum</i> L. ( <i>Hyacinthaceae</i> ) v Panonské nížině
<b>Typ práce:</b>	Bakalářská
<b>Pracoviště:</b>	Katedra botaniky, PřF UP, Šlechtitelů 27, Olomouc, 78371
<b>Vedoucí práce:</b>	Doc. RNDr. Bohumil Trávníček, Ph.D.
<b>Rok obhajoby:</b>	2015
<b>Abstrakt:</b>	Hybridizace u snědků je velmi vzácný fenomén, avšak výjimkou potvrzující pravidlo je křížení taxonů <i>Ornithogalum kochii</i> a <i>Ornithogalum boucheanum</i> za vzniku hybridu <i>Ornithogalum x wildtii</i> . Cílem této studie je za pomoci průtokové cytometrie a morfometrické analýzy stanovit cytotypovou variabilitu jednotlivých populací všech 3 taxonů a ověřit, zda je kříženec opravdu sterilní. U studovaných taxonů byly zaznamenány a změřeny jejich morfologické znaky a za pomoci průtokové cytometrie byla stanovena jejich ploidie. Studované populace <i>O. kochii</i> byly diploidní, <i>O. boucheanum</i> tetraploidní a populace hybridu triploidní. Studované populace křížence z ČR a Maďarska se liší velikostí genomu. Ze současných výsledků nelze zatím jednoznačně prohlásit, zdali je hybrid sterilní, nebo vytváří samostatné populace.
<b>Klíčová slova:</b>	<i>Ornithogalum kochii</i> , <i>Ornithogalum boucheanum</i> , <i>Ornithogalum x wildtii</i> , polyploidie, průtoková cytometrie, morfometrika, střední Evropa
<b>Počet stran:</b>	45
<b>Počet příloh:</b>	1
<b>Jazyk:</b>	čeština

## Bibliographical identification

<b>First name and surname:</b>	Barbora Píchalová
<b>Title:</b>	Crossbreeding of the genus <i>Ornithogalum</i> L. ( <i>Hyacinthaceae</i> ) in Pannonian lowland.
<b>Type of thesis:</b>	Bachelor
<b>Department:</b>	Department of Botany, Faculty of Science, Palacký University in Olomouc, Šlechtitelů 27, CZ-78371
<b>Supervisor:</b>	Doc. RNDr. Bohumil Trávníček, Ph.D.
<b>The year of presentation:</b>	2015
<b>Abstract:</b>	Unlike the other plant genera, in genus <i>Ornithogalum</i> is hybridization very rare phenomenon. One of the very few exceptions is hybrid <i>Ornithogalum</i> x <i>wildtii</i> , which rises from crossbreeding of <i>O. kochii</i> and <i>O. boucheanum</i> . To the aims of this thesis belong morphological analysis of the parental species and its hybrid, assessment of cytotype variability of the 3 taxa using flow-cytometry and verification of hybrid sterility. To answer these questions several morphological traits were measured. Populations of <i>O. kochii</i> were found to be diploid, <i>O. boucheanum</i> were tetraploid and populations of hybrid were triploid. However, studied populations of hybrid from the Czech Republic and Hungary differed by its genome size. Nevertheless, it is not possible to make unequivocal conclusion of the sterility of hybrid from the current data. This question will require further research.
<b>Keywords:</b>	<i>Ornithogalum kochii</i> , <i>Ornithogalum boucheanum</i> , <i>Ornithogalum</i> x <i>wildtii</i> , polyploidy, flow cytometry, morphometrics, Central Europe
<b>Number of pages:</b>	45
<b>Number of appendices:</b>	1
<b>Language:</b>	Czech

### **Čestné prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci na téma „Hybridizace v rodu *Ornithogalum* L. (*Hyacinthaceae*) v Panonské nížině“ vypracovala samostatně pod vedením Doc. RNDr. Bohumila Trávníčka, Ph.D. a veškerou literaturu a další použité prameny jsem uvedla.

V Olomouci dne:

Barbora Píchalová:

© Barbora Píchalová, 2015

# Obsah

<b>1. Úvod</b> .....	<b>1</b>
<b>2. Teoretická část</b> .....	<b>2</b>
<b>2.1. Čeleď <i>Hyacinthaceae</i> a rod <i>Ornithogalum</i></b> .....	<b>2</b>
2.1.1. Morfologie rodu <i>Ornithogalum</i> .....	2
2.1.2. Čeleď <i>Hyacinthaceae</i> a její taxonomické vztahy.....	2
<b>2.2. Charakteristika vybraných zástupců rodu <i>Ornithogalum</i></b> .....	<b>6</b>
2.2.1. <i>Ornithogalum kochii</i> Parl. – snědek Kochův; obr. 4; tab. 1.....	6
2.2.2. <i>Ornithogalum boucheanum</i> (Kunth) Ascherson – snědek hřebeníť; obr. 5;.....	8
2.2.3. Okruh <i>Ornithogalum wildtii</i> agg. Podpěra; obr. 6, 7; tab. 1.....	10
2.2.3.1. Taxonomie okruhu <i>O. wildtii</i> agg.....	13
<b>2.3 Hybridizace</b> .....	<b>15</b>
<b>3. Cíle práce</b> .....	<b>18</b>
<b>4. Materiál a metody</b> .....	<b>19</b>
4.1 Rostlinný materiál.....	19
4.2 Analýza pomocí průtokové cytometrie.....	19
4.3 Morfometrická analýza .....	20
4.4 Zpracování dat.....	20
<b>5. Výsledky</b> .....	<b>22</b>
5.1 Analýza ploidie průtokovou cytometrií.....	22
5.2 Morfologie.....	25
5.2.1 Výsledky statistických testů .....	27
<b>6 Diskuze</b> .....	<b>32</b>
6.1 Variabilita v populacích studovaných taxonů .....	32
6.2 Morfologické znaky hybrida .....	33
6.3 Cytologie v rodu <i>Ornithogalum</i> .....	33
6.4 Rozmnožování taxonu <i>O. x wildtii</i> .....	34
<b>7. Závěr</b> .....	<b>36</b>
<b>8 Přílohy</b> .....	<b>44</b>

## Seznam obrázků

<b>Obrázek č. 1:</b> Modifikovaný strom čeledi <i>Asparagaceae</i> s.l., který zhrnuje současné taxonomické přístupy v této skupině (upraveno podle Stevens 2012). .....	3
<b>Obrázek č. 2:</b> Fylogenetický strom hlavních skupin čeledi <i>Hyacinthaceae</i> modifikovaný podle Pfosser a Speta (1999). .....	4
<b>Obrázek č. 3:</b> Schématická mapa rozšíření čeledi <i>Hyacinthaceae</i> (zeleně: podčeleď <i>Oziroëoideae</i> , červeně: zbytek podčeledí) podle Stevens (2012). .....	4
<b>Obrázek č. 4:</b> <i>Ornithogalum kochii</i> Parl (Olomouc, ulice Velkomoravská): a) stvol s květy; b) pohled na otevřený květ; c) detail semeníku.....	7
<b>Obrázek č. 5:</b> <i>Ornithogalum boucheanum</i> (a. Kroměříž; b., c. Moravský Písek): a) stvol s květy; b) pohled na otevřený květ; c) detail odkvetlých květů s listeny .....	9
<b>Obrázek č. 6:</b> <i>Ornithogalum x wildtii</i> (Moravský Písek): a) cibule; b) stvol s květy; c) pohled na otevřený květ; c) detail odkvetlého květu s listeny.....	11
<b>Obrázek č. 7:</b> <i>Ornithogalum x wildtii</i> (Hroudá 1980).....	12
<b>Obrázek č. 8:</b> Vyznačení výskytu DNA ploidních úrovní u studovaných populací (fialově: diploidní populace <i>O. kochii</i> ; žlutě: triploidní populace okruhu <i>O. wildtii</i> agg.; zeleně: tetraploidní populace <i>O. boucheanum</i> ). .....	22
<b>Obrázek č. 9:</b> Výstup z průtokového cytometru. Hvězdička označuje standard a křížek G2 fázi. a) <i>O. kochii</i> (Nitra, Zoborská lesostep – SK); b) <i>O. boucheanum</i> (Moravský Písek – CZ); c) <i>O. x wildtii</i> (Moravský Písek – CZ); d) <i>O. degenianum</i> (Fót – HU). .....	23
<b>Obrázek č. 10:</b> Boxploty znázorňující varibilitu zjištěných hodnot délky vedlejší cibule pro oba studované taxony. Test je staticky průkazný ( $T = 5,3866$ ; $p < 0,001$ ). .....	28
<b>Obrázek č. 11:</b> Boxploty znázorňující varibilitu zjištěných hodnot délky lodyhy pro oba studované taxony. Test je signifikantní ( $T = 3,6395$ ; $p < 0,002$ ). .....	28
<b>Obrázek č. 12:</b> Boxploty znázorňující varibilitu zjištěných hodnot délky květní stopky pro oba studované taxony. Test je staticky průkazný ( $T = -7,9741$ ; $p < 0,001$ ). .....	29
<b>Obrázek č. 13:</b> Boxploty znázorňující varibilitu zjištěných hodnot délky vnějšího okvětí pro oba studované taxony. Test je signifikantní ( $T = -6,0923$ ; $p < 0,001$ ). .....	29
<b>Obrázek č. 14:</b> Boxploty znázorňující varibilitu zjištěných hodnot délky vnitřního okvětí pro oba studované taxony. Test je staticky průkazný ( $T = -4,2183$ ; $p < 0,001$ ). .....	30
<b>Obrázek č. 15:</b> Boxploty znázorňující varibilitu zjištěných hodnot šířky lemu pro oba studované taxony. Test je signifikantní ( $T = -3,0541$ ; $p < 0,003$ ). .....	30
<b>Obrázek č. 16:</b> Boxploty znázorňující varibilitu zjištěných hodnot šířky tyčinky na vrcholu pro oba studované taxony. Test je staticky průkazný ( $T = 3,9304$ ; $p < 0,001$ ). .....	31
<b>Obrázek č. 17:</b> Boxploty znázorňující varibilitu zjištěných hodnot semeníku pro oba studované taxony. Test není signifikantní ( $T = 0,1457$ ; $p < 0,885$ ). .....	31

## Seznam tabulek

<b>Tabulka č. 1:</b> Rozlišovací znaky taxonů podle Podpěry (1913) a Hroudy (1980, 2010)	13
<b>Tabulka č. 2:</b> Přehled měřených znaků pro morfometrickou analýzu.....	21
<b>Tabulka č. 3:</b> Získané hodnoty cytometrické analýzy.....	24
<b>Tabulka č. 4:</b> Porovnání morfologických znaků mezi taxony <i>O. boucheanum</i> a <i>O. x wildtii</i> .....	25
<b>Tabulka č. 5:</b> Porovnání kvantitativních znaků mezi taxony <i>O. boucheanum</i> a <i>O. x wildtii</i> .....	25
<b>Tabulka č. 6:</b> Porovnání kvantitativních znaků mezi taxony <i>O. boucheanum</i> a <i>O. x wildtii</i> .....	26
<b>Tabulka č. 7:</b> Hodnoty t-testů (T) a signifikance (p).....	27



### **Poděkování:**

Ráda bych zde poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce panu Doc. RNDr. Bohumilu Trávníčkovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a připomínky. Dále bych chtěla poděkovat Mgr. Michalu Hronešovi za jeho neustálou nasazenost, ochotu, trpělivost a zejména lidský přístup, bez něhož by tato práce nevznikla.

Velké díky patří mým rodičům, za jejich podporu a vytrvalost při mně stát v každé situaci. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat všem svým přátelům za jejich povzbuzování a nezměrnou obětavost mi pomáhat.

Děkuji Bohu.

## 1. Úvod

Snědky (*Ornithogalum* L.) jsou vytrvalé jednoděložné byliny z čeledi hyacintovité (*Hyacinthaceae* Agardh). Rod obsahuje asi 180 druhů vyskytujících se převážně v jižní Africe a ve Středozeří, odkud zasahuje až na Britské souostroví a do j. Skandinávie (Hrouda 2010). Obtížné rozlišení těchto taxonů pramení z jejich velké cytologické variability a morfologické podobnosti (Hrouda 1980).

Cibule a květy některých druhů jsou pro člověka a hospodářská zvířata jedovaté, protože obsahují alkaloidy (např. kolchicin) a srdeční glykosidy (Lampe & McCann 1985, Blackwell 1990, Spoerke & Smolinske 1990, Hrouda 2010). V České republice to platí pouze pro jarní druhy s cibulemi se srostlými šupinami, letní druhy jedovaté nejsou (Hrouda 2010).

Tato bakalářská práce se zabývá hybridním taxonem *Ornithogalum x wildtii* Krajina, který vznikl křížením snědku Kochova (*Ornithogalum kochii* Parl) a snědku hřebenitého (*Ornithogalum boucheanum* (Kunth) Ascherson). Navazuje na práce především J. Podpěry, J. Holub a hlavně L. Hroudy, který vše shrnul ve zpracování Květeny ČR (Hrouda 2010). Práce je zaměřena na oblast severozápadní části Panonské nížiny střední Evropy, zkoumané taxony rostou na území České republiky, Slovenska a Maďarska. Vedle rešerše literatury k danému tématu by moje práce měla za pomoci průtokové cytometrie a karyologických metod napomoci objasnit, jaké mají jednotlivé populace těchto taxonů počty chromozomů a zdali jsou hybridní jedinci opravdu sterilní, nebo se dokáží rozmnožovat, byť jen třeba vegetativně a vytvářet samostatné populace bez rodičů.

Chtěla bych práci navázat na předchozí výzkumy a přispět tak novými poznatky, které by pomohly k objasnění problematiky mezidruhového křížení u rodu *Ornithogalum*.

