

Univerzita Palackého v Olomouci

Přírodovědecká fakulta

Katedra botaniky



**Srovnávací morfologie taxonů rodu orsej (*Ficaria*)
v Evropě**

Diplomová práce

Jana Uhlířová

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Botanika

Forma studia: Prezenční

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

Olomouc

2023

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně pod vedením RNDr. Martina Duchoslava, Ph.D. a jen s použitím citovaných literárních pramenů.

V Olomouci dne:

Podpis:

Poděkování

Na tomto místě bych chtěla poděkovat vedoucímu této diplomové práce RNDr. Martinu Duchoslavovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné připomínky, pomoc se statistickým zpracováním a obdivuhodnou trpělivost. Dále děkuji Mgr. Lucii Kobrlové, Ph.D. za měření rostlin na průtokovém cytometru i za další různorodou pomoc. Svůj dík bych ráda vyjádřila i Mgr. et Mgr. Michaele Konečné, která významně přispěla ke zkvalitnění práce mnoha radami a připomínkami. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat všem sběratelům orsejů a všem, kdo měřili studované rostliny na průtokovém cytometru, z dosud nejmenovaných zejména Mgr. Ondřeji Popelkovi. Za finanční podporu děkuji interní grantové agentuře UP IGA PrF-2022_002, PrF-2023_001.

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora: Jana Uhlířová

Název práce: Srovnávací morfologie taxonů rodu orsej (*Ficaria*) v Evropě

Typ práce: diplomová

Pracoviště: Katedra botaniky PřF UP, Šlechtitelů 27, 783 71 Olomouc

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

Rok obhajoby: 2023

Abstrakt: Rod orsej (*Ficaria*) z čeledi Ranunculaceae zahrnuje geofyty rozšířené na většině území Evropy a v přilehlých oblastech Asie a Afriky. Patří k taxonomicky obtížným skupinám, což je dáno především mimořádnou morfologickou variabilitou, k níž přispívá existence více ploidních úrovní (diploidní až hexaploidní), příležitostná hybridizace a značná fenotypová plasticita. Podle jednoho pojetí, založeného na morfologii, je rod považován za monotypický s jediným druhem *Ficaria verna* a několika poddruhy. Tento koncept byl použit i v této práci, která si kladla za cíl přispět k poznání morfologické variability v rodě *Ficaria*, posoudit spolehlivost uváděných determinačních znaků a pokusit se najít další znaky umožňující determinaci taxonů. Předmětem studia byly poddruhy *calthifolia*, *fertilis*, *ficariiformis*, *ficarioides*, *chrysocephala*, *verna* a hybridní taxon *F. ×sellii*. Studovány byly živé rostliny se známou ploidní úrovní pocházející z různých částí areálů jednotlivých taxonů pěstované v podmínkách common garden. Kromě tradičních morfometrických metod byla použita i jedna z metod geometrické morfometrie, eliptická Fourierova analýza (pro studium tvaru listů). Výsledky potvrdily vhodnost mnoha znaků používaných pro determinaci. Potenciálními novými znaky, které by mohly v kombinaci s jinými znaky usnadnit determinaci, jsou např. tloušťka listové čepele, chlupatost lodyhy nebo tvar nažek. Mnohorozměrné analýzy ukázaly pouze částečné oddělení studovaných taxonů. Poměrně dobře morfologicky vymezené jsou poddruhy *calthifolia*, *fertilis*, *verna* a pravděpodobně také *ficarioides*. Naproti tomu velmi pochybným se jeví poddruh *ficariiformis*, který od poddruhu *verna* nedokázala odlišit ani diskriminační analýza (CDA). Výsledky naznačují intermediární charakter *F. ×sellii* mezi jejími rodičovskými taxony. U nejrozšířenějšího poddruhu *verna* byla prokázána klinální variabilita ve tvaru listů. Pro některé taxony byla velikost vzorku velmi omezená (zejména *chrysocephala* a *ficarioides*), což znemožňuje spolehlivě interpretovat výsledky. Minoritní ploidní úrovně pro jednotlivé taxony byly zpravidla zastoupeny malým počtem jedinců, a proto mezi sebou nebyly statisticky srovnávány. Je zřejmé, že vyřešení taxonomické problematiky rodu *Ficaria* bude vyžadovat ještě mnoho úsilí. K pochopení fylogenetických vztahů bude zapotřebí použít zejména

molekulární metody, protože samotné morfometrické metody nejsou pro tento účel dostačující.

Klíčová slova: *Ficaria*, morfometrie, determinační znaky, morfologická variabilita, common garden, taxonomie, tvar listů

Počet stran: 120

Počet příloh: 13

Jazyk: český

Bibliografic identification

Author's first name and surname: Jana Uhlířová

Title of thesis: Comparative morphology of *Ficaria* taxa in Europe

Type of thesis: master

Department: Department of Botany, Faculty of Science, Palacký University, Šlechtitelů 27, 783 71 Olomouc

Supervisor: RNDr. Martin Duchoslav, Ph.D., Department of Botany

The year of presentation: 2023

Abstract: The genus *Ficaria* (Ranunculaceae) is a group of geophytes that are widespread through most parts of Europe and adjacent areas of Asia and Africa. It represents a taxonomically challenging group with five cytotypes (diploid to hexaploid), occasional hybridization and remarkable phenotypic plasticity that contribute to generating extraordinary morphological variability. According to one taxonomic concept, based on morphological characters, the genus is considered monotypic with one species *Ficaria verna* and several subspecies. This concept was also used in this thesis, which aimed to contribute to the knowledge of morphological variability in the genus *Ficaria*, to assess the reliability of the given diagnostic characters and to try to find other characters that allow taxa determination. The subspecies *calthifolia*, *chrysocephala*, *fertilis*, *ficariiformis*, *ficarioides*, *verna* and the hybrid taxon *F. ×sellii* were the subject of the study. Live plants with a known ploidy level originating from different parts of the ranges of individual taxa grown in common garden conditions were studied. In addition to traditional morphometric methods, one of the methods of geometric morphometrics, elliptic Fourier analysis, was also used (for studying leaf shape). The results confirmed the suitability of many characters traditionally used for determination. Potential new characters that could facilitate determination when used in combination with other characters are, for example, thickness of the leaf blade, stem hairiness or shape of the achenes. Multivariate analyses showed only partial separation of the studied taxa. The subspecies *calthifolia*, *fertilis*, *verna* and probably also *ficarioides* are relatively well defined morphologically. On the other hand, the subspecies *ficariiformis*, which could not be distinguished from the subspecies *verna* even by a stepwise discriminant analysis (CDA), seems very doubtful. The results indicate an intermediate character of *F. ×sellii* between its parental taxa. Clinal variation in leaf shape has been demonstrated for the most widespread subspecies *verna*. For some taxa, the sample size was very limited (especially *chrysocephala* and *ficarioides*), making it impossible to reliably interpret the results. Minority ploidy levels for individual taxa were usually represented by a small

number of individuals and therefore were not statistically compared. It is clear that solving the taxonomic problems of the genus *Ficaria* will still require a lot of effort. In order to understand the phylogenetic relationships, it will be necessary to employ molecular methods in particular, because morphometric methods alone are not sufficient for this purpose.

Keywords: *Ficaria*, morphometrics, diagnostic characters, morphological variability, common garden, taxonomy, leaf shape

Number of pages: 120

Number of appendices: 13

Language: Czech

Obsah

1	Úvod	1
2	Cíle práce.....	7
3	Literární rešerše.....	8
3.1	Popis morfologie rodu <i>Ficaria</i>	8
3.2	Reprodukce, hybridizace a evoluční původ zástupců rodu <i>Ficaria</i>	9
3.3	Determinační znaky používané v rodě <i>Ficaria</i>	10
3.4	Analýza tvaru	13
3.4.1	Tradiční morfometrie.....	13
3.4.1.1	Historický vývoj vizualizace výsledků	14
3.4.2	Geometrická morfometrie.....	15
3.4.2.1	Metody založené na analýze význačných bodů	16
3.4.2.2	Metody analýzy obrysu.....	20
4	Metodika.....	22
4.1	Rostlinný materiál	22
4.2	Sběr dat	23
4.3	Analýza dat	30
4.3.1	Tvar listové čepele – eliptická Fourierova analýza a PCA.....	30
4.3.2	Geografická variabilita tvaru listů u poddruhu <i>verna</i>	30
4.3.3	Variabilita morfologických znaků – jednorozměrné analýzy.....	31
4.3.4	Mnohorozměrné analýzy: analýza hlavních koordinát (PCoA) a diskriminační analýza (CDA).....	32
5	Výsledky.....	33
5.1	Tvar listové čepele – eliptická Fourierova analýza a PCA.....	33
5.2	Geografická variabilita tvaru listů u poddruhu <i>verna</i>	38
5.3	Variabilita morfologických znaků – jednorozměrné analýzy.....	39
5.3.1	Kvantitativní znaky.....	39
5.3.2	Ordinální a kategoriální znaky.....	45
5.3.3	Mnohorozměrné analýzy: analýza hlavních koordinát (PCoA) a diskriminační analýza (CDA).....	52
6	Diskuze.....	58
6.1	Jak jsou pro determinaci orsejů užitečné kvantitativní a kategoriální vegetativní znaky a které to jsou?.....	59
6.2	Lze pomocí geometrické morfometrie najít rozdíly ve tvaru listů mezi srovnávanými taxony?	63
6.3	Jak jsou pro determinaci orsejů užitečné kvantitativní a kategoriální generativní znaky a které to jsou?.....	67
6.4	Morfologická diferenciacce taxonů při použití mnohorozměrných metod	71
7	Závěr.....	73
8	Literatura	75
9	Přílohy	86

1 Úvod

Rod orsej (*Ficaria*) z čeledi pryskyřníkovitých (Ranunculaceae) zahrnuje jarní geofyty s původním areálem v Evropě a přilehlých oblastech jihozápadní Asie a severní Afriky (Sell 1994). Pro jejich nápadné žluté květy a brzké kvetení bývají orseje také pěstovány pro okrasu (Post et al. 2009; Axtell et al. 2010). V současné době se některé taxony zplaněle vyskytují i na Novém Zélandu (Webb et al. 1995; Howell 2008) a zejména v Severní Americe (Post et al. 2009; Axtell et al. 2010), kde dokonce místy vykazují invazní potenciál (Axtell et al. 2010; Cipollini et al. 2012; Masters & Emery 2016). Jednotlivé taxony rodu se sice částečně odlišují ve svých ekologických nárocích, ale obecně je lze charakterizovat jako rostliny preferující vlhká stanoviště (Taylor & Markham 1978; Post et al. 2009).

Vyčleňování orsejů do samostatného rodu nebylo vždy samozřejmostí. V roce 1753 popsal Linné orsej jarní jako *Ranunculus ficaria*, a přestože rod *Ficaria* GUETT byl popsán již v roce 1754, řazení orsejů do rodu pryskyřník (*Ranunculus*) bylo po dlouhá léta preferovaným pojetím. Taxon *Ficaria* byl pak různými autory považován buď za podrod, nebo sekci rodu *Ranunculus* (Emadzade et al. 2010). Až díky rozvoji molekulárních metod mohlo být v nedávné době prokázáno, že orseje nejsou pryskyřníkům blízkce příbuzné a je oprávněné vyčleňovat je do samostatného rodu *Ficaria*, který je sesterský rodu *Coptidium* (Hörandl et al. 2005; Paun et al. 2005; Lehnebach et al. 2007; Emadzade et al. 2010). Řazení orsejů do rodu *Ranunculus* by vedlo k vytvoření značně heterogenní skupiny, protože pro zachování monofylie by se součástí tohoto rodu musely stát i další rody, např. myší ocásek (*Myosurus*) nebo rohohlavec (*Ceratocephala*) (Paun et al. 2005). Podle Paun et al. (2005) je *Ficaria* jako samostatný rod dobře definován těmito výraznými morfologickými znaky: nažky s dlouze klínovitou bází a rudimentárním zobánkem, tři kališní lístky, silně dimorfní kořeny s výraznými hlízami, pouze jedna vyvinutá děloha. Emadzade et al. (2010) pak jako hlavní znaky odlišující rod *Ficaria* od rodu *Ranunculus* uvádějí více než pět korunních lístků, pouze tři kališní lístky a stopkaté nažky bez zobánku.

Existence několika ploidních úrovní, recentně probíhající hybridizace, velká morfologická variabilita a fenotypová plasticita orsejů jsou v posledních desetiletích motorem znovuobnoveného biosystematického zájmu (Sell 1994; Zonneveld 2015; Drenckhahn 2016; Popelka et al. 2019a, 2019b). Taxonomické členění uvnitř rodu je ale stále nevyjasněné a nejednotné. Podle jednoho z recentních taxonomických zpracování je rod *Ficaria* monotypický s jediným druhem *Ficaria verna* L. a několika poddruhy (Veldkamp 2015), zatímco jiní autoři hodnotí jednotlivé taxony (poddruhy) na úrovni samostatných

druhů (Banfi et al. 2011; Zonneveld 2015). Mezi těmito dvěma koncepty lze najít ještě přístup, kdy je část taxonů považována za samostatné druhy a část za poddruhy druhu *Ficaria verna*, resp. *Ranunculus ficaria* (např. Tutin & Cook 1993; Duchoslav & Trávníček 2019). Každý přístup má své opodstatnění a v současnosti nelze rozhodnout, který z výše zmiňovaných přístupů je nejvhodnější (Veldkamp 2015). Kvůli dosud neujasněné taxonomické hodnotě jednotlivých taxonů jsem v této diplomové práci zvolila provizorní hodnocení všech taxonů na úrovni poddruhů sensu Veldkamp (2015), přestože některé taxony se zdají být dobře diferencované a zasloužily by si hodnocení na úrovni druhu.

Značná morfologická variabilita rodu *Ficaria* měla za následek popis velkého množství taxonů, vesměs však s nízkou taxonomickou hodnotou (Veldkamp 2015). K nomenklatorickému zmatku přispěly i nejasnosti ohledně poddruhové příslušnosti typové položky druhu *Ranunculus ficaria*. Relativně nedávno se ukázalo, že jméno *Ranunculus ficaria* subsp. *ficaria*, resp. *Ficaria verna* subsp. *verna*, bylo mnohými autory chybně používáno pro diploidní taxon bez pacibulek. Ve skutečnosti však herbářová položka, kterou bylo třeba přijmout za nomenklatorický typ, představuje tetraploidní taxon s pacibulkami, dříve označovaný jako *R. ficaria* subsp. *bulbi(li)fer*, resp. *F. verna* subsp. *bulbi(li)fera* (Laegaard 2001; Veldkamp 2015). Přehled nomenklatury jednotlivých taxonů podle pojetí vybraných autorů je v tabulce 1. V tabulce 2 jsou uvedeny převažující ploidní úrovně, hlavní morfologické znaky a geografické rozšíření jednotlivých taxonů. Tabulka 3 pak zobrazuje přehled publikovaných ploidních úrovní pro jednotlivé taxony.

První souhrnnou studii zabývající se rodem *Ficaria* v celoevropském měřítku publikoval Sell (1994). Součástí této převážně taxonomicky a nomenklatoricky pojeté studie je i klíč k determinaci pěti evropských poddruhů. Dosud nejucelenější studii zabývající se nomenklaturou a geografickým rozšířením taxonů rodu *Ficaria* pak publikoval Veldkamp (2015), který předkládá klíč k určení všech sedmi rozlišovaných poddruhů. Zonneveld (2015) na základě dodatečného znaku – velikosti genomu – považuje za vhodnější považovat jednotlivé poddruhy za samostatné druhy, bohužel však zcela přehlíží morfologii a geografický původ studovaného materiálu. Je zřejmé, že k vymezení taxonů rodu *Ficaria* a pochopení evolučních vztahů mezi nimi bude nutné použít kombinaci molekulárních, cytogenetických a morfologických metod.

Přestože studií zabývajících se srovnáním morfologie taxonů rodu *Ficaria* je celá řada (např. Marsden-Jones & Turrill 1952; Veselá 1969; Drenckhahn 2016), většinou tyto studie pracují s rostlinným materiálem z omezeného geografického území, některé navíc pouze s herbářovými položkami (Post et al. 2009). V determinačních klíčích bývá uváděno jen

málo znaků kvalitativního charakteru; obvykle bývá velký význam pro determinaci přisuzován velikosti listů, květů a nažek (např. Sell 1994; Veldkamp 2015; Vázquez 2016). Přitom je ale známo, že rostlinné orgány jsou, co se týče velikosti, značně plastické, tedy pod silným vlivem prostředí (např. Navas & Garnier 2002; Xu et al. 2008; Fritz et al. 2018).

V poslední době se hojně využívá analýza tvaru rostlinných částí pomocí metod geometrické morfometrie (zejména generalizovaná proskrustovská analýza – GPA a eliptická Fourierova analýza – EFA). Tyto metody bývají v botanice nejčastěji využívány při řešení taxonomických otázek (Viscosi & Cardini 2011) a jejich efektivita byla opakovaně prokázána v mnoha studiích (např. Viscosi et al. 2009; López-Sampson & Page 2018; Karbstein et al. 2020). Pomocí metod geometrické morfometrie lze studovat například tvar květů (Shipunov & Bateman 2005; Chen et al. 2018), korunních lístků (Yoshioka et al. 2004) či pylových zrn (Bonhomme et al. 2013), avšak nejčastěji bývají tyto metody aplikovány na listy (např. Furuta et al. 1995; Soares et al. 2011; Chitwood & Otoni 2017; Liu et al. 2018; López-Sampson & Page 2018). Jednou z výhod použití právě listů je skutečnost, že determinace podle listů je možná i v případě, kdy rostlina nemá vyvinuty reprodukční orgány (Soares et al. 2011; López-Sampson & Page 2018). Navíc listy obvykle bývají na jedné rostlině ve více kusech a jsou dvourozměrné, což znamená, že se na ně metody geometrické morfometrie snadno aplikují. Komplexním srovnáním tvaru listů v rodě *Ficaria* se ale doposud žádná studie nezabývala. Analýza tvaru listů by tedy mohla přispět k lepšímu pochopení taxonomické problematiky orsejů.