## 2. Teoretická část

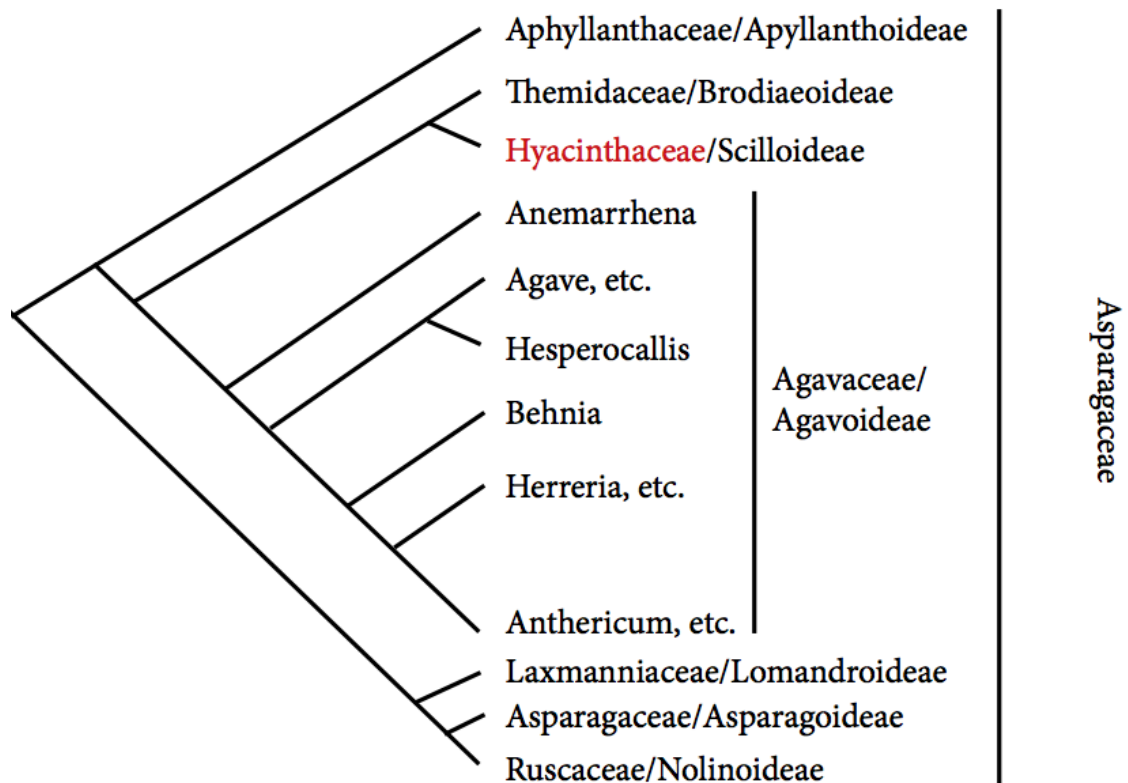
### 2.1. Čeleď *Hyacinthaceae* a rod *Ornithogalum*

#### 2.1.1. Morfologie rodu *Ornithogalum*

Snědky jsou rostliny s podzemními vejčitými cibulemi, které mají volné nebo srostlé šupiny, obnovující se každoročně nebo po 2-4 letech (Zahariadi 1980, Dostál 1989). Hlavně u druhů se srostlými šupinami dochází k vegetativnímu rozmnožování, podle literárních zdrojů se tvorba vedlejších cibulek vyskytuje u druhů s vyšší ploidií (Hrouda 1980). Listy vyrůstají na podzim nebo na jaře v přízemní růžici (Hrouda 2010), jsou čárkovité, lysé nebo pýřité, na líci většinou s bílým středovým pruhem. Stvolky jsou přímé a oblé (Dostál 1989). Květenství je hroznovitá, vzácněji chocholičnatá. Květní stopky jsou delší než blanité listeny. Okvětních lístků je 6, ve 2 kruzích (\* ♀ P 3+3), jsou volné nebo srostlé ve spodní části. Květy jsou bílé, nazelenalé nebo žluté, na rubu mají zelený středový pruh. Vnitřní lístky jsou užší, vnější o něco širší a delší. Tyčinek je 6, ve 2 kruzích (A 3+3), nitky jsou zploštělé, vnitřní a vnější lišící se tvarem (Dostál 1989, Hrouda 2010). Prašníky jsou v obrysu podlouhlé, vyrůstající na konci nitek, otočené směrem dovnitř ke středu květu (Domin & Podpěra 1928, Zahariadi 1980, Dostál 1989). Gyneceum je srostlé ze 3 plodolistů (G (3)). Semeník je svrchní, trojboký s 6 okrouhlými až křídlatými žebry. Všechna jeho pouzdra obsahují větší počet obrácených (anatropických) vajíček. Čnělka je nitkovitá nebo na bázi ztlustlá a blizna tupá. Tobolka je přibližně kulovitá, trojhranná nebo šestihranná. Křídlaté hrany jsou u tobolek více zvýrazněné než u semeníků. Semena jsou většinou černá, mohou být hranatá nebo oblá, často svrasklá. Na povrchu mají polygonální šestiboké alveoly (Hrouda 1980, Dostál 1989, Hrouda 2010).

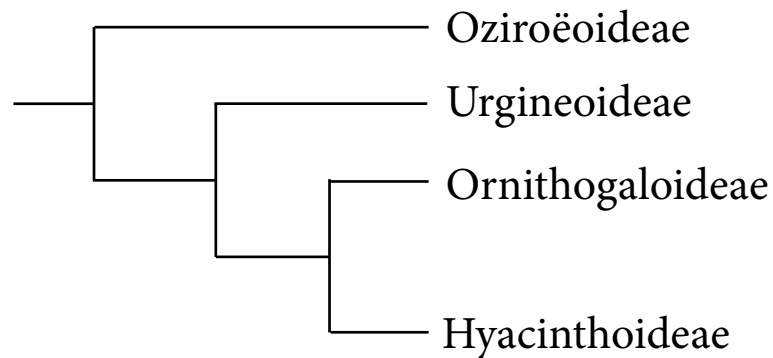
#### 2.1.2. Čeleď *Hyacinthaceae* a její taxonomické vztahy

Snědky patří do čeledi hyacintovité (*Hyacinthaceae*) a ta do řádu *Asparagales* Bromhead (Lynch & al. 2006). Do tohoto řádu se řadí i další důležité čeledi jako jsou *Agavaceae* Endl., *Alliaceae* Agardh, *Amaryllidaceae* St.-Hil., *Anthericaceae* Agardh, *Asparagaceae* Juss. (Chase & al. 1995, Fay & Chase 1996, Fay & al. 2000). V některých pojetích může být *Hyacinthaceae* považována pouze za podčeď *Scilloideae* Burnett, která je zahrnuta v čeledi *Asparagaceae* (obr. 1; Stevens 2012).



**Obrázek č. 1:** Modifikovaný strom čeledi *Asparagaceae* s.l., který zhrnuje současné taxonomické přístupy v této skupině (upraveno podle Stevens 2012).

Počet udávaných rodů v čeledi se podle různých autorů liší. Mulholland & al. (2013) uvádějí přibližně 70 rodů (900 druhů) a podle Hroudy (2010) se v čeledi vyskytuje asi 40 rodů (770 druhů), rozšířených hlavně v j. Africe, Mediteránu a Přední Asii (obr. 3; Hrouda 2010, Stevens 2012, Mulholland & al. 2013). Čeleď může být rozdělena do tří hlavních podčeledí: *Hyacinthoideae* Speta, *Urgineoideae* Speta, *Ornithogaloideae* Speta a na jednu menší podčeleď *Oziroëoideae* Speta (obr. 2; Speta 1998a,b, Pfosser & Speta 1999, Lynch & al. 2006, Mulholland & al. 2013). Na základě morfologických, karyologických, fytochemických a molekulárních dat zařadil do této čeledi Speta (1998a) i podčeleď *Chlorogaloideae* Speta, která byla posléze přearžena do čeledě *Agavaceae* (Fay & Chase 1996, Pfosser & Speta 1999).



**Obrázek č. 2:** Fylogenetický strom hlavních skupin čeledi *Hyacinthaceae* modifikovaný podle Pfosser & Speta (1999).



**Obrázek č. 3:** Schématická mapa rozšíření čeledi *Hyacinthaceae* (zeleně: podčeleď *Oziroëoideae*, červeně: zbytek podčeledí) podle Stevens (2012).

Zástupci čeledi preferují otevřená slunná stanoviště se suchými a horkými vegetačními obdobími. V mírném podnebí se objevují jako jarní geofyty v opadavých lesích. Ovšem pár druhů, např. *Rhadamanthus urgineoides* (Baker) Speta, roste jako epifyt na stromech v tropických deštných lesích na Madagaskaru (Pfosser & Speta 2001).

Ke zcela charakteristickým morfologickým znakům čeledi *Hyacinthaceae* patří pupínkovitost listů, slizovitý sekret a krystaly v listech. Papuly vystupující na povrchu listů jsou načervenalé nebo tmavě zelené. Slizovitý sekret je hojně přítomen v mezofilních buňkách v podobě slizovitých váčků, které obsahují krystaly (Lynch & al. 2006, Stevens 2012). U některých rodů se sliz vyskytuje ve velkých, axiálních,

prodloužených idioblastických buňkách. Nachází se zde volné skupiny raphido-styloidních krystalů. Dalším možným zdrojem sekretu může být velká rhexigenní dutina, která se vytvořila roztrhnutím velké centrální mezenchymatické buňky mezi cévními svazky. Tuto dutinu postrádá podčeleď *Oziroëoideae*, ale je naopak rozšířena především u podčeledi *Ornithogaloideae* (Lynch & al. 2006).

Byliny zahrnuté do čeledi *Hyacinthaceae* jsou dlouho využívány v tradiční medicíně a mají široké uplatnění. Tyto poznatky společně s náznaky otrav hospodářských zvířat vedly k tomu, aby bylo prozkoumáno chemické složení mnohých druhů. Pro každou podčeleď byly objeveny charakteristické chemické sloučeniny. Zástupci podčeledi *Hyacinthoideae* obsahují homoisoflavonoidy a spirocyklické nortriterpenoidy, *Urgineoideae* bufadienolidy a pro *Ornithogaloideae* jsou typické kardenolidy a steroidní glykosidy (Mulholland & al. 2013).

V j. Africe byla provedena studie určující vliv stopových prvků (Cu, Zn) a těžkých kovů (Cd, Pb, Hg) na klíčení a vývoj semenáčků vybraných zástupců čeledi *Hyacinthaceae* (*Bowiea volubilis* Harv. & Hook. f., *Eucomis autumnalis* (Mill.) Chitt. a *Merwillia natalensis* (Planch.) Speta). Tyto léčivé byliny patří k nejprodávanejším napříč celým územím, a proto se uvažovalo o jejich pěstování, aby se tak snížil tlak na přirozené populace (Street & al. 2007). Mezi nezbytné stopové prvky pro normální vývoj rostliny patří zinek (Zn) a měď (Cu), jež ve vyšších koncentracích začínají být toxické a můžou narušovat četné biologické procesy (Demirevska-Kepova & al. 2004, Vaillant & al. 2005). Kontaminace zemědělských půd těžkými kovy vzrůstá (Jaja & Odoemena 2004), což je v j. Africe zapříčiněno vysokou koncentrací těžebního průmyslu. Těžké kovy, běžně nacházené v zemědělských půdách, jako je kadmium (Cd), olovo (Pb) a rtuť (Hg) jsou známé svým negativním vlivem na růst rostlin (Patra & al. 2004, Dong & al. 2006). Klíčící semena a vyvíjející se semenáčky jsou daleko citlivější ke kovovým prvkům narozdíl od dospělých jedinců, protože jejich obranný mechanismus ještě není plně vyvinut (Liu & al. 2005). Podle výzkumu jsou všechna tři ontogenetická stadia stejně citlivá na zvyšující se koncentraci stopových prvků, avšak v případě těžkých kovů reagují různě. Negativní dopad na rostliny po jejich vyklíčení měly obě zastoupené skupiny kovů (Street & al. 2007). Maximální přípustná koncentrace kovů v zemědělských půdách j. Afriky je podle Water Research Commission (1997) příliš vysoká, aby zde nadále mohly růst tyto léčivé rostliny.

## 2.2. Charakteristika vybraných zástupců rodu *Ornithogalum*

### 2.2.1. *Ornithogalum kochii* Parl. – snědek Kochův; obr. 4; tab. 1

**Synonyma:** *Ornithogalum umbellatum* var. *sylvestre* Neill (Fl. Niederöster. 2:158, 1859), *O. gussonei* var. *typicum* Beck (Fl. Niederöster. 1:127, 1890), *O. tenuifolium* subsp. *kochii* (Parl.) A. et Gr. (Syn. Mitteleur. Fl. 3:244, 1905). U nás byl tento druh postupně označován jmény *O. tenuifolium* Guss., *O. gussonei* Ten., případně *O. ortophyllum* Ten. (Hrouda 2010).

**Popis:** Vytrvalá, lysá asi 10-30 cm vysoká bylina s podzemní vejčitou cibulí obvykle bez vedlejších cibulek nebo se jen velmi vzácně vytvářejí. Šupiny cibule jsou šedé až tmavohnědé (Dostál 1989, Hrouda 2010), navzájem srostlé, až na úzké skuliny, které ukazují, z kolika šupin se cibule skládá (Polívka 1902), svrchní šupina je občas téměř volná. Listy vyrůstají po 6-8 z jedné cibule, jsou úzce čárkovité, krátké, žlábkovité, naspodu s vyniklými žebry a po celé ploše zelené. Na svrchní straně jsou se zřetelným bílým proužkem, jenž podle Polívky (1902) pochází z jemného povlaku vosku, který vytváří tenkou ochrannou vrstvu před vysycháním a zároveň zde neulpívá déšť ani rosa, a proto se průduchy vyskytující v těchto místech nikdy neucpávají. Listeny jsou kratší než přímo odstálé květní stopky, kopinaté, na bázi květní stopku téměř zcela objímající, na vrcholu špičaté. Mají světle zelenou barvu se zřetelnou tmavší žilnatinou, při odkvětu se stávají průsvitnými a zasychají od vrcholu. Květenství tvoří chocholičnatý hrozen. Dolní květní stopky jsou delší než horní, šikmo vzhůru odstálé. Okvětní lístky jsou hvězdovité, bílé, se zeleným středovým proužkem na rubu. Vnitřní lístky jsou kratší, užší, na vrcholu tupé. Vnější lístky jsou delší, širší, na vrcholu špičaté. Tyčinky mají žluté prašníky na konci kopinatých nitek, směrem k vrcholu se zužujících. Semeník je svrchní, často trojboký, na průřezu s 6 okrouhlými až hranatými žebry, obvykle po 2 sblíženými. Čnělka je nitkovitá, kratší než semeník. Tobolka je výrazně šestižebná. Semena jsou kulovitá, černá, na povrchu mají šestiboké alveoly (Formánek 1887, Čelakovský 1897, Polívka 1902, Dostál 1950, Hrouda 1980, Zahariadi 1980, Randuška & al. 1986, Dostál 1989, Hrouda 2010).