Tab. 1: Vnitrorodové taxonomické členění orsejů (*Ficaria*) podle pojetí vybraných autorů. Pomlčka značí, že daný taxon nebyl předmětem studia a nebyl v dané práci zmíněn. Nomenklatorické pojetí použité v této diplomové práci (Veldkamp 2015) je zvýrazněno tučně.

Tutin & Cook 1993	Sell 1994	Banfi et al. 2011	Veldkamp 2015	Zonneveld 2015
<i>R. ficaria</i> subsp. <i>calthifolius</i>	<i>R. ficaria</i> subsp. <i>calthifolius</i>	<i>F. calthifolia</i>	<i>F. verna</i> subsp. <i>calthifolia</i>	<i>F. calthifolia</i> + <i>F. stepporum</i>
<i>R. ficaria</i> subsp. <i>ficaria</i>	<i>R. ficaria</i> subsp. <i>ficaria</i>	<i>F. fertilis</i>	<i>F. verna</i> subsp. <i>fertilis</i>	<i>F. ambigua</i>
<i>R. ficaria</i> subsp. <i>ficariiformis</i>	<i>R. ficaria</i> subsp. <i>ficariiformis</i>	<i>F. grandiflora</i>	<i>F. verna</i> subsp. <i>ficariiformis</i>	<i>F. grandiflora</i>
<i>R. ficarioides</i>	–	–	<i>F. verna</i> subsp. <i>ficarioides</i>	<i>F. ficarioides</i>
<i>R. ficaria</i> subsp. <i>chrysocephalus</i>	<i>R. ficaria</i> subsp. <i>chrysocephalus</i>	<i>F. chrysocephala</i>	<i>F. verna</i> subsp. <i>chrysocephala</i>	<i>F. chrysocephala</i>
–	–	–	<i>F. verna</i> subsp. <i>kochii</i>	<i>F. fascicularis</i>
<i>R. ficaria</i> subsp. <i>bulbilifer</i>	<i>R. ficaria</i> subsp. <i>bulbilifer</i>	<i>F. verna</i>	<i>F. verna</i> subsp. <i>verna</i>	<i>F. verna</i>

Tab. 2: Srovnání poddruhů orseje jarního (*Ficaria verna*) sensu Veldkamp 2015 (ploidní úroveň, důležité morfologické znaky, rozšíření).

	subsp. <i>verna</i>	subsp. <i>calthifolia</i>	subsp. <i>fertilis</i>	subsp. <i>ficariiformis</i>	subsp. <i>chrysocephala</i>	subsp. <i>ficarioides</i>	subsp. <i>kochii</i>
Obvyklá ploidní úroveň a počet chromozomů (2n) (Tutin & Cook 1993, Sell 1994, Gadnidze et al. 1998, Zonneveld 2015, Drenckhahn 2016)	2n = 4x = 32	2n = 2x = 16	2n = 2x = 16	2n = 4x = 32	2n = 4x = 32	2n = 2x = 16	2n = 2x = 16
Tvorba pacibulek v paždí listů (Sell 1994, Veldkamp 2015)	ano	ne	ne	ano	ne	ne	ne
Charakter růstu (Veldkamp 2015, Drenckhahn 2016, Vázquez 2016)	poléhavý	vzpřímený	vzpřímený až vystoupavý	vzpřímený	vzpřímený	poléhavý až vzpřímený	vzpřímený
Maximální rozměry listové čepele (délka × šířka, cm) (Veldkamp 2015)	4 × 5,7	4 × 4	5 × 5	6 × 6,5	8 × 9	4 × 4,5	4 × 3
Průměr květu (mm) (Veldkamp 2015)	13–30	23–50	20–45	35–55	40–60	17–23	22–45
Rozměry korunních lístků (délka × šířka, mm) (Veldkamp 2015)	6–13 × 2–5	10–23 × 2,5–6	10–20 × 4–9	17–26 × 4–12	18–25 × 9–18	7–10 × ?	10–20 × 3
Překrytí korunních lístků (Marsden-Jones 1935, Veldkamp 2015)	většinou se nepřekrývají	více nebo méně se překrývají	většinou se překrývají	někdy se překrývají	někdy se překrývají	nepřekrývají se	někdy se překrývají
Rozměry nažek (délka × šířka, mm) (Veldkamp 2015)	většinou nevyvinuté	2,5 × 2	2,5–3,5 × 1,7–2,2	do 4–5 × 2,5–3,5	3–4 × 2–2,5	?	2 × ?
Původní areál (Hand 2006, Veldkamp 2015, Hassler 2022)	z. Evropa až stř. Asie	Itálie, stř. a jv. Evropa, jih v. Evropy až do evropské části Ruska, Kavkaz	z. a jz. Evropa, Itálie	mediterán	Řecko (včetně Kréty), Kypr, jz. Turecko	Řecko (včetně Kréty), Kypr, Turecko, Irán, Kavkaz a Zakavkazsko	Turecko, Irák, Írán, Zakavkazsko, Turkmenistán

Tab. 3: Příklady literárních zdrojů uvádějících příslušnou ploidní úroveň pro jednotlivé taxony rodu *Ficaria*. Pouze v některých z uvedených studií byla ploidní úroveň stanovena počítáním chromozomů. Pokud byla ploidní úroveň pouze odhadnuta pomocí průtokové cytometrie nebo pokud se z jiného důvodu jedná o pochybný údaj (např. nejistá taxonomická příslušnost studovaného materiálu, nejasný primární zdroj informace), je daný zdroj označen hvězdičkou.

Taxon	2n = 2x = 16	2n = 3x = 24	2n = 4x = 32	2n = 5x = 40	2n = 6x = 48
<i>F. verna</i> subsp. <i>calthifolia</i>	Pogan & Wcislo 1974, Papeš & Trinajstić 1981, Popelka et al. 2019a	Drenckhahn 2016*	Soó & Borhidi 1966*, Ciocârlan 2009*, Drenckhahn et al. 2017*	Drenckhahn 2016*	Soó & Borhidi 1966*, Ciocârlan 2009*
<i>F. verna</i> subsp. <i>fertilis</i>	Marsden-Jones 1935, Gill et al. 1972, Sell 1994, Zonneveld 2015				
<i>F. verna</i> subsp. <i>ficariiformis</i>			Sell 1994, Banfi et al. 2011*	Konečná 2018*	
<i>F. verna</i> subsp. <i>ficarioides</i>	Papeš & Trinajstić 1981, Tutin & Cook 1993*				
<i>F. verna</i> subsp. <i>chrysocephala</i>			Baltisberger & Widmer 2005, Banfi et al. 2011*, Zonneveld 2015		
<i>F. verna</i> subsp. <i>kochii</i>	Gadnidze et al. 1998				
<i>F. ×sellii</i> (<i>F. verna</i> subsp. <i>verna</i> × <i>F. verna</i> subsp. <i>calthifolia</i>)		Popelka et al. 2019a			
<i>F. verna</i> subsp. <i>verna</i>	Tröhler 1976*, Konečná 2018*	Tröhler 1976*, Anders-Gasser 1985*, Konečná 2018*	Marsden-Jones 1935, Pogan & Wcislo 1974, Papeš & Trinajstić 1981, Popelka et al. 2019a	Anders-Gasser 1985*	Soó & Borhidi 1966*

2 Cíle práce

Rod *Ficaria* představuje složitý polyploidní komplex s dosud nevyjasněnou taxonomií. Existence více ploidních úrovní, hybridizace a značná fenotypová plasticita generují mimořádnou morfologickou variabilitu. Z toho důvodu je zapotřebí prověřit již používané morfologické znaky umožňující rozlišování taxonů, resp. pokusit se nalézt další diagnostické znaky. Cíle této diplomové práce jsou proto následující:

- nasbírat soubor dat o morfologii studovaných taxonů s využitím rostlin pocházejících z celého areálu rodu a zapěstovaných v uniformních podmínkách pokusné zahrady
- analyzovat data pomocí jedno- a mnohorozměrných statistických metod
- pokusit se najít nové znaky použitelné pro rozlišení studovaných taxonů
- analyzovat tvar listů pomocí jedné z metod geometrické morfometrie – eliptické Fourierovy analýzy
- na základě získaných poznatků zhodnotit morfologickou diferenciaci jednotlivých taxonů a nastínit další směr taxonomického výzkumu rodu

3 Literární rešerše

3.1 Popis morfologie rodu *Ficaria*

Orseje jsou vytrvalé klonální suchozemské byliny, jejichž charakteristickým znakem je přítomnost dvou typů kořenů (vláknité a hlízovité kořeny). Zatímco vláknité kořeny plní absorpční funkci, hlízovité kořeny uchovávají škrob a slouží též k vegetativnímu rozmnožování (Taylor & Markham 1978). Hlízovité kořeny u rodu *Ficaria* jsou vřetenovitého až kyjovitého tvaru, 5–50 mm dlouhé a 3,5–6 mm široké (Sell 1994).

Lodyhy jsou vzpřímené, vystoupavé nebo poléhavé (Veldkamp 2015; Drenckhahn 2016), dlouhé 3–40 cm, lysé, větvené, na bázi často v nodech kořenující (Sell 1994). Báze lodyh může být díky přítomnosti anthokyanů červenofialově naběhlá (Sell 1994; Veldkamp 2015; Drenckhahn 2016).

Listy jsou jednoduché, bez palistů (Stace 2010), masité, lysé nebo téměř lysé, středně až tmavě zelené (Sell 1994). Čepel je 0,5–8,0 cm dlouhá a 0,5–9,0 cm široká a řapíky mohou dorůstat do délky 28 cm (Sell 1994). Na svrchní straně čepele často bývají bělavé skvrny anebo tmavé skvrny tvořené anthokyanem (Marsden-Jones & Turrill 1952; Taylor & Markham 1978), které s věkem listu vybledávají (Marsden-Jones & Turrill 1952). Okraj listů je u většiny taxonů celokrajný až vroubkovaný (Taylor & Markham 1978; Sell 1994), zřídka i zubatý nebo laločnatý (Tutin & Cook 1993). Charakter okraje čepele má genetický základ, avšak souvisí i se stářím a pozicí listu (Marsden-Jones & Turrill 1952; Taylor & Markham 1978). Nejčlenitější okraj mívají obvykle malé listy na kvetoucích lodyhách (Taylor & Markham 1978). U některých taxonů se v paždí listů vytvářejí bělavé nebo světle hnědé rozmnožovací pacibulky (Sell 1994), které z anatomického hlediska představují adventivní kořeny (Halket 1927; Metcalfe 1938). Vyrůstají v úžlabí listů po jedné až po třech (Halket 1927).

Obvykle oboupohlavné květy vyrůstají na květních stopkách jednotlivě (Taylor & Markham 1978; Sell 1994). Kališní lístky jsou obvykle tři, vzácně více. Jsou vejčité až vejčitě kopinaté, bledě zelené, konkávní. Korunních lístků je 7–13 a dosahují délky 6–26 mm a šířky 3–15 mm. Průměr květů se pohybuje od 15 až do 60 mm (Sell 1994). Korunní lístky jsou podlouhlé nebo obkopinaté, citronově žluté, z vnitřní strany lesklé, z vnější matné (Taylor & Markham 1978; Sell 1994) a často naběhlé do fialova kvůli obsahu anthokyanů (Marsden-Jones & Turrill 1952). Na jejich vnitřní straně se nachází nektarium (Stace 2010). Gyneceum je apokarpické, tvořené 5–72 plodolisty. Podobně vysoký je i počet tyčinek v jednom květu. Nažky jsou kulovité až obvejčité, kýlnaté, s klínovitou bází a nepatrným

zobánkem. Jsou uspořádané do kulovitého souplodí a na povrchu nesou několik až mnoho krátkých nežláznatých chlupů. Zralé nažky jsou 2,5–5 mm dlouhé a 1,7–3,5 mm široké (Sell 1994). Semenáčky rodu orsej se vyznačují přítomností pouze jednoho děložního lístku (Metcalf 1936; Förster 1997).

3.2 Reprodukce, hybridizace a evoluční původ zástupců rodu *Ficaria*

Zástupci rodu *Ficaria* jsou cizosprašné a do značné míry autoinkompatibilní rostliny. Po experimentálním samoopylení nevznikají žádné plody (nažky), nebo jen ve velmi omezeném množství (Marsden-Jones 1935; Pogan & Wcisło 1981a; Konečná 2021). Opylování je zajišťováno hmyzem (Marsden-Jones 1935; Sell 1994) a nažky jsou šířeny mravenci, kteří jsou přitahováni elaiosomy, dužnatými tělisky při bázi nažek (Gorb & Gorb 2003). Kromě generativního rozmnožování má v rodě *Ficaria* velký význam i vegetativní šíření. Jak již bylo zmíněno, probíhá prostřednictvím kořenových hlíz (Taylor & Markham 1978; Sell 1994) a v případě *F. verna* subsp. *verna* a *F. verna* subsp. *ficariiformis* též pomocí pacibulek vytvářejících se v úžlabí listů (Sell 1994; Veldkamp 2015). Schopnost orsejů rychle se šířit souvisí s možností transportu všech zmíněných typů propagulí vodními toky (Axtell et al. 2010; Masters & Emery 2015).

I když jednotlivé taxony rodu *Ficaria* mají tendenci vikarizovat, některé se v rozsáhlých územích vyskytují sympatricky (Sell 1994). Nedostatečně vytvořené pre- a postzygotické reprodukčně izolační mechanismy (Konečná 2021) umožňují minimálně u části taxonů mezitaxonovou hybridizaci, k níž u některých dvojic taxonů dochází i v přirozených podmínkách. Udávána je zejména hybridizace mezi tetraploidní *F. verna* subsp. *verna* a diploidní *F. verna* subsp. *calthifolia* (Pogan & Wcisło 1974; Kästner & Fischer 2006; Drenckhahn 2016; Popelka et al. 2019a, 2019b), vedoucí k triploidnímu hybridu. Tento hybrid, morfologicky intermediární mezi rodiči, byl nedávno popsán z České republiky jako *Ficaria* ×*sellii* a může se rozmnožovat pouze vegetativně, a to nejen kořenovými hlízami, ale též pomocí pacibulek, které jsou ale menší a ne tak četné jako u *F. verna* subsp. *verna* (Popelka et al. 2019b).

Triploidní rostliny jsou známy i z Velké Británie, kde se patrně jedná o produkty hybridizace mezi diploidní *F. verna* subsp. *fertilis* a tetraploidní *F. verna* subsp. *verna* (Marchant & Brighton 1974; Nicholson 1983; Sell 1994). U těchto triploidních jedinců nebyly zaznamenány vyvinuté nažky a jsou zřejmě stejně jako *F. ×sellii* odkázáni na vegetativní šíření. Tvorba pacibulek je u nich také známa, pacibulky se ale vyskytují jen u některých jedinců a bývají menší než u *F. verna* subsp. *verna* (Gill et al. 1972). Také z

Pyrenejského poloostrova jsou uváděny triploidní sterilní rostliny pravděpodobně hybridogenního původu (Barros Neves 1942; Diosdado & Pastor 1993).

Centrum diverzity rodu *Ficaria* se nachází na Apeninském poloostrově, kde se v současnosti vyskytují čtyři taxony. Je možné, že tato oblast sehrála důležitou roli v evoluci celého rodu (Drenckhahn et al. 2017). O evolučním původu jednotlivých taxonů toho není příliš známo. Pro nejběžnější *F. verna* subsp. *verna* byl hypotetizován alotetraploidní původ, kdy jako rodičovské taxony mohly figurovat *F. verna* subsp. *calthifolia* a *F. verna* subsp. *fertilis* (Zonneveld 2015). Později byla publikována hypotéza o dvojím nezávislém vzniku *F. verna* subsp. *verna*, a to autopolyloidizací předka *F. verna* subsp. *calthifolia* (východní linie) a autopolyloidizací předka *F. verna* subsp. *fertilis* (západní linie) (Drenckhahn et al. 2017). Tato hypotéza byla vyslovena na základě zjištění, že v rámci *F. verna* subsp. *verna* je možné rozlišit dvě skupiny s různou velikostí genomu, přičemž hranici jejich rozšíření představuje tok řeky Rýn. Na území Nizozemska lze pak vymezit ještě třetí skupinu s intermediární velikostí genomu, která patrně vznikla hybridizací mezi oběma liniemi (Drenckhahn et al. 2017). Je tedy možné, že taxon označovaný jako *F. verna* subsp. *verna* je ve skutečnosti heterogenní jednotkou tvořenou dvěma taxony s odlišnou evoluční historií. Dále Drenckhahn et al. (2017) uvažují, že diploidní předek se z Apeninského poloostrova mohl rozšířit do Řecka a dát vzniknout *F. verna* subsp. *ficarioides*, z níž se následně mohly vyvinout ostatní taxony rozšířené v oblasti východního Středomoří.

3.3 Determinační znaky používané v rodě *Ficaria*

Důležitým determinačním znakem běžně uváděným v klíčích je přítomnost, resp. nepřítomnost pacibulek v paždí listů. Tento znak je obecně považován za spolehlivý a odlišuje *F. verna* subsp. *verna* a *ficariiformis* od zbylých taxonů, ovšem jeho nedostatkem je, že se pacibulky začínají vytvářet až v průběhu kvetení a dobře viditelné jsou až po odkvětu rostlin – časně sebrané exempláře mohou být z toho důvodu mylně určeny (Heywood & Walker 1961; Veldkamp 2015). Dalšími často uváděnými determinačními znaky jsou např. charakter růstu, velikost listů, průměr květů a rozměry korunních lístků či nažek (Sell 1994; Veldkamp 2015; Vázquez 2016). Celkově nejrobustnější jsou *F. verna* subsp. *ficariiformis* a *F. verna* subsp. *chrysocephala*, čemuž odpovídají také největší rozměry vegetativních i generativních orgánů u těchto poddruhů (Sell 1994; Veldkamp 2015). Naopak vzrůstem nejmenší (do 10 cm) jsou horské taxony *F. verna* subsp. *kochii* a *F. verna* subsp. *ficarioides* (Ovchinnikov 1937). *Ficaria verna* subsp. *ficarioides* je s ostatními taxony prakticky nezaměnitelná díky hruběji vroubkovanému či zubatému nebo až mělce laločnatému okraji

čepel (Tutin & Cook 1993). Srovnání některých morfologických znaků mezi taxony ukazuje tabulka 2 v úvodu.