**Proměnlivost:** Druh není příliš morfologicky proměnlivý, jeho variabilita se projevuje jen v některých znacích. Nejmenší zástupci mohou být stěží 7-10 cm vysokí, se 3-4 sotva 2 mm širokými listy a 3-6 květy na krátkých silných stopkách. Většinou

se jedná o subtilní stepní rostliny. Naopak největší zástupci, vyskytující se v příkopech nebo akátinách, dosahují výšky až 30 cm a více, mají 5-6 až 5 mm široké listy a 15 květů na dlouhých stopkách (Hrouda 1980).

**Karyologie:**  $2n = 2x = 18$ . Dále byly nalezeny také jedinci s aneuploidním počtem chromozomů  $2n = 19, 21$  (Hrouda 2010).

**Ekologie:** Geofyt, který si vybírá výhřevná, v letním období suchá stanoviště, zejména travnaté stráně, meze, pastviny, louky, lesní lemy, světlé křoviny, písčiny a trávníky na mírně zasolených půdách. Snáší antropogenní vlivy. Půdy, na kterých se vyskytuje jsou dobře zásobené živinami, neutrální až zásadité, suché, avšak na jaře často přeplovované, lehké písčité nebo až těžké jílovité. (Hrouda 1980, Dostál 1989, Hrouda 2010). Kvete od poloviny dubna do poloviny června. Druh je fytoecologicky nevyhraněný. (Randuška & al. 1986, Hrouda 2010).



**Obrázek č. 4:** *Ornithogalum kochii* Parl (Olomouc, ulice Velkomoravská): a) stvol s květy; b) pohled na otevřený květ; c) detail semeníku

**Rozšíření:** Vzhledem k taxonomické problematice není areál tohoto druhu zcela



jasný. Druh se s jistotou vyskytuje v s. Itálii, Panonské nížině, okolí Pasova v Bavorsku, kde proniká skrz Podunají. Přes Moravu se dostává do České kotliny. Znamé jsou lokality z Německa (okolí Halle) a j. Polska (okolí měst Opole a Kielce). Na jihu byl nalezen v s. Srbsku, Rumunsku a Bulharsku, avšak hranice je nejasná. V ČR druh hojně roste v nížinných a pahorkatinných polohách na j. a stf. Moravě, v sz. a stf. Čechách a v Polabí. Úplně chybí v z. Čechách, skoro v celé j. polovině Čech a také na Českomoravské vrchovině. Na s. Moravě a ve vyšších polohách východomoravských pahorkatin je velmi vzácný (Hrouda 2010).

**Hybridizace:** V rámci Evropy druh hybridizuje velmi vzácně. Z oblasti Panonie je u něj znám doposud jediný hybrid *Ornithogalum* x *wildtii*, který vznikl jeho zkřížením se snědkem hřebenitým (Hrouda 1980). Pozoruhodné je, že se tento kříženec vyskytuje mezi taxony, kteří patří do úplně jiných vývojových větví a podrodů (Hrouda 2010).

#### **2.2.2. *Ornithogalum boucheanum* (Kunth) Ascherson – snědek hřebenitý; obr. 5;**

**Synonyma:** *Myogalum boucheanum* Kunth (Enum. Pl. 4:348, 1843), *Ornithogalum chloranthum* Sauter in Koch (Taschenb. Deutschl. Fl. 508, 1844), *Ornithogalum nutans* var. *boucheanum* (Kunth) Baker (J. Linn. Soc. – Bot. 13:272, 1873), *Honorius boucheanus* (Kunth) Holub (Folia Geobot. Phytotax. 11:81, 1976).

**Popis:** Bylina vysoká 40-60 cm s podzemní široce vejcovitou cibulí, vytvářející vedlejší cibulky, které však někdy můžou chybět. Charakteristické jsou pro ně hnědé až šedohnědé blanité obaly cibule, jejíž šupiny jsou volné, tunikátní. Přízemní růžice je složená z 3-6 listů, které jsou široce čárkovité, dosahující vrcholu stvolu, nebo kratší, bez viditelných žebor, svěže žlutozelené až sivozelené, na svrchní straně s bílým středovým pruhem, v době květu často uvadlé a v horní části uschlé. Listeny jsou vždy delší než květní stopky, v době květu blanité, s výraznou zelenou žilnatinou. Květenství tvoří hustý válcovitý hrozen. Květní stopky jsou kratší než květy, za plodu se mírně prodlužují a ohýbají dolů. Okvětní lístky jsou jen koncovou částí rozestálé, téměř zvonkovitě otevřené, podlouhle kopinaté, se špičkou, která je vlnovitě zprohýbaná, na vnitřní straně bílé, na zevní šedozelené, po obou stranách s tmavozeleným pruhem. Poté co rostlina odkvete, dochází k přitisknutí lístků k tobolce. Tyčinky mají bílé prašníky. Nitky vnějších a vnitřních tyčinek se navzájem liší. Vnější nitky jsou široce čárkovité, na vrcholu se 2 zuby po stranách umístěnými, na vnitřní straně s lištou dosahující pod prašník, kde je zakončena zoubkem, který může občas chybět. Vnitřní

tyčinky jsou zřejmě 2x delší než vnější, na vrcholu mají po stranách 2 zuby, které se obloukovitě nebo rovně dovnitř zahýbají. Vnitřní strana je opatřena lištou, která je zakončena zoubkem pod prašníkem. Semeník je vejcovitý, většinou šestihranný, na příčném průřezu s 6 okrouhlými žebry. Čnělka je trojhranná, kratší než semeník, naspodu ztlustlá, na vrcholu rozšířená v trojlaločnou bliznu. Tobolka je vejcovitá s masitými stěnami, které ani během zralosti úplně nevysychají. Semena jsou kulovitá, hnědočerná, na povrchu mající 6boké alveoly (Formánek 1887, Čelakovský 1897, Polívka 1902, Domin & Podpěra 1928, Dostál 1950, Hrouda 1980, Zahariadi 1980, Randuška & al. 1986, Dostál 1989, Hrouda 2010).

**Proměnlivost:** Na našich stanovištích je proměnlivost druhu velmi malá. Uvedeny jsou jen nepatrné rozdíly v hustotě květenství mezi dílčími populacemi (Klokner 1974).



**Obrázek č. 5:** *Ornithogalum boucheanum* (a. Kroměříž; b., c. Moravský Písek): a) stvol s květy; b) pohled na otevřený květ; c) detail odkvetlých květů s listeny

**Karyologie:** Tetraploidní počet chromozomů  $2n = 4x = 28$  (Zahariadi 1980). Vzácně byl zjištěn také aneuploidní počet  $2n = 30$ . Má velmi různorodý karyotyp s několika

chromozomy s nápadnými satelity (Agapova 1977). Ze všech evropských druhů se u *O. boucheanum* vyskytují nejdelší chromozomy (v rámci *Ornithogalum s. l.*), které dosahují až 12 µm délky (Hrouda 1980).

**Ekologie:** Druh roste na poměrně vlhkých půdách, které v létě vysychají. Vybírá si světlé a lužní lesy, travnaté svahy, meze, příkopy komunikací, pole, zahrady a okraje vinic. Dává přednost písčitém až hlinitým půdám, které jsou humózní, bohaté na živiny, neutrální až zásadité. Kvete od dubna do května (Randuška & al. 1986, Dostál 1989, Hrouda 2010).

**Rozšíření:** Druh je rozptýlen v širším panonském Podunají od j. Moravy a Dolních Rakous po pobřeží Černého moře, včetně převážné části pontické oblasti Ukrajiny. Na jih je rozšířen do Makedonie a stř. Bulharska. K původnímu areálu jsou připisovány i izolované lokality v Korutanech, Tyrolsku a na hranici Švýcarska s Itálií. V rámci ČR je druh původní jen na j. Moravě, především v oblasti písků na Bzenecku, okolí Brna a vzácněji se nachází v dol. Podyjí. Naneštěstí zvláště v okolí Brna mnoho lokalit ubylo (Hrouda 2010).

### 2.2.3. Okruh *Ornithogalum wildtii* agg. Podpěra; obr. 6, 7; tab. 1

**Synonyma:** ×*Honogalum wildtii* (Podp.) Holub (Folia Geobot. Phytotax. 11:81, 1976), *Ornithogalum degenianum* Polgár (Magy. Bot. Lap. 27:19, 1928).

**Popis:** Rostlina 20-30 cm vysoká, s podzemní vejčitě kulovitou bělavou cibulí, vytvářející vedlejší cibulky v malém počtu podobně jako u taxonu *O. boucheanum*. Šupiny jsou volné, tunikátní. Přízemní listy jsou široce čárkovité, přímé, mělce žlábkovité nebo ploché, šedo zelené, na svrchní straně s úzkým bílým středovým proužkem, zesponu s nezřetelně vystouplým žebrem, za květu uvadlé a v horní části usychající. Listeny jsou kopinaté, většinou delší než květní stopky, někdy u dolních květů kratší. Květenství válcovitě až jehlanovitě hroznovitě. Květní stopky jsou přímé a tuhé, delší než květy, připomínající stopky u rodiče *O. kochii*, v době květu v ostrém úhlu 60-90° odstávající. Okvětní lístky jsou rozestálé, hvězdovitě otevřené, podlouhle kopinaté, rovné, nebo se špičkou, která je nazpět mírně zahnutá. Na svrchní straně stříbřitě bílé až zelenobílé s nenápadně prosvítajícím zeleným pruhem, na rubu s výrazným širokým tmavozeleným středovým pruhem. Tyčinky jsou opatřeny zakrnělými prašníky, které se neotvírají. Vnější a vnitřní nitky se vzájemně liší. Vnější nitky jsou úzce čárkovité,

na vrcholu bez po stranách umístěnými zuby. Vnitřní nitky jsou široce čárkovité, o něco delší než vnější, s jen naznačenými nebo velmi krátkými postranními zuby, uvnitř vždy bez zoubku pod prašníkem. Semeník je válcovitý, zaokrouhleně šestiboký, hrany má po dvou sblížené, takže vypadá jako trojhranný. Čnělka je trojboká, na vrcholu s výraznou trojlaločnou bliznou (Podpěra 1913, Hrouda 1980, Hrouda 2010). Netvoří plody ani semena, podle Hroudy (2010) je vždy sterilní.

**Proměnlivost:** Dle Hroudy (2010) roste hybrid jen na těch lokalitách, kde se jeho rodiče vyskytují společně. Z okolí Štúrova byl popsán případ, kdy se hybrid svými převážně krátkými květními stopkami podobal spíše rodiči *O. boucheanum*. Opačný případ, kdy by se více blížil rodiči *O. kochii*, zaznamenán nebyl (Hrouda 1980).



**Obrázek č. 6:** *Ornithogalum x wildtii* (Moravský Písek): a) cibule; b) stvol s květy; c) pohled na otevřený květ; d) detail odkvetlého květu s listeny

**Karyologie:** Triploidní počet  $2n = 3x = 23$  zcela vystihuje hybridní kombinaci,

jelikož je přesně polovinou mezi diploidním *O. kochii* ( $2n = 18$ ) a tetraploidním *O. boucheanum* ( $2n = 28$ ; Hrouda 1980).

**Ekologie:** Kříženec se vyskytuje především na provzdušněných, písčitých až hlinitých, živinami dobře zásobených půdách. Nejvíce jeho lokalit se nachází v akátinách a borech na píscích. Ojediněle byl nalezen na okrajích polí a v silničních příkopech (Hrouda 1980). Kvete počátkem května (Podpěra 1913).



**Obrázek č. 7:** *Ornithogalum x wildtii* (Hrouda 1980)

**Rozšíření:** Taxon roste v Panonské nížině stř. Evropy. Mimo naše území je doposud znám z Maďarska (okolí Veszprému), j. Slovenska (okolí Štúrova), jv. Slovenska (okolí Stredy nad Bodrogom; Hrouda 2010). V ČR se vyskytuje na j. Moravě v oblasti Bzeneckých Písků mezi Mistřínem, Kyjovem a Moravským Pískem (Hrouda 1980, Hrouda 2010).

### 2.2.3.1. Taxonomie okruhu *O. wildtii* agg.

Populace tohoto taxonu byly známy již na začátku 20. století z okolí Vlkoše u Kyjova a nejprve byly označeny za *Ornithogalum bungei* (Wildt 1905). Posléze však Podpěra (1913) objevil u Vracova na Bzenecku další populace a popsal je jako nový hybrid *O. x wildtii* (obr. 7; Hrouda 1980). Zároveň Polgár (1928) v Maďarsku našel morfologicky podobné rostliny a popsal je jako nový druh *O. degenianum*. Hrouda (1980) při své revizi snědků v ČSR považoval *O. degenianum* za identické s *O. x wildtii*. Maďarští botanici však i v současné době *O. degenianum* rozlišují a považují za samostatný taxon (Király & al. 2011).