Rozdíly mezi taxony lze najít i v počtu vyvinutých nažek v souplodí (Marsden-Jones 1935; Popelka et al. 2019b). Ačkoliv na počet vyvinutých nažek mohou mít vliv např. environmentální faktory (Marsden-Jones 1935) či genetická struktura populace (Popelka et al. 2019b), obecně bývá nízký počet vyvinutých nažek v souplodí udáván jako charakteristický znak pro *F. verna* subsp. *verna* (Marsden-Jones 1935; Taylor & Markham 1978; Wcisło & Pogan 1981), což souvisí s poruchami mikro- a megasporogeneze (Pogan & Wcisło 1981a, 1981b; Wcisło & Pogan 1981), které jsou obecně u polyploidů běžné (např. Ramsey & Schemske 2002; Hollister 2015). Nízký počet vyvinutých nažek v souplodí může poukazovat na hybridní původ jedince. Taxon *F. ×sellii* produkuje jen zanedbatelné množství vyvinutých nažek (Pogan & Wcisło 1974; Popelka et al. 2019b), zatímco u triploidních rostlin z Velké Británie a Pyrenejského poloostrova nebyla tvorba vyvinutých nažek vůbec zaznamenána (Barros Neves 1942; Gill et al. 1972; Diosdado & Pastor 1993).

Existuje velký počet studií srovnávajících morfologii *F. verna* subsp. *verna* a *F. verna* subsp. *fertilis* nebo *F. verna* subsp. *verna* a *F. verna* subsp. *calthifolia*. Některé další morfologické znaky, u nichž jsou různými autory zmiňovány rozdíly mezi těmito taxony a které nejsou zmíněny v tabulce 2, jsou uvedeny v tabulkách 4 a 5. První jmenovanou dvojicí se zabývali zejména britští (Marsden-Jones 1935; Marsden-Jones & Turrill 1952; Heywood & Walker 1961) a nizozemští autoři (Andreas 1954; Gadella 1977). Determinačním znakům mezi *F. verna* subsp. *verna* a *F. verna* subsp. *calthifolia* se pak věnovali středoevropští botanici (Veselá 1969; Kästner & Fischer 2006; Drenckhahn 2016). Důkladné morfologické srovnání *F. verna* subsp. *verna*, *F. verna* subsp. *calthifolia* a jejich hybrida, *Ficaria ×sellii*, publikovali Popelka et al. (2019b).

Tab. 4: Vybrané morfologické znaky, kterými se odlišují *Ficaria verna* subsp. *fertilis* a *F. v.* subsp. *verna*.

znak	subsp. <i>fertilis</i>	subsp. <i>verna</i>
okraj listové čepel (Marsden-Jones & Turrill 1952)	více zubatý/vroubkovaný	méně zubatý/vroubkovaný
skvrnitost listů (Marsden-Jones & Turrill 1952, Marchant & Brighton 1974)	více skvrnité listy	méně skvrnité listy
množství anthokyanů na abaxiální straně korunních lístků (Marsden-Jones & Turrill 1952)	více	méně
počet napohled vyvinutých nažek v jednom souplodí (Marsden-Jones 1935)	0–39	0–6

Tab. 5: Vybrané morfologické znaky, kterými se odlišují *Ficaria verna* subsp. *calthifolia* a *F. v.* subsp. *verna*.

znak	subsp. <i>calthifolia</i>	subsp. <i>verna</i>
přítomnost listové růžice (přeslenu) (Duchoslav & Trávníček 2019)	ano	ne
lodyha (Křisa 1988)	nekořenující	kořenující
velikost listů na lodyze (Duchoslav & Trávníček 2019)	všechny listy ± stejně velké	směrem vzhůru se listy zmenšují
mezera mezi bazálními laloky listu (Ovchinnikov 1937, Kästner & Fischer 2006)	užší (bazální laloky se často překrývají)	širší (bazální laloky se většinou nepřekrývají)
tvár vroubků na listech a umístění hydratod (Kästner & Fischer 2006)	vroubky uprostřed mělce vykrojené, s hydratodou v této prohlubni	vroubky uprostřed nezřetelně zašpičatělé, s hydratodou ve špičce
anthokyany v bazální části lodyhy a v řapících (Drenckhahn 2016)	chybí	často přítomny
poměr délka/šířka korunních lístků (Veselá 1969, Popelka et al. 2019b)	nižší (korunní lístky relativně širší)	vyšší (korunní lístky relativně užší)
délka a šířka nektariových šupinek (μm) (Veselá 1969)	990–1200 × 540–690	810–930 × 570–750
nažky (Drenckhahn 2016)	většinou plně vyvinuté	většinou nevyvinuté

U některých uváděných determinačních znaků byla pozdějšími autory zpochybněna jejich spolehlivost. Na nespolehlivost znaku překrytí korunních lístků pro odlišení *F. verna* subsp. *verna* a *F. verna* subsp. *fertilis* poukázali Heywood & Walker (1961). Tito autoři zpochybnili i platnost dalších znaků na květech (počet tyčinek a plodolistů v jednom květu a počet korunních lístků) uváděných ve studii Marsden-Jones (1935) jako determinační znaky pro odlišení *F. verna* subsp. *verna* a *F. verna* subsp. *fertilis*. Za jediný spolehlivý znak pro odlišení těchto dvou taxonů považují Heywood & Walker (1961) tvorbu pacibulek v úžlabí listů. Stejně tak byl zpochybněn i význam pozice hydratod na listech pro rozlišení *F. verna* subsp. *calthifolia* a *F. verna* subsp. *verna* (Drenckhahn 2016; Popelka et al. 2019b).

Kromě morfologických znaků se mnozí autoři pokoušeli najít i další znaky (cytologické, anatomické), které by bylo možné využít při determinaci taxonů rodu *Ficaria*. Například délka průduchů na spodní straně listů (Tröhler 1976; Konečná 2018) a na abaxiální straně kališních lístků (Veselá 1969) může být použita pro identifikaci ploidních úrovní, a tedy i některých taxonů lišících se velikostí genomu. Zatímco Konečná (2018) u rodu *Ficaria* zjistila silnou pozitivní korelaci mezi délkou průduchů (na listech odebraných na konci vegetační sezony) a velikostí genomu, Tröhler (1976) naopak udává delší průduchy

u diploidní *F. verna* subsp. *verna* ve srovnání s triploidní *F. verna* subsp. *verna* a Veselá (1969) delší průduchy u diploidní *F. verna* subsp. *calthifolia* ve srovnání s tetraploidní *F. verna* subsp. *verna*. Rozporuplné výsledky lze vysvětlit rozdílnou dobou odběru listů či použitím různých rostlinných orgánů (Konečná 2018). K rozlišení *F. verna* subsp. *verna*, *F. verna* subsp. *fertilis* a jejich triploidních hybridů lze využít počet chloroplastů ve vedlejších buňkách průduchů na spodní straně listu (Nicholson 1981).

Velikost pylových zrn je dalším znakem, u něhož existují signifikantní rozdíly mezi taxony (Pogan & Wcisło 1981a; Popelka et al. 2019b; Konečná 2021). Velikost pylových zrn u orsejů totiž pozitivně koreluje s ploidní úrovní, resp. velikostí genomu. Protože rozdíly ve velikosti pylových zrn mezi taxony jsou malé a rozpětí velikostí se překrývají, spolehlivá identifikace jednotlivých taxonů pouze podle velikosti pylových zrn není možná. Zejména u vyšších ploidních úrovní navíc existují velké rozdíly v průměrné velikosti pylových zrn mezi různými jedinci (Konečná 2021).

3.4 Analýza tvaru

3.4.1 Tradiční morfometrie

Tvar a velikost patří mezi nejdůležitější znaky pro identifikaci biologických i jiných objektů (Urbanová & Králík 2009). Na rozmanitosti tvaru jedinců a jejich částí se může podílet řada faktorů, jako například ontogenetický vývoj, mutace, choroby, adaptace na lokální geografické podmínky či dlouhodobá evoluční diverzifikace. Analýza tvaru tedy nachází uplatnění v mnoha oblastech biologie (Zelditch et al. 2012). Metodami kvantitativního popisu a statistické analýzy tvaru organismů a jejich částí se zabývá morfometrie (Rohlf & Marcus 1993; Zelditch et al. 2012). Morfometrie je podoborem statistiky a její historii lze datovat do samých počátků existence statistiky, tj. do 18. století (Mitteroecker & Gunz 2009).