	Znak	<i>O. kochii</i>	<i>O. boucheanum</i>	<i>O. x wildtii</i>
Cibule	počet generací	1	2–3	?
	tvar	vejcovitá	šir. vejcovitá	vejcovitě kulovitá
	šupiny	srostlé	volné tunikátní	volné tunikátní
Listy	vrchol	tupý až zašpičatělý	tupý až zašpičatělý	tupý až zašpičatělý
	okraj	prosvítavý nebo zelený	prosvítavý	prosvítavý
	spodní plocha	vyniklé žebra	bez žeber	málo vystouplé žebra
	svrchu uprostřed	bílý pruh	bílý pruh	bílý pruh
	doba vyrůstání nad zem	podzim	jaro	jaro ?

**Tabulka č. 1:** Rozlišovací znaky diskutovaných taxonů podle Podpěry (1913) a Hroudy (1980, 2010)

Květenství	typ	chocholík (až hrozen)	válcovitý hrozen	jehlanovitý hrozen
	plodní stopky	delší než tobolky, vzhůru až nazpět odstálé, někdy ztlustlé na bázi	± kratší než tobolky obloukovitě dolů sehnuté	květní stopky delší než květy, za květu mírně šikmo odstálé pod úhlem 60— 90°
Květy a plody	okvětní lístky	hvězdovitě rozložené	zvonkovitě skloněné	zvonkovitě skloněné
	tvár okraje	rovný	vlnitý	rovný
	pruh na rubu	zelený	tmavozelený	tmavozelený
	nitky tyčinek na vrcholu	kopinaté	se 2 postranními zuby	se 2 postranními zuby nebo jejich náznakem
	čnělka	nitkovitá	naspodu ztlustlá	trojhranná
	semeník a tobolka na průřezu	s 6 okrouh- lými až hranatými žebry	s 6 okrouhlými žebry	s 6 okrouh- lými žebry
Semena	tvár	kulovitá	kulovitá	netvoří se
	buňky epidermis	tlustostěnné stěny	tlustostěnné stěny	
	barva	černá	hnědočerná	
Klíčení		nadzemní	nadzemní	-

Tabulka č. 1: pokračování

## 2.3 Hybridizace

Podle Hroudy (2010) se u evropských snědků vytvářejí kříženci jen zcela vzácně. Mezi polyploidními taxony patřícími do okruhů *O. umbellatum* a *O. nutans* existují genetické bariéry, které zabraňují jejich vzniku. Velmi pozoruhodný je výskyt hybrida z těchto okruhů v panonské oblasti, ačkoliv jeho rodičovské druhy náleží k naprosto jiným vývojovým větvím. Briggs & Walters (2001) uvádějí jako jednu z příčin mezidruhového křížení lidskou činnost, v důsledku které dochází k částečnému zhroucení přirozených ekologických izolačních mechanismů. Nepůvodní taxon s člověkem proniká do nového prostředí, kde se přirozeně vyskytuje jiný druh, který je mu příbuzný. Dochází ke vzájemnému překrytí areálů, kde je zavlečený druh favorizován změnou vegetace na úkor druhu původního. Pokud jsou oba příbuzné druhy v izolaci dlouho, mohly se změnit natolik, že je u nich hybridizace velmi vzácná v důsledku vnitřních genetických izolačních mechanismů. Pokud se přesto pokříží, obvykle to vede ke vzniku neplodného potomstva (Lowry & al. 2008, Soltis & Soltis 2009).

Termín hybrid může být omezen na organismus vytvořený mezidruhovým křížením, nebo lze tento pojem definovat z širšího pohledu jako potomstvo vzniklé z jedinců dané populace, kteří jsou mezi sebou rozeznatelní na základě jednoho či více dědičných znaků (Harrison 1990). Skutečnost, že se z hybridů nakonec může stát druh, zaznamenal poprvé Herbert (Herbert 1847). Naudin (1863), který se zabýval hybridními znaky, rozeznal možnost jejich fixace v pozdějších generacích, což by utváření druhů značně ulehčilo. Vysvětlovalo by to jejich stabilizaci. Podezření, že určité skupiny rostlin podléhají hybridizaci snadněji než jiné, měl Stebbins (1959). Hybridizace se objevuje často především mezi kulturními plodinami s jejich planými předky a také u invazivních druhů (Ellstrand & Schierenbeck 2000).

Mezidruhové křížení většinou vede ke vzniku sterilních potomků, protože genomy dvou křížících se druhů jsou natolik rozdílné, že v důsledku této odlišnosti nedochází během meiózy k řádnému spárování chromozomů. Pokud je neplodná rostlina triploidní, dochází k párování chromozomů jednoho rodičovského genomu, avšak chromozomy druhého genomu nejsou schopny najít své odpovídající protějšky. Meióza je nepravidelná a vede ke sterilitě křížence (Yakimowski & Rieseberg 2014). Obranou proti sterilitě způsobené nepravidelným párováním chromozomů může být polyploidizace následovaná



přestavbami chromozomů (Soltis & Soltis 2009), která u hybrida zhomogenizuje rodičovské genomy a výrazně tak zlepší párování chromozomů.

Kromě sterility dochází u kříženců i ke vzniku dalších bariér. Mezi ně patří například neschopnost přivábit opylovače, chromozomální bariéry (genová inkompatibilita) či nepřizpůsobivost rodičovskému prostředí (Reiseberg 1997). V případě neexistence přechodného biotopu, jehož podmínky by byly shodné aspoň napůl s biotopy rodičů, by křížence vytlačoval jeden z rodičovských druhů s více životaschopnými potomky. Pokud by přechodný biotop existoval, byly by hybridní populace „evolučně zdatnější“ a tudíž by se jejich příští generace projevily větším počtem potomků (Briggs & Walters 2001). Pro založení vlastní životaschopné populace, kde by se hybrid mohl vyskytovat hojně, je zapotřebí, aby biotop nebyl obsazený rodiči (Kerner 1902). Takovéto hybridní zóny zahrnující přenesené adaptace jsou výsledkem nedostatku otevřených stanovišť pro křížence (Buerkle & al. 2003). V porovnání s tím homoploidní hybridi postrádají jakoukoliv hybridní zónu.

Jaký je mechanismus, jenž by dal vzniknout novým fertilním a neměnným liniím hybridů a nastartoval by jejich reprodukční osamocení od rodičů? První se k tomu vyjádřil Winge (1917) s předpokladem, že fertilní a stabilní hybridní druhy mohou být odvozeny okamžitou duplikací chromozomové sady. Nová hybridní populace by mohla být fertilní, ustálená a stejné ploidní úrovně jako ta rodičovská, ovšem už od ní částečně reprodukčně oddělená (Müntzing 1930). Zdvojení genomu poskytuje přesnou kopii každého chromozomu křížence. Tento proces tedy způsobuje obnovení schopnosti párování a fertilitu u chromozomálně různých hybridů. Nicméně genomová duplikace nemá vliv na genovou inkompatibilitu (Dobzhansky 1933, Stebbins 1958). V poslední době se ukazuje, že právě chromozomová struktura a genová inkompatibilita je zásadním mechanismem u rostlin, protože zapříčiňuje sterilitu kříženců (Coyne & Orr 2004, Rieseberg & Blackman 2010).

Genetickou izolaci allopolyploidů ve své studii řešili Jones & Borrill (1961) na hojně rozšířených druzích rodu *Dactylis*. Zkřížili tetraploidní srhu laločnatou (*Dactylis glomerata*) s diploidním taxonem srhou hajní (*D. polygama*), vznikli triploidní hybridi, kteří měli částečně sterilní samčí, ale částečně plodné samičí gamety. Zpětné křížení bylo úspěšnější s jedincem rodičovského druhu tetraploidního než diploidního, tj. s *D. glomerata*. Samičí gamety hybrida měly počet chromozomů proměnlivý

(od  $n = 7$  do  $n = 23$ ). Snadné bylo oplodnit pylem z tetraploidních rostlin samičí gamety hybrida s  $n = 14$ . Vznikali zpětní tetraploidní hybridi podobní svou plodností planě rostoucím jedincům *D. glomerata*.

Mnoho hybridních druhů do této chvíle ještě nebylo objeveno. Hybridi jsou rozšířeni asi v 40% čeledích a v 16% rodů (Ellstrand & al. 1996, Whitney & al. 2010). Navíc se zdá, že některé skupiny mají větší potenciál k hybridizaci než jiné (Yakimowski & Rieseberg 2014). Rychlejší a dokonalejší studium hybridizace a hybridogenního vzniku nových druhů umožňují zejména novodobé molekulární metody, které dokážou odhadnout četnost výskytu hybridizace v dnešní době, ale i v minulosti (Durand & al. 2011, Lai & al. 2012).

### 3. Cíle práce

Bakalářská práce je především zaměřena na taxonomický okruh *Ornithogalum wildtii* agg. v Panonské nížině. Jedná se o pilotní výzkum a na tuto práci bude navazovat práce diplomová.

- (1) Zhotovení literární rešerše problematiky mezidruhové hybridizace a vzniku hybridogenních taxonů u rostlin?
- (2) Excerpce morfologických znaků obou rodičovských druhů a jejich křížence.
- (3) Studium morfologické variability na vybraných populacích z ČR a Maďarska a jejich případné porovnání s údaji získanými v literatuře.
- (4) Optimalizace použití metody průtokové cytometrie ke studiu cytotypové variability u rodu snědek. Po případné úspěšné optimalizaci bude následovat studium cytotypové variability na vybraných lokalitách.

## 4. Materiál a metody

### 4.1 Rostlinný materiál

Sběr vzorků pro analýzu průtokové cytometrie probíhal v letech 2013 až 2015. Pro morfometrickou analýzu se sběr dat uskutečnil pouze v roce 2015. Celkem bylo analyzováno 14 populací zahrnující všechny taxony z území České republiky, Slovenska a Maďarska a u všech vzorků byla zjištěna jejich ploidie. Morfometrická analýza byla provedena pouze u 2 populací (MOR a PIL) v důsledku nepříznivého jarního období v roce 2015.

Pro účely analýzy průtokové cytometrie byly vzorky sebrány z terénu a přesazeny do skleníku PřF UPOL. Při sběru jim byla přiřazena trojmístná písemná zkratka s číslem, označujícím lokalitu a pořadí sebraného jedince. Seznam studovaných lokalit se nachází v Příloze 1. U jedinců z populací z MOR11-25 a PIL1-3 pro stanovení DNA-ploidní úrovně odebrány kořínky přímo v terénu a zároveň u nich bylo proměřeno (v závislosti na velikosti populace) 1-13 kvetoucích stvolů v rámci morfometrické analýzy.

### 4.2 Analýza pomocí průtokové cytometrie

Pro optimalizaci metody průtokové cytometrie (FCM) byly použity pufrы LB01 a OTO (Doležel & al. 2007) a odskoušeno bylo několik rostlinných pletiv (list, okvěti, květní stopka a kořen).

Pro stanovení DNA-ploidního stupně (Suda & al. 2006) daného jedince byl odebrán vzorek kořenů z každé zkoumané rostliny. Získané kořínky z terénu byly vloženy do destilované vody v reagenčních nádobkách Eppendorf 1,5 ml s víčkem, které byly uchovány v chladničce do doby měření. Vzorky z kultivace ve skleníku PřF UPOL byly umístěny do malých zkumavek s destilovanou vodou a okamžitě změřeny.

Vlastní měření probíhalo dle protokolu Doležel & al. 2007.

- 1) Do Petriho misky byl přenesen asi 1 cm kořínek, z kterého byla odstraněna kořenová špička.
- 2) Vzorek byl nasekán ostrou žiletkou společně se zhruba stejně velkým kouskem standardu, po přelití 1 ml pufru LB01 obsahující PVP (polyvinylpyrrolidon).
- 3) Jako standard bylo použito buď *Secale cereale* „Daňkovské“ (2C = 16,19 pg) nebo *Vicia faba* „Inovec“ (2C = 26,90 pg).

- 4) Vytvořený homogenát byl za pomoci pipety a nylonového filtru přefiltrován do 1,5 ml ependorfky.
- 5) Následně bylo přidáno 50  $\mu$ l fluorochromu PI (propidiumjodid), celá směs byla důsledně promíchána a ponechána několik minut barvit ve tmě.
- 6) Posléze byl vzorek analyzován v průtokovém cytometru Accuri C6 vybaveném laserem BD Accuri™ C6 Blue Laser (488 nm, 20 mW; BD Biosciences, San Jose).
- 7) U každého vzorku bylo naměřeno 3000 jader. Z lineární stupnice grafického výstupu byl získán poměr vzdáleností mezi G1 vrcholem standardu a vzorku, ze kterého byl určen ploidní stupeň.

### **4.3 Morfometrická analýza**

Hodnoty morfologických znaků byly získány měřením vegetativních a generativních částí rostlin přímo v terénu. Měření se uskutečnilo za pomoci digitálního posuvného měřítka a svinovacího metru. Zjištěné údaje byly zaznamenány do předem připravených tabulek. Pro morfometrickou analýzu byly téměř vždy vybrány stvolý s 4 a více květy. Na každém jedinci byla provedena vždy 4 měření vybraných znaků. Celkem bylo hodnoceno 25 morfologických znaků (tabulka č. 2).

### **4.4 Zpracování dat**

Hodnoty znaků zjištěných morfometrickou analýzou byly přepsány do programu MS Excel. Posléze u nich byly vypočteny statistické veličiny (aritmetický průměr, směrodatná odchylka, minimum a maximum). Morfologické rozdíly mezi jednotlivými taxony byly testovány pomocí dvouvýběrového t-testu v programu NCSS 9 (Hintze 2013) a grafické zobrazení v podobě boxplotů tzv. krabicových diagramů bylo připraveno v programu MS Excel.

Znak	Kategorie/jednotky
Délka cibule	mm
Šířka cibule	mm
Šupiny	srostlé, volné
Vedlejší cibule	počet
Listy vedlejší cibule	počet
Délka vedlejší cibule	mm
Šířka vedlejší cibule	mm
Počet listů	počet
Délka listu	cm
Šířka listu	mm
Poměr listů ke květenství	převyšují květenství nepřevyšují
Délka stvolu	cm
Tvar květenství	chocholík, hrozen
Počet květů	počet
Délka květní stopky	mm
Délka listenu	mm
Délka lístků vnějšího kruhu okvěti	mm
Šířka lístků vnějšího kruhu okvěti	mm
Délka lístků vnitřního kruhu okvěti	mm
Šířka lístků vnitřního kruhu okvěti	mm
Šířka lemu	mm
Délka tyčinky	mm
Šířka tyčinky na bázi	mm
Šířka tyčinky na vrcholu	mm
Velikost semeníku	mm

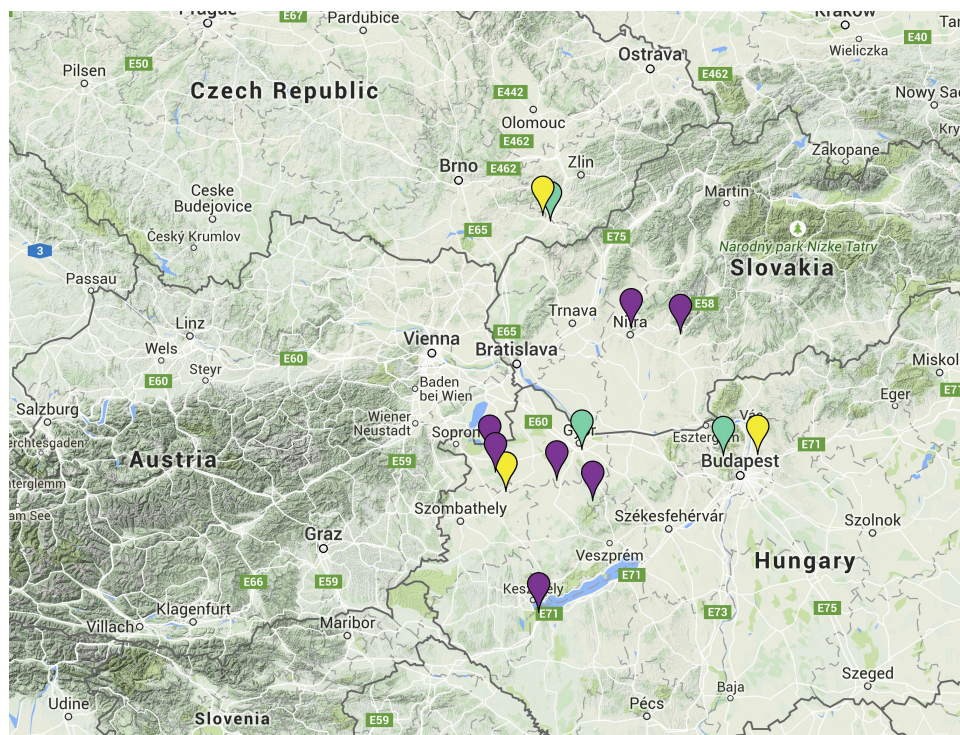
**Tabulka č. 2:** Přehled měřených znaků pro morfometrickou analýzu

## 5. Výsledky

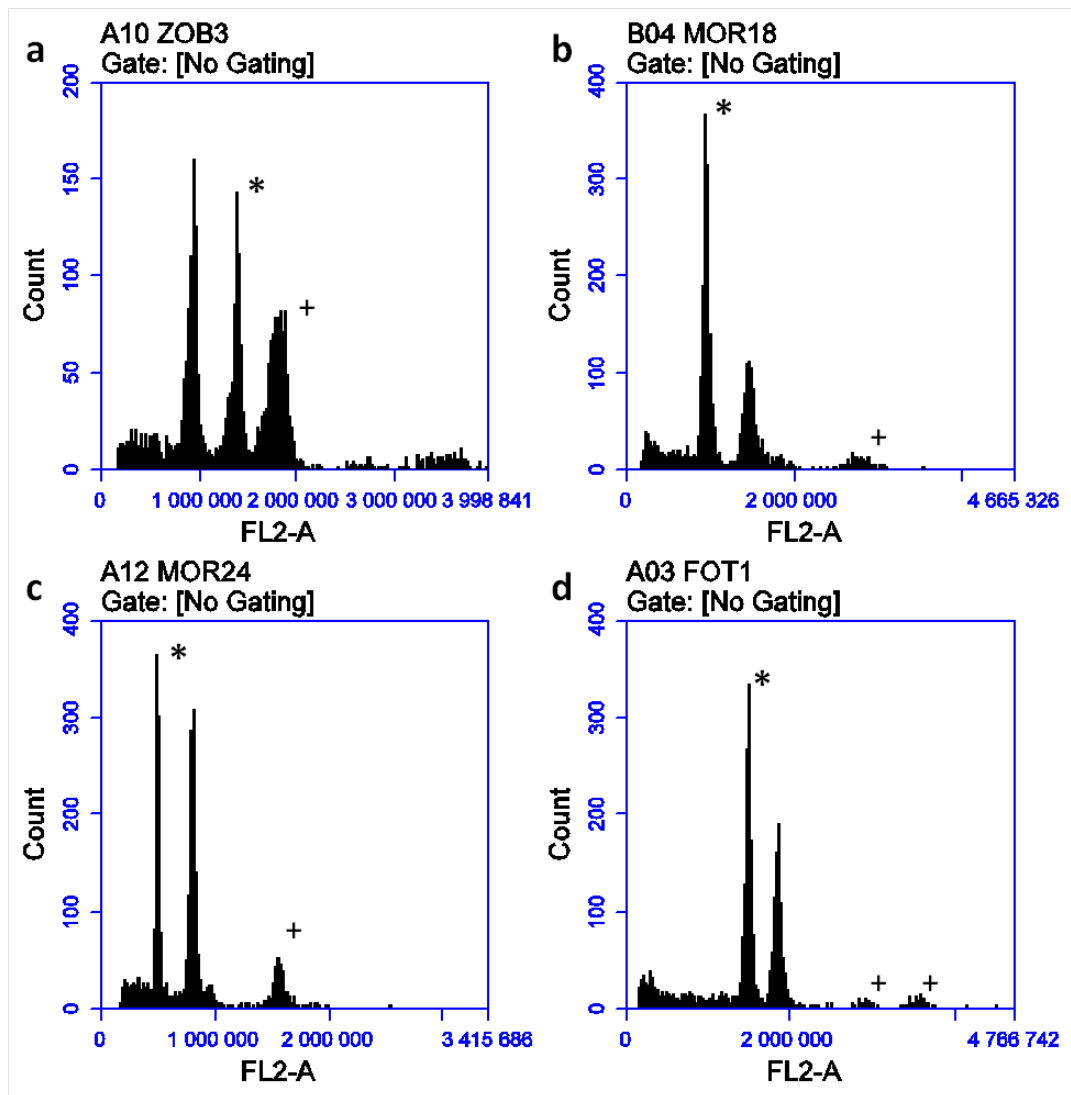
### 5.1 Analýza ploidie průtokovou cytometrií

Jako nejlepší postup pro cytometrické studium rodu snědek se ukázalo být použití pufru LB01 a příprava vzorků z kořenů.

Za pomoci metody průtokové cytometrie bylo zanalyzováno celkem 14 populací (obr. 8). U všech populací *O. kochii* byla zjištěna DNA-diploidní úroveň, která odpovídá v literatuře udávanému počtu chromozomů  $2n = 2x = 18$  (Hrouda 2010). Analyzované rostliny řazené k *O. boucheanum* vykazují DNA-tetraploidní úroveň (odpovídající  $2n = 4x = 28$ ; Zahariadi 1980). Populace okruhu *O. wildtii* agg. mají zřejmě všechny DNA-triploidní úroveň, ale podle zjištěných výsledků průtokové cytometrie se česká *O. x wildtii* liší od maďarských populací označovaných jako *O. degenianum* průměrnou relativní fluorescencí/hodnotou 2C. Měřená česká populace měla  $2C = 27$  pg, zatímco u obou maďarských populací bylo zjištěno  $2C = 34$  pg. Výsledky cytometrické analýzy jsou shrnuty v tabulce č. 3 a příklady z výstupu piků zobrazeny na obr. 9. Výskyt DNA-ploidních stupňů je vyznačen na obr. 8.



**Obrázek č. 8:** Vyznačení výskytu DNA ploidních úrovní u studovaných populací (fialově: diploidní populace *O. kochii*; žlutě: triploidní populace okruhu *O. wildtii* agg.; zeleně: tetraploidní populace *O. boucheanum*).



**Obrázek č. 9:** Výstup z průtokového cytometru. Hvězdička označuje standard a křížek G2 fázi.  
 a) *O. kochii* (Nitra, Zoborská lesostep – SK); b) *O. boucheanum* (Moravský Písek – CZ); c) *O. x wildtii* (Moravský Písek – CZ); d) *O. degenianum* (Fót – HU).



Označení lokality	Taxon	DNA-ploidní stupeň	Průměrná 2C	Počet jedinců	Standard	Průměrná relativní fluorescence	Směrodatná odchylka
GSE1-5	<i>O. kochii</i>	2	17,21	5	vicia	0,64	0,01
CSA1-2	<i>O. kochii</i>	2	16,99	2	vicia	0,63	0,00
FER1-3	<i>O. kochii</i>	2	17,43	3	vicia	0,65	0,01
KOZ1-3	<i>O. kochii</i>	2	16,62	3	vicia	0,62	0,02
BSG 1-5	<i>O. kochii</i>	2	17,52	5	vicia	0,65	0,01
NIC1	<i>O. kochii</i>	2	18,21	1	vicia	0,68	–
CSII	<i>O. kochii</i>	2	17,05	1	vicia	0,63	–
Fenyöfö	<i>O. kochii</i>	2	18,40	1	vicia	0,68	–
ZOB1-3; ZOB6-9	<i>O. kochii</i>	2	18,07	7	vicia	0,67	0,01
LES1	<i>O. boucheanum</i>	4	41,70	1	vicia	1,55	–
MOR4; MOR7-9; MOR18	<i>O. boucheanum</i>	4	40,24	5	vicia	1,50	0,04
PIL1-3	<i>O. boucheanum</i>	4	37,47	3	vicia	2,31	0,09
MOR1-3; MOR5-6; MOR11-17; MOR19-25	<i>O. x wildtii</i>	3	27,34	19	secale	1,69	0,05
FOT1-2	<i>O. x wildtii</i>	3	33,90	2	vicia	1,26	0,02
NIC2	<i>O. x wildtii</i>	3	34,31	1	secale	2,12	–

Tabulka č. 3: Získané hodnoty cytometrické analýzy

## 5.2 Morfologie

Morfometrická analýza byla realizována u 3 populací na 2 lokalitách. České populace *O. boucheanum* (MOR18) a *O. x wildtii* (MOR11-17, MOR19-25) byly naměřeny v Moravském Písku a maďarské populace v Pilisszentivánu (PIL1-3). Z počtu 18 analyzovaných rostlin mělo celkem 100% jedinců srostlé šupiny, 50% vedlejší cibule, 33% listy vedlejších cibulí, 33% list převyšující květenství, 56% tvar květenství hrozen a zbývajících 44% chocholík. Počet listů u měřených jedinců byl minimálně 3 a maximálně 8. Nejmenší počet květů činil 3 a nejvíce 18 (tab. 5). Procentuální srovnání některých získaných parametrů u taxonu *O. boucheanum* a *O. x wildtii* je v tabulce č. 4. Taxon *O. kochii* bohužel nebyl hodnocen v důsledku nepříznivé jarní sezóny 2015, protože se nepodařilo nalézt vhodně vyvinuté rostliny.

Znak	Procentuální podíl jedinců s daným znakov	
	<i>O. boucheanum</i>	<i>O. x wildtii</i>
Šupiny srostlé	100%	100%
Přítomnost vedlejší cibule/cibulí	75%	43%
Přítomnost listů vedlejší cibule	75%	21%
List přerůstající květenství	75%	21%
Tvar květenství hrozen/chocholík	25%/75%	64%/36%

Tabulka č. 4: Porovnání morfologických znaků mezi taxony *O. boucheanum* a *O. x wildtii*.

Znak	Taxon			
	<i>O. boucheanum</i>		<i>O. x wildtii</i>	
	min–max	median	min–max	median
Počet listů	3–5	4	3–8	5
Počet květů	3–15	4	3–18	10

Tabulka č. 5: Porovnání kvantitativních znaků mezi taxony *O. boucheanum* a *O. x wildtii*.

Pro naměřené hodnoty kvantitativních znaků byly v programu MS Excel vypočteny statistické veličiny aritmetický průměr, směrodatná odchylka, minimum a maximum (tabulka č. 6).

Znak	Taxon							
	<i>O. boucheanum</i>				<i>O. x wildtii</i>			
	$\mu$	SD	min.	max.	$\mu$	SD	min.	max.
Délka cibule (mm)	23,8	5,1	20,6	31,3	27,2	5,6	15,7	37,1
Šířka cibule (mm)	19,4	4,0	15,9	25,0	15,7	4,6	9,0	26,6
Délka vedlejší cibule (mm)	6,1	0,9	5,3	7,1	20,0	4,3	13,6	26,6
Šířka vedlejší cibule (mm)	5,3	0,9	4,4	6,3	10,8	5,6	6,6	21,7
Délka listu (cm)	30,1	4,9	23,3	35,0	37,3	9,8	21,0	56,0
Šířka listu (mm)	7,6	7,5	2,6	18,6	7,2	2,9	0,8	11,4
Délka stvolu (cm)	19,7	7,4	14,2	30,5	38,1	9,3	25,0	54,0
Délka květní stopky (mm)	34,9	16,8	7,5	53,9	17,0	4,5	1,8	26,8
Délka listenu (mm)	20,9	5,8	14,5	32,5	19,3	5,3	10,7	36,9
Délka vnějšího okvěti (mm)	22,0	1,9	17,8	24,2	17,4	2,9	9,8	25,3
Šířka vnějšího okvěti (mm)	5,3	0,7	3,8	6,6	4,6	1,8	2,4	15,9
Délka vnitřního okvěti (mm)	20,2	2,9	14,8	24,2	16,9	2,7	8,9	24,3
Šířka vnitřního okvěti (mm)	4,4	1,0	2,6	6,2	4,5	1,0	1,8	7,2
Šířka lemu (mm)	1,8	0,4	1,1	2,4	1,3	0,6	0,3	4,3
Délka tyčinky (mm)	10,2	3,2	6,6	17,0	8,9	1,5	5,5	14,3
Šířka tyčinky na bázi (mm)	2,0	0,6	1,4	3,3	1,9	0,4	1,0	2,8
Šířka tyčinky na vrcholu (mm)	1,0	0,6	0,4	2,3	1,7	0,8	0,4	3,3
Velikost semeníku (mm)	3,2	0,5	2,0	4,0	3,3	1,0	1,8	7,0

**Tabulka č. 6:** Porovnání kvantitativních znaků mezi taxony *O. boucheanum* a *O. x wildtii*. Vypočtené veličiny: aritmetický průměr, směrodatná odchylka, minimum a maximum.