Zavádění mnohorozměrných statistických technik (jako jsou analýza hlavních komponent (PCA), faktorová analýza či diskriminační analýza) v první polovině 20. století vedlo ke vzniku tzv. tradiční morfometrie (*traditional morphometrics*) (Rohlf & Marcus 1993; Adams et al. 2004; Urbanová & Králík 2009), též označované jako mnohorozměrná morfometrie (*multivariate morphometrics*) (Blackith & Reyment 1971; Mitteroecker & Gunz 2009). V česky psaných textech se lze setkat také s termínem klasická morfometrie (Urbanová & Králík 2009). Tradiční morfometrie získává data prostým měřením délky, šířky a výšky objektu (Zelditch et al. 2012). Kromě lineárních vzdáleností mohou být zahrnuty i počty, poměry a velikosti úhlů (Adams et al. 2004).

Výhodou tradiční morfometrie je, že k získání výše uvedených údajů postačí jednoduché měřicí vybavení. Technická nenáročnost je ale bohužel provázena velmi zjednodušeným popisem tvaru (Urbanová & Králík 2009). Informace o tvaru se při použití tradiční morfometrie získává velmi obtížně a hlavním zdrojem rozdílů mezi objekty se stává jejich velikost (Zelditch et al. 2012). Zcela totožné vzdálenosti mohou být změřeny na různých tvarech, což lze demonstrovat na příkladu dvou objektů o stejné maximální délce a šířce, z nichž jeden je oválného tvaru a druhý má tvar kapky (Adams et al. 2004). Dále platí, že možnost přesné lokalizace tvarových rozdílů se snižuje s rostoucí délkou měřené vzdálenosti. Informace o tvaru je obsažena v poměrech měřených rozměrů (Zelditch et al. 2012). Avšak v případě, kdy jsou si srovnávané objekty tvarově velmi podobné, ani použití sady poměrových znaků neumožňuje v dostatečné míře kvantifikovat tvar objektů (Rohlf & Archie 1984).

Další nedostatek tradiční morfometrie lze spatřovat v tom, že se jednotlivá měření často překrývají nebo jsou vedena ve stejném směru. To ve výsledku znamená, že část informace je redundantní. Navíc může vycházet více měření z jednoho bodu, což má za následek, že jejich hodnoty nejsou vzájemně nezávislé: jakákoliv změna v poloze tohoto bodu ovlivní všechna tato měření (Zelditch et al. 2012). Metody tradiční morfometrie bohužel neumožňují informaci o prostorových vztazích jednotlivých měření zohlednit při analýzách (Rohlf & Marcus 1993; Zelditch et al. 2012). Protože geometrické vztahy mezi proměnnými nejsou během analýz zachovány, nelze obvykle daný tvar graficky vizualizovat (Rohlf & Marcus 1993; Adams et al. 2004). Interpretaci výsledků pak ztěžuje fakt, že měřené lineární vzdálenosti nemusí být na všech studovaných objektech homologní, např. maximální šířka listu není definována homologními body (Adams et al. 2004; Zelditch et al. 2012).

3.4.1.1 Historický vývoj vizualizace výsledků

Rozdíly v tvaru objektů mohou být zobrazeny pomocí deformačních mřížek. Morfologická srovnání tvarů pomocí deformačních mřížek můžeme najít již v knize Albrechta Dürera „Vier Bücher von menschlicher Proportion“ (Čtyři knihy o proporcích lidského těla) z roku 1528 (Mitteroecker & Gunz 2009). Obecně uznávaným autorem vizualizace tvarových změn v biologii je D'Arcy Thompson, který ve svém spise „On growth and form“ (O růstu a tvaru) v roce 1917 zavedl přístup využívající transformační mřížky. Tyto mřížky zobrazovaly celkový tvar organismu jako zkřivení tvaru referenčního organismu. Podstatou bylo umístění kartézské souřadnicové mřížky přes referenční organismus a následná deformace obrazu organismu včetně mřížky tak, aby bylo dosaženo tvaru druhého organismu. Původní

jednoduchá čtvercová mřížka se tím ohýbala a protahovala do různých směrů. Thompson vytvářel mřížky subjektivně bez použití přesně daných význačných bodů (Rohlf & Slice 1990).

Až o několik desítek let později se o exaktnější popis pokusil Bookstein (Urbanová & Králík 2009). Ten zavedl pro data založená na význačných bodech tzv. metodu tenkých ohebných plátků (*thin plate spline*, TPS) (Bookstein 1989). Název odkazuje na model deformace tenkého kovového pásku, z něhož metoda vychází (Rohlf & Marcus 1993). Body jsou zobrazeny přesně, zatímco prostor mezi nimi je plynule interpolován tak, aby byla minimalizována tzv. deformační energie (*bending energy*) (Mitteroecker & Gunz 2009). Díky této metodě mohou být tedy rozdíly mezi dvěma konfiguracemi význačných bodů zobrazeny jako kontinuální deformace (Rohlf & Marcus 1993). Protože zobrazené tvarové změny jsou založeny na interpolační funkci, nelze ve skutečnosti z obrazu přesně říci, co se s křivkou mezi dvěma význačnými body děje. Minimalizací deformační energie sice získáme nejvíce parsimonní popis změny, avšak zejména v oblastech s řídko rozmístěnými význačnými body nedokáže TPS podat realistický obraz tvarových změn (Zelditch et al. 2012). Parametry popisující tvarové deformace (*partial warp scores*) mohou být použity jako tvarové proměnné pro statistické porovnání tvarových rozdílů uvnitř a mezi skupinami (Adams et al. 2004).

3.4.2 Geometrická morfometrie

Tvary, které lze jednoduše numericky popsat (např. trojúhelník) se v přírodě vyskytují velmi vzácně. Naprostá většina biologických objektů má nepravidelný tvar. Má-li být jejich tvar objektivně vyjádřen, je potřeba přistoupit k pokročilým metodám kvantitativního popisu tvaru (Urbanová & Králík 2009). Kvantitativní vyhodnocení tvaru biologických orgánů je vyžadováno v mnoha oborech, např. agronomii, medicíně, genetice, ekologii nebo taxonomii (Iwata & Ukai 2002).

Jak bylo naznačeno v předchozí kapitole, tradiční morfometrie není pro přesný popis tvaru dostačující. Proto se koncem 80. a začátkem 90. let 20. století začal měnit způsob kvantifikace morfologických struktur a analýzy dat. Do popředí se postupně dostaly metody, které dokážou zachytit geometrii morfologických struktur a během analýz zachovávají informaci o tvaru (Adams et al. 2004). To bylo umožněno vyvinutím metod založených na souřadnicích, objevením statistické teorie tvaru a vytvářením deformačních mřížek pomocí počítačů. Všeobecné zavádění rychlých osobních počítačů nastolilo novou éru analýzy dat tím, že umožnilo vyhodnocování a vizualizaci rozsáhlých mnohorozměrných datasetů

(Mitteroecker & Gunz 2009). Rohlf & Marcus (1993) tento prudký rozvoj morfometrických metod označují jako revoluci v morfometrii (*revolution in morphometrics*). Nový morfometrický přístup dostal název geometrická morfometrie (*geometric morphometrics*) (Mitteroecker & Gunz 2009).

Geometrická morfometrie je definována jako soubor metod pro získávání, zpracování a analýzu tvarových proměnných, které zachovávají veškerou geometrickou informaci obsaženou v datech (Slice 2005). Na rozdíl od tradiční morfometrie totiž metody geometrické morfometrie umožňují jednoznačně oddělit tvar od velikosti objektu (Urbanová & Králík 2009; Zelditch et al. 2012). To znamená, že velikostní rozdíly nepřekryjí rozdíly ve tvaru, ani když se srovnávané objekty výrazně liší ve svých velikostech (Zelditch et al. 2012). Jednou z hlavních výhod geometrické morfometrie je, že umožňuje získat informaci o prostorové lokalizaci tvarových rozdílů včetně jejich rozsahu (Zelditch et al. 2012). Na rozdíl od tradiční morfometrie nabízí metody geometrické morfometrie pestrou škálu moderních vizualizačních technik (Urbanová & Králík 2009) a výsledky je možné prezentovat v podobě skutečných tvarů (Mitteroecker & Gunz 2009). Z numerického vyjádření lze snadno rekonstruovat například nejčastější či průměrný tvar (Bonhomme et al. 2014).

Přesná morfometrická terminologie rozlišuje pojmy tvar (*shape*) a forma (*form*). Kendall (1977) definoval tvar jako geometrickou informaci, která objektu zůstane po odfiltrování jeho polohy, měřítka a otočení v prostoru. Zatímco tvar se nemění se změnou měřítka, pojem forma v sobě zahrnuje jak tvar, tak i velikost objektu (Mitteroecker & Gunz 2009). Označení tvarová proměnná se pak používá pro jakoukoliv geometrickou míru objektu, která se nemění se změnou polohy, velikosti a orientací objektu (Slice 2005). Každá sada tvarových proměnných kvantitativně vyjadřuje tvar konkrétního objektu (Urbanová & Králík 2009).

Analýza tvaru pomocí geometrické morfometrie sestává z několika fází: (1) sběr vstupních dat, (2) standardizace zkoumaných objektů v souladu s definicí tvaru, (3) výpočet tvarových proměnných, (4) mnohorozměrná analýza a (5) zpětná vizualizace tvarových změn (Urbanová & Králík 2009). Metody geometrické morfometrie lze rozdělit na metody analýzy význačných bodů a metody analýzy obrysu (Bookstein 1991).