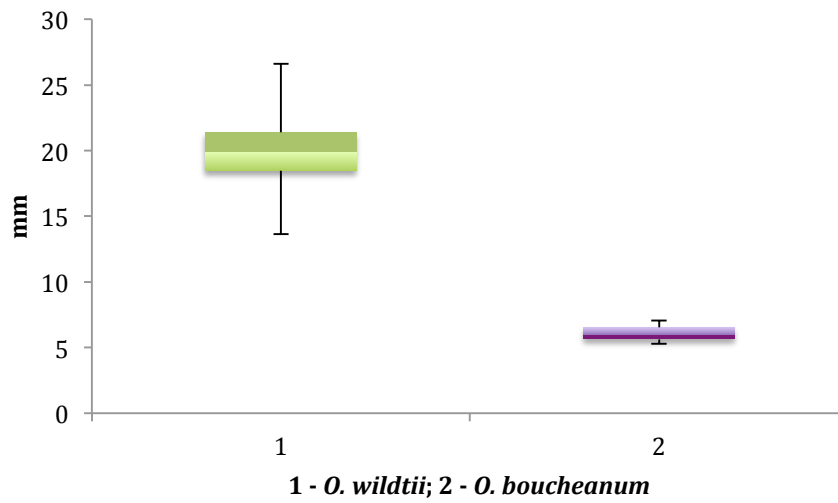
### 5.2.1 Výsledky statistických testů

Znak	T	p
Délka cibule (mm)	1,0864	0,293
Šířka cibule (mm)	-1,4497	0,166
Délka vedlejší cibule (mm)	5,3866	0,001
Šířka vedlejší cibule (mm)	1,6409	0,145
Počet listů (mm)	1,7304	0,103
Délka listu (mm)	1,4057	0,179
Šířka listu (mm)	-0,1677	0,869
Délka stvolu (cm)	3,6395	0,002
Počet květů (mm)	1,3924	0,183
Délka květní stopky (mm)	-7,9741	0,000
Délka listenu (mm)	-1,2588	0,212
Délka vnějšího okvětí (mm)	-6,0923	0,000
Šířka vnějšího okvětí (mm)	-1,3641	0,177
Délka vnitřního okvětí (mm)	-4,2183	0,000
Šířka vnitřního okvětí (mm)	0,1702	0,865
Šířka bílého lemu (mm)	-3,0541	0,003
Délka tyčinky (mm)	-1,924	0,058
Šířka tyčinky na bázi (mm)	-0,5928	0,555
Šířka tyčinky na vrcholu (mm)	3,9304	0,000
Semeník (mm)	0,1457	0,885

**Tabulka č. 7:** Hodnoty t-testů (T) a signifikance (p).

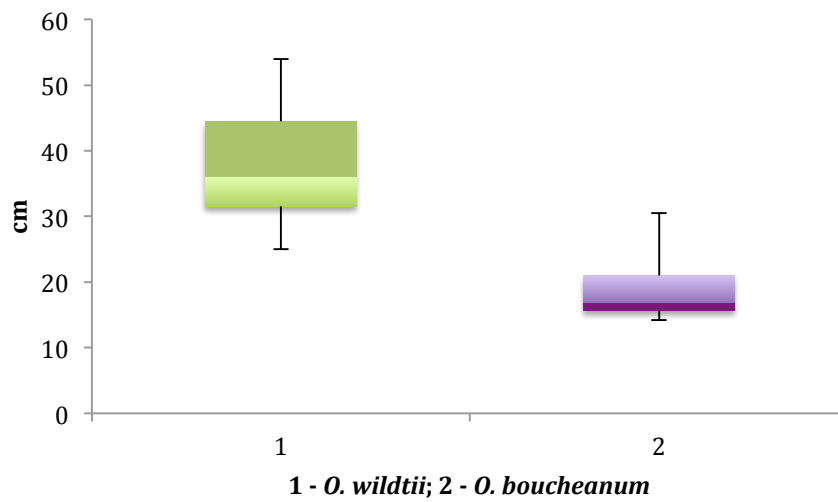
Dvouvýběrovým t-testem byly testovány všechny kvantitativní znaky. Výsledky shrnuje tabulka č. 7. Obrázky č. 10 – 16 zobrazují variabilitu znaků, kterými se oba studované taxony signifikantně liší. Obrázek č. 17 zobrazuje příklad nesignifikantního výsledku.

### Délka vedlejší cibule



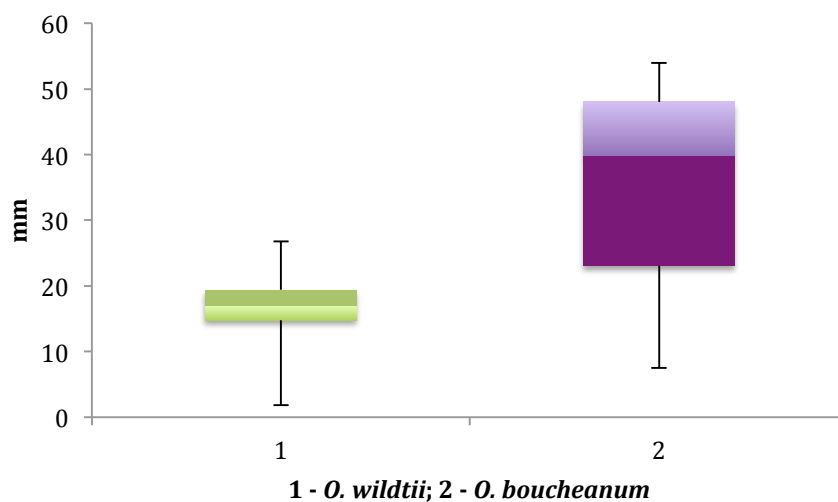
**Obrázek č. 10:** Boxploty znázorňující varibilitu zjištěných hodnot délky vedlejší cibule pro oba studované taxony. Test je staticky průkazný ( $T = 5,3866$ ;  $p < 0,001$ ).

### Délka stvolu



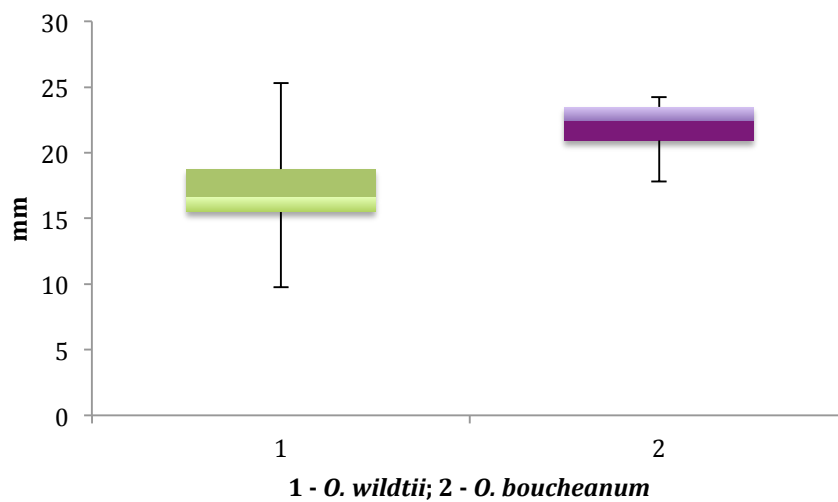
**Obrázek č. 11:** Boxploty znázorňující varibilitu zjištěných hodnot délky stvolu pro oba studované taxony. Test je signifikantní ( $T = 3,6395$ ;  $p < 0,002$ ).

### Délka květní stopky



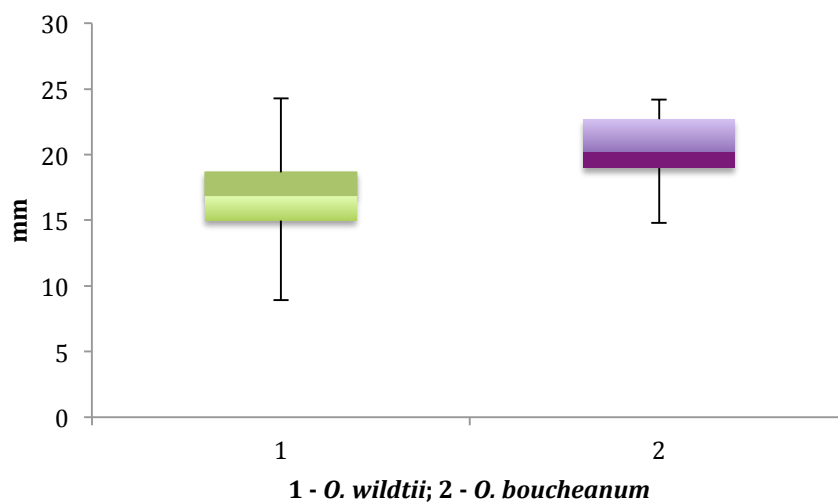
**Obrázek č. 12:** Boxploty znázorňující varibilitu zjištěných hodnot délky květní stopky pro oba studované taxony. Test je staticky průkazný ( $T = -7,9741$ ;  $p < 0,001$ ).

### Délka lístku vnějšího kruhu okvěti



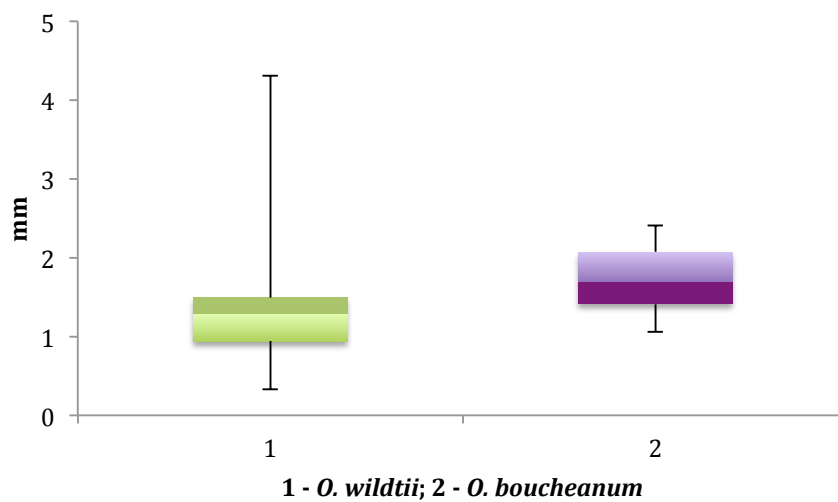
**Obrázek č. 13:** Boxploty znázorňující varibilitu zjištěných hodnot délky lístku vnějšího kruhu okvěti pro oba studované taxony. Test je signifikantní ( $T = -6,0923$ ;  $p < 0,001$ ).

### Délka lístku vnitřního kruhu okvěti



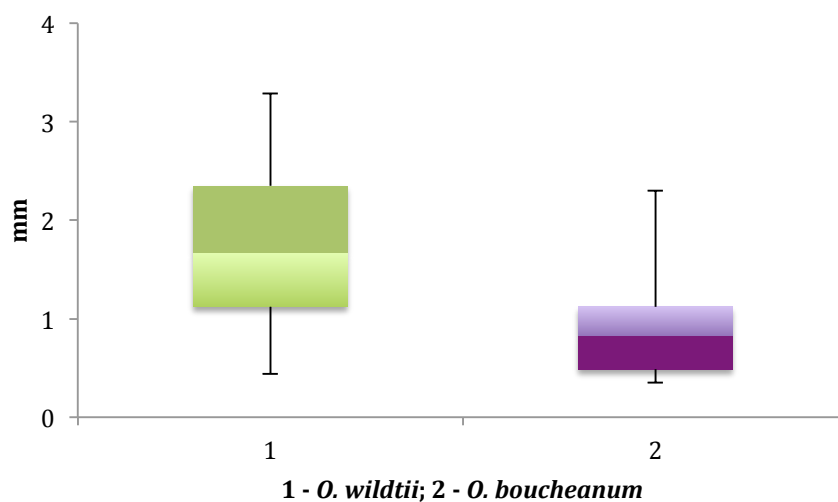
**Obrázek č. 14:** Boxploty znázorňující varibilitu zjištěných hodnot délky lístku vnitřního kruhu okvěti pro oba studované taxony. Test je staticky průkazný ( $T = -4,2183$ ;  $p < 0,001$ ).

### Šířka bílého lemu okvěti



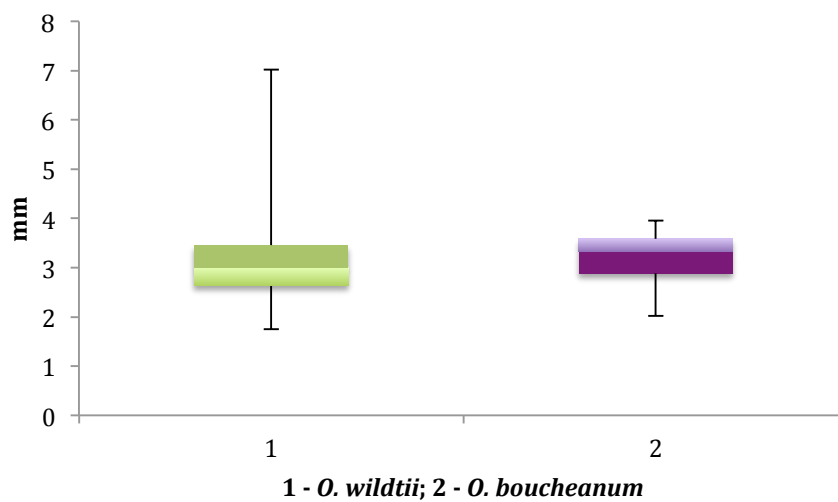
**Obrázek č. 15:** Boxploty znázorňující varibilitu zjištěných hodnot šířky bílého lemu na vnějším okvěti pro oba studované taxony. Test je signifikantní ( $T = -3,0541$ ;  $p < 0,003$ ).