3.4.2.1 Metody založené na analýze význačných bodů

Metody analýzy význačných bodů popisují tvar objektu a tvarové změny prostřednictvím biologicky definovaných význačných bodů (*landmarks*) (Adams et al. 2004). Význačné body

(také nazývané homologní body) jsou vzájemně oddělená místa, která mohou být rozeznána jako tentýž bod na všech studovaných objektech (Zelditch et al. 2012). Podle Bookstein (1991) jsou to body, které mají nejen své kartézské souřadnice, ale i jména (např. vrchol listu). Homologie bodů umožňuje úplnější biologickou interpretaci výsledků (Rohlf & Marcus 1993). V každém souboru dat můžeme vybrat libovolnou, ale smysluplnou kombinaci těchto bodů (Urbanová & Králík 2009). Informace není obsažena v jednotlivých homologních bodech, nýbrž v celkové konfiguraci bodů (Zelditch et al. 2012).

Při výběru význačných bodů je potřeba dodržet některé podmínky. Jak již bylo řečeno, mělo by se jednat o homologní biologické body. Tyto body musí být opakovaně a spolehlivě identifikovatelné. Význačné body by měly být rozmístěny tak, aby vypovídaly něco o morfologii, a také nesmí vzájemně měnit svou pozici. Jestliže chceme zobrazit konfiguraci význačných bodů trojrozměrných objektů v dvourozměrném prostoru, všechny objekty musí být při digitalizaci shodně orientovány a všechny význačné body se musí nacházet v jedné rovině (Zelditch et al. 2012).

Rozdíly v konfiguraci význačných bodů, které nejsou dány tvarem, se odstraní tzv. superimpozicí (Adams et al. 2004). Superimpoziční metody jsou založeny na myšlence překrytí obrazů dvou nebo více vzorků tak, aby si jejich význačné body co nejvíce odpovídaly svou polohou podle určitého optimalizačního kritéria (Rohlf & Marcus 1993). Tímto postupem jsou ze souboru konfigurací význačných bodů stanoveny parametry popisující tvar (Mitteroecker & Gunz 2009). Nejčastěji používanou superimpoziční metodou je generalizovaná prokrustovská analýza (*generalized Procrustes analysis*, GPA) (Adams et al. 2004).

GPA sestává z několika dílčích kroků. Nejprve jsou všechny konfigurace význačných bodů posunuty tak, aby sdílely společný centroid, který je obvykle stanoven jako počátek souřadnicového systému (Mitteroecker & Gunz 2009). Centroid představuje střed celé konfigurace a jeho pozici zjistíme zprůměrováním všech x a všech y souřadnic význačných bodů (Zelditch et al. 2012). V druhém kroku se upraví konfigurace význačných bodů tak, aby bylo dosaženo jednotné velikosti všech objektů, resp. aby všechny konfigurace měly stejnou centroidovou velikost (*centroid size*). Centroidová velikost je z matematického hlediska nezávislá na tvaru a vypočítá se jako druhá odmocnina součtu druhých mocnin vzdáleností všech význačných bodů od centroidu (Mitteroecker & Gunz 2009; Zelditch et al. 2012). Vyjadřuje disperzi význačných bodů v prostoru s využitím funkce jejich vzdáleností od centroidu: rozptýlené body mají centroidovou velikost velkou, body blízko u sebe malou (Viscosi & Cardini 2011). Konvenčně bývají všechny konfigurace zvětšeny či zmenšeny tak,

aby centroidová velikost byla rovna jedné (Mitteroecker & Gunz 2009). V posledním kroku jsou jednotlivé konfigurace otočeny okolo centroidu s cílem minimalizovat prostorové rozdíly všech význačných bodů. Používá se kritérium nejmenšího součtu čtverců, což znamená, že konfigurace význačných bodů jsou na sebe kladeny tak, aby součet druhých mocnin euklidovských vzdáleností mezi homologními význačnými body byl co nejmenší. Pokud jsou srovnávány více než dva objekty, probíhá tato rotace podle iterativního algoritmu (Mitteroecker & Gunz 2009). Ten spočívá v tom, že libovolný objekt je vybrán jako průměr a všechny ostatní konfigurace studovaného vzorku jsou upraveny podle této referenční konfigurace. Poté je vypočtena nová průměrná konfigurace a celý proces se opakuje až do chvíle, kdy je rozdíl mezi novou průměrnou konfigurací a předchozí konfigurací zanedbatelný, tj. kdy už suma čtverců odchylek neklesá o stanovenou kritickou hodnotu (Slice 2005).

Výsledné standardizované souřadnice nesoucí pouze informaci o tvaru se nazývají prokrustovské souřadnice a velikost vektoru mezi význačným bodem objektu a odpovídajícím bodem průměrné konfigurace se označuje jako prokrustovské reziduum (Urbanová & Králík 2009). Prokrustovská vzdálenost mezi dvěma objekty je pak dána součtem prokrustovských reziduí a vyjadřuje, jak moc jsou si konfigurace objektů podobné (Mitteroecker & Gunz 2009; Urbanová & Králík 2009). Rozdíly v souřadnicích homologních bodů mohou posloužit jako data pro následné mnohorozměrné analýzy (Adams et al. 2004).

Podobnou superimpoziční metodou je *two-point registration*, produkující tzv. booksteinovské tvarové souřadnice (Zelditch et al. 2012). Tato metoda, jejímž autorem je Bookstein (1991), je jakýsi předchůdce prokrustovské analýzy (Urbanová & Králík 2009). Její podstatou je, že dvěma bodům, představujícím koncové body základny, je přidělena fixní poloha (0, 0 a 1, 0) (Zelditch et al. 2012). Pro některé objekty, jako jsou např. keramické nádoby, je tato metoda výhodnější než použití pokročilejší prokrustovské analýzy (Urbanová & Králík 2009).

Prokrustovská superimpozice založená na kritériu nejmenších čtverců má jeden velký nedostatek: relativní pozice význačných bodů po superimpozici sice podchytí celkové tvarové rozdíly, ale nelze z nich vyčíst, který význačný bod nejvíce přispívá k výsledným rozdílům (Viscosi & Cardini 2011). Pokud je jen jeden nebo několik málo bodů objektu výrazně vychýleno ve své pozici ve srovnání s ostatními body, superimpozice vede k posunu a rotaci všech bodů. Tento jev bývá označován jako tzv. Pinocchio efekt: když srovnáme obličej této známé postavičky pomocí prokrustovských význačných bodů před lhaním a po

lhaní (tedy s prodlouženým nosem), při superimpozici postihne změna polohy všechny body, nikoliv pouze body na nose. Velká lokální změna tvaru se tedy rozloží mezi všechny význačné body, čímž se velký rozdíl v poloze jediného bodu zobrazí jako mnoho malých rozdílů (Slice 2005).

V případě, kdy je většina variability v tvaru objektů dána několika málo význačnými body, je proto vhodnější použít jinou metodu, tzv. robustní přizpůsobení (*resistant fit*) (Siegel & Benson 1982; Rohlf & Slice 1990; Slice 2005; Urbanová & Králík 2009). Siegel & Benson (1982) popsali tuto metodu pro dva srovnávané objekty, Rohlf & Slice (1990) rozšířili metodu tak, aby mohly být srovnávány více než dva dvourozměrné objekty zároveň (tzv. *generalized resistant fit*). Tento přístup stanovuje parametry pro superimpozici pomocí opakovaných mediánů (Siegel & Benson 1982). V částech, které se svým tvarem neliší, se po superimpozici budou body přesně překrývat, zatímco rozdílná část může být na první pohled identifikována podle velkých reziduálů. Metoda tak ve své podstatě snižuje vliv velkých tvarových deformací a umožňuje efektivněji identifikovat tvarové podobnosti a rozdíly než při použití kritéria nejmenších čtverců (Siegel & Benson 1982). Robustní přizpůsobení je tedy rezistentní vůči ulétlým hodnotám, tedy například i vůči chybě při digitalizaci bodu (Urbanová & Králík 2009). V případě absence Pinocchio efektu vede superimpozice pomocí této metody k podobným výsledkům jako GPA (Zelditch et al. 2012).

S metodami založenými na význačných bodech úzce souvisí problematika tvarových prostorů. Tvarový prostor, který vzniká prokrustovskou superimpozicí význačných bodů, se nazývá po svém objeviteli Kendallův prostor nebo také Kendallův prostor tvarových proměnných (Urbanová & Králík 2009; Mitteroecker & Gunz 2009). Představuje nejznámější prostor tvarových proměnných a lze ho chápat jako matematický konstrukt, který se neřídí stejnými zákonitostmi jako reálný trojrozměrný prostor a který nemá svůj ekvivalent v reálném světě (Urbanová & Králík 2009). Kendallův prostor ve skutečnosti není plochý, ale zakřivený – má podobu povrchu koule (Slice 2005; Mitteroecker & Gunz 2009). To má za následek, že empirická analýza založená na lineárních statistických metodách může být zkreslena nelinearitou tvarového prostoru, tedy že rozdíly v tvarových souřadnicích mohou být dány spíše zakřivením tvarového prostoru než skutečnými tvarovými rozdíly studovaných objektů (Mitteroecker & Gunz 2009).