### Šířka tyčinky na vrcholu



**Obrázek č. 16:** Boxploty znázorňující varibilitu zjištěných hodnot šířky tyčinky na vrcholu pro oba studované taxony. Test je staticky průkazný ( $T = 3,9304$ ;  $p < 0,001$ ).

### Velikost semeníku



**Obrázek č. 17:** Boxploty znázorňující varibilitu zjištěných hodnot velikosti semeníku pro oba studované taxony. Test není signifikantní ( $T = 0,1457$ ;  $p < 0,885$ ).



## 6 Diskuze

### 6.1 Variabilita v populacích studovaných taxonů

V této práci byly studovány pomocí průtokové cytometrie a morfometrické analýzy populace snědků z východní části střední Evropy, tj. z České republiky, Slovenska a Maďarska. Zastoupení jednotlivých taxonů na všech zkoumaných lokalitách bylo různé. Analýzou průtokové cytometrie byly změřeny všechny studované taxony nacházející se na území Maďarska. Z ČR byla získána data taxonů *O. boucheanum* a *O. x wildtii*, ze Slovenska byl naopak změřen druh *O. kochii* (tab. č 3). Morfometrická analýza byla realizována jen u českých populací *O. x wildtii* a *O. boucheanum* (zde však pouze 1 jedinec) a u jedné populace *O. boucheanum* z Maďarska a to z důvodu nepříznivého jarního období 2015 a špatné dostupnosti k materiálu na lokalitách ve vzdálenějších geografických oblastech. Na bakalářskou práci bude nicméně navazovat práce diplomová, ve které bude počet populací výrazně rozšířen.

Počet jedinců se u všech studovaných populací lišil. Některé obsahovaly výrazně vyšší množství rostlin než jiné. Tento rozdíl mohl ovlivnit správnost výsledků provedených analýz kvůli velké nevyrovnanosti v počtech rostlin. Například druh *O. boucheanum* byl zastoupen v jedné populaci jen 1 rostlinou a ve druhé 3 jedinci (tab. č 3).

Velmi překvapivé jsou výsledky společného výskytu taxonů pro jednotlivé populace. Předpokladem pro hybridizaci je, že se kříženec bude nacházet na stejné lokalitě jako jeho rodiče nebo alespoň v její bezprostřední blízkosti (Briggs & Walters 2001). Tato hypotéza se nepotvrdila, neboť prozatím nebyl zaznamenán (ani při sběru rostlin pro analýzu na průtokovém cytometru) společný nález všech 3 taxonů v jedné populaci. Naopak bylo zjištěno, že se taxon *O. wildtii* agg. na lokalitě vyskytuje buď s jedním z jeho rodičů, nebo zcela samostatně. Na tuto skutečnost poukazuje už Hrouda (Hrouda 1980). Nicméně tento názor se s novějším Hroudovým výzkumem rozchází protože autor později (Hrouda 2010) tvrdí, že se hybrid vyskytuje pouze na lokalitách spolu s rodiči. V ČR byl nejčastěji doprovázen druhem *O. boucheanum*, v Maďarsku byl objeven společně s *O. kochii*. V obou zemích byly zaregistrovány (sub)populace vytvářené samostatným *O. x wildtii* agg., např. u Moravského Písku, kde část hybridních

rostlin tvořila zcela samostatnou subpopulaci vzdálenou od *O. boucheanum* více než 500 m (příloha 1). Situaci mezi taxony na Slovensku prozatím nelze posoudit, rostliny z této oblasti by měly být studovány v rámci diplomové práce.

## 6.2 Morfologické znaky hybridu

Po srovnání provedených morfologických analýz s morfologickými parametry hybridu, *O. kochii* a *O. boucheanum* uvedenými v Květeně ČR (Hrouda 2010) se zdá, že většina studovaných jedinců *O. x wildtii* je stavbou svého těla více podobná *O. boucheanum* než *O. kochii*. Na zevrubné porovnání znaků hybridu a jeho rodičů bylo bohužel prozatím studováno příliš málo jedinců. Přesto lze říci, že studované hybridní rostliny dosahovaly ve většině znaků větších velikostí než *O. boucheanum*, vyskytoval se u nich větší počet květů a listů (tab. č. 4) a jejich cibule byly zakořeněny hluboko v zemi. Procentuálně měly méně vedlejších cibulí než rostliny *O. boucheanum*, ale až 2x větších. Listy jim narostly o něco delší, ale v průměru zhruba stejně široké. Ve zbývajících znacích se taxony více méně shodovaly. Objeveno bylo ale i několik jedinců nižšího vzrůstu, které by bylo možno popsat jako potomky, kteří více zdělili genetického materiálu po taxonu *O. kochii*. Tito jedinci jsou celkově drobnější, s kratšími listy a se zkrabacenými semeníky. Většina těchto znaků však může být ovlivněna vnějším prostředím a jejich vypovídací hodnota může být poměrně malá. Hrouda (2010) uvádí, že kříženec je vždy intermediární, zda je to pravda ukáže až další studium, při kterém bude do měření morfologických znaků zahrnut i druhý z rodičů a také hybridní rostliny ze Slovenska a Maďarska. Podle terénního pozorování se však hybrid zdá podobnější spíše *O. boucheanum*. Zajímavým poznatkem je také to, že se velikost semeníků u obou druhů nelišila, průměrné hodnoty byly stejné (tab. č. 5), což může poukazovat na alespoň částečnou tvorbu semen u hybridu (více viz kapitola 6.4).

## 6.3 Cytologie v rodu *Ornithogalum*

Pro zjištění cytologické variability taxonů byla využita metoda průtokové cytometrie. Tato metoda nejčastěji využívá k analýze vzorek listu (Doležel & al. 2007). K charakteristickým znakům čeledi *Hyacinthaceae* patří slizovitý sekret a krystaly vyskytující se v listech (Lynch & al. 2006, Stevens 2012). To se projevilo při přípravě vzorků pro průtokový cytometr. Po rozsekání listů žiletkou vytvořil sekret společně s pufrem a standardem slizovitou hmotu, která zanesla póry filtru tak, že nedošlo k přefiltrování. Při optimalizaci metody byla vyzkoušena řada pufřů a postupů, vzorek

se standardem rozsekán a rozmělněn na co nejmenší částičky dispergované v daném pufru. V jednom z posledních pokusů bylo docíleno přefiltrování homogenátu pocházejícího z velmi mladého listu a po analýze vzorku byl získán výstup z průtokového cytometru. Pík vnitřního standardu byl v normě, avšak pík analyzovaného vzorku nebyl dostatečně prokazatelný. Pro stanovenou metodu nebyl nalezen vhodný pufr, aby se k přípravě vzorku daly použít standardně používané rostlinné části (listy, okvěty). Nakonec se jako nejvhodnější pro přípravu vzorků ukázaly být kořínky z cibulí, které poskytují mnohem prokazatelnější píky.

Jednotlivé populace všech 3 taxonů jsou podle měření průtokovou cytometrií ploidní úrovní (a tedy počtem chromozomů) navzájem od sebe odlišné. Populace *O. kochii* se vyznačují DNA-diploidii ( $2n = 2x = 18$ ), což je v souladu s údaji z literatury (Hrouda 2010), naopak rostliny *O. boucheanum* jsou DNA-tetraploidní ( $2n = 4x = 28$ ), což opět odpovídá starším údajům ( $2n = 4x = 28$ ; Zahariadi 1980). Zkřížením těchto dvou druhů vznikl na Moravě hybrid *O. x wildtii*, který byl analyzován jako DNA-triploidní ( $2n = 3x = 23$ ) a potvrzuje to údaje Hroudy (1980), což je intermediální stav mezi těmito ploidně odlišnými taxony (Hrouda 1980). Populace *O. x wildtii* agg. z Maďarska (označované také jako *O. degenianum*) se jeví být také jako DNA-triploidní, v konkrétním počtu chromozomů však patrně nelze vyloučit ani aneuploidní stav neboť se v hodnotách naměřených průtokovou cytometrií poněkud liší od moravské populace, u které byl počet chromozomů stanoven klasickým spočtením (Hrouda 1980).

V různých částech areálu se populace okruhu *O. wildtii* agg. tedy pravděpodobně liší velikostí genomu. České populace měly průměrnou relativní fluorescenci/hodnotou  $2C = 27$  pg, zatímco u maďarské  $2C = 34$  pg (viz výsledky). Toto zjištění utváří prostor pro nové otázky, které by se mohly objevit jako součást navazujícího výzkumu problematiky okruhu *O. wildtii* agg. Dosud tato skutečnost nebyla známa, přitom by mohla sehrát důležitou roli při taxonomickém odlišení českého *O. x wildtii* od maďarského *O. x degenianum*.

## 6.4 Rozmnožování taxonu *O. x wildtii*

Z výsledků morfometrické analýzy je patrné, že se mezi sebou hybridy liší. Statní jedinci, podobní svou stavbou těla *O. boucheanum*, mající dobře vyvinuté semeníky a vyskytující se v samostatných populacích, můžou vést k předpokladu, že by tyto

rostliny mohly být fertlní. Naopak jedinci drobnějšího vzrůstu blížíci se svým vzhledem spíše k taxonu *O. kochii* s deformovanými semeníky, evokují jejich neschopnost pohlavního rozmnožování. V současné fázi výzkumu tedy nelze jednoznačně prohlásit, zdali je kříženec opravdu sterilní, nebo vytváří samostatné populace, protože jsou jedinci v taxonu navzájem různí. Zdá se, že se v rámci taxonu vytvořil 2 větve, každá bližší jednomu z rodičů a zároveň rozhodující o tom, jestli bude jedinec fertlní, nebo sterilní. Případní fertlní hybridi by se mohli mezi sebou nebo se svými rodičovskými druhy opětovně křížit a vytvořit tak novou hybridní kombinaci. V tomto případě by bylo dosti nesnadné zjistit původ křížence (Briggs & Walters 2001). Zatím však s jistotou nevíme zda se u okruhu *O. wildtii* agg. tvoří klíčová semena.

Další možností rozmnožování hybrida je vegetativní rozmnožování. U 43% jedinců byla zaznamenána přítomnost vedlejší cibule (viz tab. č. 4), která je projevem vegetativního rozmnožování a může tak pro neplodné křížence posloužit jako únik od sterility. Tento typ rozmnožování se nachází u snědků až u druhů s vyšší ploidií, v této práci konkrétně u taxonů *O. x wildtii* (triploidní) a *O. boucheanum* (tetraploidní; viz tab. 4; Hrouda 1980, Hrouda 2010).

## 7. Závěr

Pomocí průtokové cytometrie byl zjištěn DNA-diploidní stav u populací *O. kochii* ze Slovenska a Maďarska a DNA-tetraploidní u *O. boucheanum*, což je v souladu s údaji v literatuře. Populace okruhu *O. wildtii* agg. mají zřejmě všechny DNA-triploidní úroveň, avšak podle zjištěných výsledků průtokové cytometrie se české *O. x wildtii* liší od maďarských populací *O. degenianum* průměrnou relativní fluorescencí/hodnotou 2C. U obou studovaných maďarských populací bylo naměřeno 2C = 34 pg, zatímco česká populace měla 2C = 27 pg. Celkem bylo analyzováno 59 jedinců.

Některé morfologické znaky (např. šířka listu, šířka vnitřního okvětky, šířka tyčinky na bázi a velikost semeníku) hybridů *Ornithogalum x wildtii* jsou víceméně shodné jako u *O. boucheanum*. V jiných znacích (např. délka vedlejší cibule, délka listu, délka stvolu) hybrid dokonce svého rodiče převyšuje. Drobnější jedinci jsou naopak zřejmě více podobní taxonu *O. kochii*, na což poukazuje srovnání s literaturou.

Kvůli malému počtu studovaných vzorků nelze v tuto chvíli jednoznačně prohlásit, zdali je kříženec opravdu sterilní, nebo se dokáže rozmnožovat, byť jen třeba vegetativně a vytvářet tak samostatné populace bez rodičů. Navíc se zdá, že hybridy jsou v těchto znacích velmi variabilní.

Studovaná problematika vyžaduje další výzkum, a proto bude na bakalářskou práci navazovat práce diplomová, ve které bude počet populací značně rozšířen.

## Seznam použité literatury

Agapova N. D. (1977): Citosistematické issledovanie evropejskich predstavitelej roda *Ornithogalum* L. flory SSSR. I. Podrody Beryllis (Salisb.) Baker i Myogalum (Link) Peterm. – Bot. Žhurn. (Moskva & Leningrad) 62: 970–983.

Blackwell W. H. (1990): Poisonous and Medicinal Plants. – Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ. s. 329.

Briggs D. & Walters S. M. (2001): Proměnlivost a evoluce rostlin. 3. vydání. – Cambridge University Press, Olomouc 2001. s. 531.

Buerkle C. A., Wolf D. E. & Rieseberg L. H. (2003): The origin and extinction of species through hybridization. – In: D. C. A. Bringham & D. M. W. Schwartz (eds.), Population viability in plants, ecological studies, Springer, Berlin, Germany. s. 117–141.

Coyne J. A. & Orr H. A. (2004): Speciation. – Sinauer, Sunderland, Massachusetts, USA. s. 545.

Čelakovský L. (1897): *Ornithogalum* L. – snědek. – In: Čelakovský L., Analytická květena Čech, Moravy a Rakouského Slezska. 3. vydání. – Česká grafická společnost Unie, Praha. s. 456.

Demirevska-Kepova K., Simova-Stoilova L., Stoyanova Z., Hölzer R. & Feller U. (2004): Biochemical changes in barley plants after excessive supply of copper and manganese. – Environ. Exp. Bot. 52: 253–266.

Dobzhansky T. (1933): On the sterility of the interracial hybrids in *Drosophila Pseudoobscura*. – Proc. Nat. Acad. Sci. USA 19: 397–403.

Doležel J., Greilhuber J. & Suda J. (2007): Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. – Nat. Protoc. 2: 2233–2244.

Domin K. & Podpěra J. (1928): *Ornithogalum*. – snědek. – In: Domin K., Podpěra J. & Polívka F. (eds), Klíč k úplné květeně republiky Československé, 2. vydání. R. Promberger, Olomouc. s. 828–829.

Dong J., Wu F. & Zhang G. (2006): Influence of cadmium on antioxidant capacity and four microelement concentrations in tomato seedlings (*Lycopersicon esculentum*). – Chemosphere 64: 1659–1666.

Dostál J. (1950): Květena ČSR a ilustrovaný klíč k určení všech cévnatých rostlin, na území Československa planě rostoucích nebo běžně pěstovaných. – Přírodovědecké nakladatelství, Praha, s. 1774–1780.

Dostál J. (1989): Nová květena ČSSR 1-2. – Academia, Praha. s. 1548.

Durand E. Y., Patterson N., Reich D. & Slatkin M. (2011): Testing for ancient admixture between closely related populations. – Mol. Biol. Evol. 2239–2252.

Ellstrand N. C., Whitkus R. & Rieseberg L. H. (1996): Distribution of spontaneous plant hybrids. – Proc. Nat. Acad. Sci USA 93: 5090–5093.

Ellstrand N. C. & Schierenbeck K. A. (2000): Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants? – Proc. Nat. Acad. Sci. 97: 7043–7050.

Fay M. F. & Chase M. W. (1996): Resurrection of *Themidaceae* for the *Brodiaea* alliance, and recircumscription of *Alliaceae*, *Amaryllidaceae* and *Agapanthoideae*. – Taxon 45: 441–451.

Fay M. F., Rudall P. J., Sullivan S., Stobart K. L., de Bruijn A. Y., Reeves G., Qamaruz Zaman F., Hong W.-P., Josph J., Hahn W. J., Conran J. G. & Chase M. W. (2000): Phylogenetic studies of *Asparagales* based on four plastid DNA regions. – In: K. L. Wilson & D. A. Morrison (eds), Monocots: Systematics and evolution, CSRIO, Melbourne, Australia. s. 360–371.

Formánek E. (1887): Květena Moravy a rakouského Slezska. – Brno. s. 824.

- Harrison R.G. (1990): Hybrid zones: windows on evolutionary 39řidun. – Oxford Surv. Evol. Biol. 7: 69–128.
- Herbert W. (1847): On hybridization amongst vegetables. – J. Hortic. Soc. 2: 1–107.
- Hintze J. (2013): NCSS 9 – NCSS, LLC. Kaysville, Utah, USA, URL: <http://www.ncss.com>.
- Hrouda (1980): Studium rodu *Ornithogalum* L. s. l. v Československu. – Mscr. depon. in Kat. Bot. PřF UK. 347 s.
- Hrouda L. (2010): *Ornithogalum* L. – snědek. – In: Štěpánková J., Chrtek J. & Kaplan Z. (eds), Květena České republiky 8, Academia, Praha. s. 600–613.
- Chase M. W., Stevenson D. W., Wilkin P. & Rudall P. J. (1995): Monocot systematics: A combined analysis. – In: Rudall P. J., Cribb P. J., Cutler D. F. & Humphries C. J. (eds), Monocotyledons: 39řidunajský and evolution, Royal Botanic Gardens, Kew. s. 685–730.
- Jaja E. T. & Odoemena C. S. I. (2004): Effect of Pb, Cu and Fe compounds on the germination and early seedling growth of tomato varieties. – J. Appl. Sci. Environ. Mgt. 8: 51–53.
- Jones K. & Borrill M. (1961): Chromosomal status, gene 39řidunaj and evolution in *Dactylis*. 3. The role of the inter-ploid hybrids. – Genetica 32: 296–322.
- Kerner A. (1902): The Natural History of Plants. 1. – Blackie & Son, London. s. 777.
- Király G., Virók V. & Molnár V. A. (2011): Új 39řidun fűvészkönyv. Magyarország hajtásos növényei. – Aggteleki Nemzeti Park Igazgatóság, Jósavfő. s. 675.
- Klokner, L. (1974): Príspevok k poznaniu flóry 39řidunajských pahorkatín. – Zborník Slov. Nár. Múz., Bratislava 20: 41–88.



Lai Z., Kane N. C., Kozik A., Hodgins K. A., Dlugosch K. M., Barker M. S., Matvienko M., Yu Q., Turner K. G., Pearl S. A., Bell G. D. M., Zou Y., Grassa C., Guggisberg A., Adams K., Anderson J. V., Horvath D. P., Kesseli R. V., Burke J. M., Michelmore R. W. & Rieseberg L. H. (2012): Genomics of Compositae weeds: EST libraries, microarrays, and evidence of introgression. – *Am. J. Bot.* 99: 209–218.

Lampe K. F. & McCann M. A. (1985): *AMA Handbook of Poisonous and Injurious Plants*. – American Medical Association, Chicago Review Press, Chicago, IL. s. 432.

Liu X., Zhang S., Shan X. & Zhu Y.-G. (2005): Toxicity of arsenate and arsenite on germination, seedling growth and amylolytic activity of wheat. – *Chemosphere* 61: 293–301.

Lynch A., Rudall P. & Cutler D. (2006): Leaf Anatomy and Systematics of *Hyacinthaceae*. – *Kew Bull.* 61: 145–159.

Lowry D. B., Modliszewski J. L., Wright K. M., Wu C. A. & Willis J. H. (2008): The strength and genetic basis of reproductive isolating barriers in flowering plants. – *Phil. Trans. R. Soc. B* 363: 3009–3021.

Mulholland D. A., Schwikard S. L. & Crouch N. R. (2013): The chemistry and biological activity of the *Hyacinthaceae*. – *Nat. Prod. Rep.* 9: 1153–1266.

Müntzing A. (1930): Outlines to a genetic monograph of the genus *Galeopsis*. – *Hereditas* 13: 185–341.

Naudin C. (1863): Nouvelles recherches sur l'hybridité dans les végétaux. – *Ann. Sci. Nat. Bot. Biol. Veg.* 19: 180–203.

Patra M., Bhowmik N., Bandopadhyay B. & Sharma A. (2004): Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. – *Environ. Exp. Bot.* 52: 199–223.

Pföster, M. & Speta, F. (1999): Phylogenetics of *Hyacinthaceae* based on plastid DNA sequences. – *Ann. Missouri Bot. Gard.* 86: 852–875.

Pfossor M. & Speta F. (2001): *Hyacinthaceae. Hyacinthus, Ornithogalum, Scilla* and their relatives. – Tolweb online resources.

<http://tolweb.org/Hyacinthaceae/21437/2001.0101> [cit. 2015-02-02]

Podpěra J. (1913): Nové rostliny květeny moravské. – *Živa* 23(8): 246.

Polgár S. (1928): Eine neue *Ornithogalum*-Art aus Ungarn. – *Magyar Bot. Lápok* 27: 19–25.

Polívka F. (1902): Názorná květena zemí koruny české obsahující též čelnější rostliny cizozemské, pěstované pro nás pro užitok a okrasu 4. – R. Promberg, Olomouc. s. 712.

Randuška Š., Šomšák L. & Háberová I. (1986): Barevný atlas rostlin. 3. vydání. – Obzor, Bratislava. s. 640.

Rieseberg L. H. (1997): Hybrid origins of plant species. speciation. – *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 28: 359–389

Rieseberg L. H. & Blackman B. K. (2010): Speciation genes in plants. – *Ann. Bot.* 106: 439–455.

Soltis P. S. & Soltis D. E. (2009): The role of hybridization in plant speciation. – *Ann. Rev. Plant Biol.* 60: 561–588.

Speta F. (1998a): *Hyacinthaceae*. – In: Kubitzki K. (ed.), *The Families and Genera of Vascular Plants*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York. s. 261–285.

Speta F. (1998b): Systematische Analyse der Gattung *Scilla* L. (*Hyacinthaceae*). – *Phyton (Horn)* 38: 1–141.

Spoerke D. G. & Smolinske S. C. (1990): *Toxicity of Houseplants*. – CRC Press, Boca Raton, FL. s. 256.

Stebbins G. L. (1958): The inviability, weakness, and sterility of interspecific hybrids. – In: Demerec M. (ed.), *Advances in genetics*, Academic Press. New York, New York, USA. s. 147–215.

Stebbins G. L. (1959): The role of hybridization in evolution. – *Proc. Am. Phil. Soc.* 103: s. 231–251.

Stevens P. F. (2012): *Angiosperm Phylogeny Website*.

<http://www.mobot.org/MOBOT/research/Apweb> [cit. 2015-02-02]

Street R. A., Kulkarni M. G., Stirk W. A., Southway C. & Van Staden J. (2007): Toxicity of Metal Elements on Germination and Seedling Growth of Widely Used Medicinal Plants Belonging to *Hyacinthaceae*. – *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 79: 371–376.

Suda J., Krahulcová A., Trávníček P. & Krahulec F. (2006): Ploidy level versus DNA ploidy level: An appeal for consistent terminology. – *Taxon*, 55: 447–450.

Vaillant N., Monnet F., Hitmi A., Sallanon H. & Coudret A. (2005): Comparative study of responses in four *Datura* species to a zinc stress. – *Chemosphere* 59: 1005–1013.

Water Research Commission (1997): *Permissible utilization and disposal of sewage sludge*, 1st edition. – TT 85/97, Pretoria, South Africa. s. 83.

Whitney K. D., Ahern J. R., Campbell L. G., Albert L. P., & King M. S. (2010): Pattern in hybridization of plants. – *Perspect. Plant. Ecol.* 12: 175–182.

Wildt A. (1905): Floristische Notizen. – *Verh. Naturforsch. Ver. Brünn* 43: 40–42

Winge Ø. (1917): The chromosomes: their number and general importance. – *C. R. Trav. Lab. Carlsberg* 13: 131–275.

Yakimowski S. B. & Rieseberg L. H. (2014): The role of homoploid hybridization in evolution: A century of studies synthesizing genetics and ecology. – *Am. J. Bot.* 101(8): 1247–1258.

Zahariadi C. (1980): *Ornithogalum* L. – In: Tutin T. G., Heywood V. H., Burges N. A., Valentine D. H., Walters S. M. & Webb D. A. (eds), *Flora Europaea* 5, Cambridge University Press. s. 35–40.

## 8 Přílohy

Příloha 1: Seznam studovaných lokalit

Označení lokality	Populace (stát) GPS	Taxon	Ploidní stupeň	Počet jedinců	Datum	Místo sběru
GSE1-5	Győr-Segitöház (HU) lat 48.99016, lon 17.33269	<i>O. kochii</i>	2	5	2013	píščitá pláň na S okraje města, 120 m n.m.
CSA1-2	Csapod (HU) lat 47.5162, lon 16.92345	<i>O. kochii</i>	2	2	28.04.2013	okraj lesa u silnice Csapod Cirák, 140 m n.m.
FER1-3	Fertőd town (HU) lat 47.61818, lon 16.87414	<i>O. kochii</i>	2	3	28.04.2013	město Fertőd, trávník v parku na ulici Joseph Haydn, 140 m n.m.
KOZ1-3	Kozárovce (SK) lat 48.31616, lon 18.52276	<i>O. kochii</i>	2	3	22.03.2014	Kozárovce, 190 m n.m.
BSG 1-5	Balatonszentgyörgy (HU) lat 46.69017, lon 17.29726	<i>O. kochii</i>	2	5	05.04.2014	Balatonszentgyörgy, 125 m n.m.
NIC1	Nick (HU) lat 47.40267, lon 17.01449	<i>O. kochii</i>	2	1	(2013)?	Nick
CSII	Csíkvád (HU) lat 47.46663, lon 17.45463	<i>O. kochii</i>	2	1	(2013)?	Csíkvád
Fenyőfő	Fenyőfő (HU) lat 47.34903, lon 17.76562	<i>O. kochii</i>	2	1	(2013)?	Fenyőfő
ZOB1-3; ZOB6-9	Nitra, Zoborská lesostep (SK) lat 48.34903, lon 18.09654	<i>O. kochii</i>	2	7	(2013)?	Nitra, Zoborská lesostep, 310 m n.m.
LES1	Lesvár (HU) lat 47.64742, lon 17.67198	<i>O. boucheanum</i>	4	1	2013	les v Lesváru 120 m n.m.
MOR4; MOR7-9; MOR18	Moravský písek (CZ) lat 48.99016, lon 17.33269	<i>O. boucheanum</i>	4	5	01.05.2013; 12.05.2015	malá louka v lese blízko SZ okraje města Moravský písek 180 m n.m.; louka blízko Z okraje města Moravský písek 180 m n.m.

PIL1-3	Pilisszentiván (HU) <i>lat 47.61015, lon 18.89402</i>	<i>O. boucheanum</i>	4	3	16.05.2015	Pilisszentiván 290 m n.m.
MOR1-3; MOR5-6; MOR11-17; MOR19-25	Moravský písek (CZ) <i>lat 48.99016, lon 17.33269</i>	<i>O. wildtii</i> agg.	3	19	01.05.2013 12.05.2015	malá louka v lese blízko SZ okraje města Moravský písek 180 m n.m.; louka blízko Z okraje města Moravský písek 180 m n.m.
FOT1-2	Fót (HU) <i>lat 47.61725, lon 19.18916</i>	<i>O. wildtii</i> agg.	3	2	12.03.2013	Fót, 190 m n.m.
NIC2	Nick (HU) <i>lat 47.40267, lon 17.01449</i>	<i>O. wildtii</i> agg.	3	1	(2013)?	Nick