Tvarové proměnné tedy nespĺňujú podmínky pro použití běžných vícerozměrných analýz, které jsou založeny na předpokladu lineárních vzdáleností mezi proměnnými. Tento problém lze obejít použitím neparametrických statistických metod, které nevyžadují lineární vztahy mezi vstupními proměnnými, jako je např. permutační test prokrustovských reziduí

pro zjištění, jestli se například statisticky liší průměrné tvary ve dvou populacích (Urbanová & Králík 2009).

Druhou možností je transformovat proměnné tak, aby byly splněny předpoklady pro použití parametrických testů (Urbanová & Králík 2009). Proměnné mohou být převedeny do lineárního prostoru, který má stejnou dimenzionalitu a může být zobrazen jako tangenciální k tvarovému prostoru. Tento tangenciální prostor představuje euklidovskou aproximaci Kendallova prostoru (Mitteroecker & Gunz 2009). Tangenciální rovina, na níž je vícerozměrný prostor tvarových proměnných převeden, je umístěna v bodě, v němž se nachází průměrný tvar analyzovaných objektů (Mitteroecker & Gunz 2009; Urbanová & Králík 2009). V tomto vícerozměrném tangenciálním prostoru jsou již vztahy mezi proměnnými lineární (Urbanová & Králík 2009). Podobně jako planární mapy zemského povrchu, i tangenciální prostor zkresluje relativní pozice objektů vzdálených od tečného bodu. Toto zkreslení je výrazné při srovnávání extrémně tvarově rozdílných objektů. Ve většině studií je ale variabilita ve tvarech vzhledem k zakřivení prostoru malá, takže i zkreslení je matematicky bezvýznamné (Zelditch et al. 2012).

Ignorování zakřivení tvarového prostoru a aplikace standardních mnohorozměrných metod na tvarové proměnné bez zobrazení v tangenciálním prostoru nemusí představovat u většiny datových souborů problém. Pokud je však větší část variability v datech dána změnou tvaru v jednom směru, může vést ke značnému zkreslení (Mitteroecker & Gunz 2009).

3.4.2.2 Metody analýzy obrysu

Metody založené na analýze význačných bodů mají jeden velký nedostatek: nelze je použít, pokud se na předmětu nenachází dostatečné množství homologních význačných bodů, resp. pokud se homologní body nenacházejí v místech, která nás z hlediska tvarových rozdílů zajímají. V takovém případě se nabízí použití metod analýzy obrysu (Adams et al. 2004; Bonhomme et al. 2014). Tyto metody pracují s geometrickou informací obsaženou v samotném obrysu a hodnotí obrys jako celek. Obrys představuje uzavřený polygon tvořený x a y souřadnicemi pixelů, které ho definují. Při metodách analýzy obrysu se stanovují parametry matematických funkcí, nikoliv relativní pozice význačných bodů po superimpozici (Bonhomme et al. 2014).

Nejčastěji používanou metodou analýzy obrysu je Fourierova analýza, využívající jako interpolační funkci tzv. Fourierovu transformaci (Urbanová & Králík 2009). Základem Fourierovy analýzy je myšlenka Fourierových řad, spočívající v dekompozici periodické

funkce do sumy jednodušších trigonometrických funkcí, jako jsou sinus a cosinus. Frekvence těchto jednoduchých funkcí jsou celočíselnými násobky jedna druhé, tj. jsou vzájemně harmonické. Uzavřené obrysy lze považovat za periodické funkce, a proto mohou být v morfometrii Fourierovy řady použity (Bonhomme et al. 2014).

Nejrozšířenější formou Fourierovy analýzy je tzv. eliptická Fourierova analýza (*Elliptic Fourier analysis*, EFA), kterou popsali Kuhl & Giardina (1982). Na počátku celého postupu je obrys zvoleného objektu softwarem automaticky převeden na soupis souřadnic okrajových pixelů tvaru (hraničních bodů), jež jsou uloženy ve formátu řetězového kódu (*chain code*). Pozici každého hraničního bodu lze zaznamenat z hlediska jeho směru a vzdálenosti od předchozího hraničního bodu a řetězový kód představuje sekvenci směrů hraničních segmentů, tj. linií spojujících dva přilehlé body (White et al. 1988).

Výsledkem Fourierových dekompozic je harmonický součet trigonometrických funkcí vážený harmonickými koeficienty (Bonhomme et al. 2014). Elipsa, která nejvíce odpovídá skutečnému obrysu analyzovaného tvaru, je definována čtyřmi těmito koeficienty. Ty dohromady tvoří první harmonickou proměnnou eliptické Fourierovy řady. Každá další harmonická proměnná přidá další čtyři koeficienty a s každou další harmonickou proměnnou se zvyšuje přesnost, s jakou aproximační křivka popisuje skutečný obrys tvaru objektu. Několik prvních Fourierových koeficientů popisuje spíše celkový tvar. Pokud je potřeba na obrysu zohlednit jemné detaily (např. okrajové zuby listů), je potřeba zvolit vyšší počet harmonických proměnných (White et al. 1988). Pro popis tvaru listů je obvykle dostačující použití 20 harmonických proměnných (Klein & Svoboda 2017).

Aby hodnoty koeficientů nebyly ovlivněny různou velikostí, natočením a různým počátečním bodem popisu tvaru, musí být koeficienty matematicky upraveny (normalizovány), čímž získáme tzv. normalizované eliptické Fourierovy koeficienty (Iwata & Ukai 2002; Bonhomme et al. 2014). Při počítačovém zpracování dat lze získat normalizované eliptické Fourierovy deskriptory přímo z informace uložené ve formě řetězového kódu (Iwata & Ukai 2002).

V konečném kroku může být sada normalizovaných eliptických Fourierových koeficientů analyzována jako sada tvarových deskriptorů obrysu v mnohorozměrných analýzách (White et al. 1988; Bonhomme et al. 2014). Použití mnohorozměrných metod je nezbytné, protože počet koeficientů je obecně velmi vysoký a význam jednotlivých koeficientů je obtížné interpretovat (Iwata & Ukai 2002). Z Fourierových koeficientů je možné vypočítat průměrné koeficienty a rekonstruovat tak průměrný obrys (Kincaid & Schneider 1983).

4 Metodika

4.1 Rostlinný materiál

Rostlinný materiál byl nasbírán mezi lety 2010–2020 různými botaniky převážně z pracovní skupiny dr. Duchoslava a pocházel z celého přirozeného areálu rozšíření rodu. Zahrnoval všechny sensu Veldkamp (2015) rozlišované taxony s výjimkou *F. verna* subsp. *kochii* a hybridní taxon *F. ×sellii* (viz seznam lokalit v příloze 1 a mapa lokalit na obr. 1). Studované taxony budou dále v textu označovány zkrácenými názvy (viz tab. 6).

Tab. 6: Přehled studovaných taxonů, jejich zkrácených názvů používaných dále v textu a zkratk používaných v některých grafech a tabulkách.

Taxon	Zkrácený název	Zkratka
<i>Ficaria verna</i> subsp. <i>calthifolia</i> (Rchb.) Rchb. ex Nyman	<i>calthifolia</i>	FC
<i>Ficaria verna</i> subsp. <i>chrysocephala</i> (P. D. Sell) Stace	<i>chrysocephala</i>	FCH
<i>Ficaria verna</i> subsp. <i>fertilis</i> (A. R. Clapham ex Laegaard) Stace	<i>fertilis</i>	FFE
<i>Ficaria verna</i> subsp. <i>ficariiformis</i> (F. W. Schultz) Soó	<i>ficariiformis</i>	FFI
<i>Ficaria verna</i> subsp. <i>ficarioides</i> (Bory & Chaub.) Veldk	<i>ficarioides</i>	FFO
<i>Ficaria ×sellii</i> Duchoslav, Popelka et Trávn.	<i>×sellii</i>	FS
<i>Ficaria verna</i> Huds. subsp. <i>verna</i>	<i>verna</i>	FV

Z jednotlivých lokalit bylo většinou sebráno 10 jedinců v dostatečné vzdálenosti, aby se omezil sběr klonů. Tyto rostliny byly převezeny a zapěstovány na experimentálním pozemku katedry botaniky PřF UP v Olomouci (pokusná zahrada). Jednotlivé rostliny byly zasazeny do plastových květináčů o rozměrech 8 × 8 × 8 cm částečně zapuštěných do půdy a naplněných směsí komerčního substrátu a půdy z pokusné zahrady v poměru 3 : 1. Plocha byla celá zastíněna zelenou síťovinou simulující polostín (relativní ozářenost ±70 %) a během sezony byly rostliny příležitostně zavlažovány. Z tohoto zapěstovaného materiálu byl proveden výběr populací pro morfologické studium tak, aby byly zároveň pokryty všechny taxony, jejich různé ploidie a jejich areál. Při výběru populací bylo také zohledňováno, zda byla daná populace dříve použita na molekulární analýzy či nikoliv. Do studie byly z tohoto předvýběru nakonec použity jen populace s dobře vyvinutými jedinci, zapěstované na pozemku několik let. Počet studovaných jedinců a populací jednotlivých taxonů a jejich ploidních úrovní je uveden v tabulce 7.

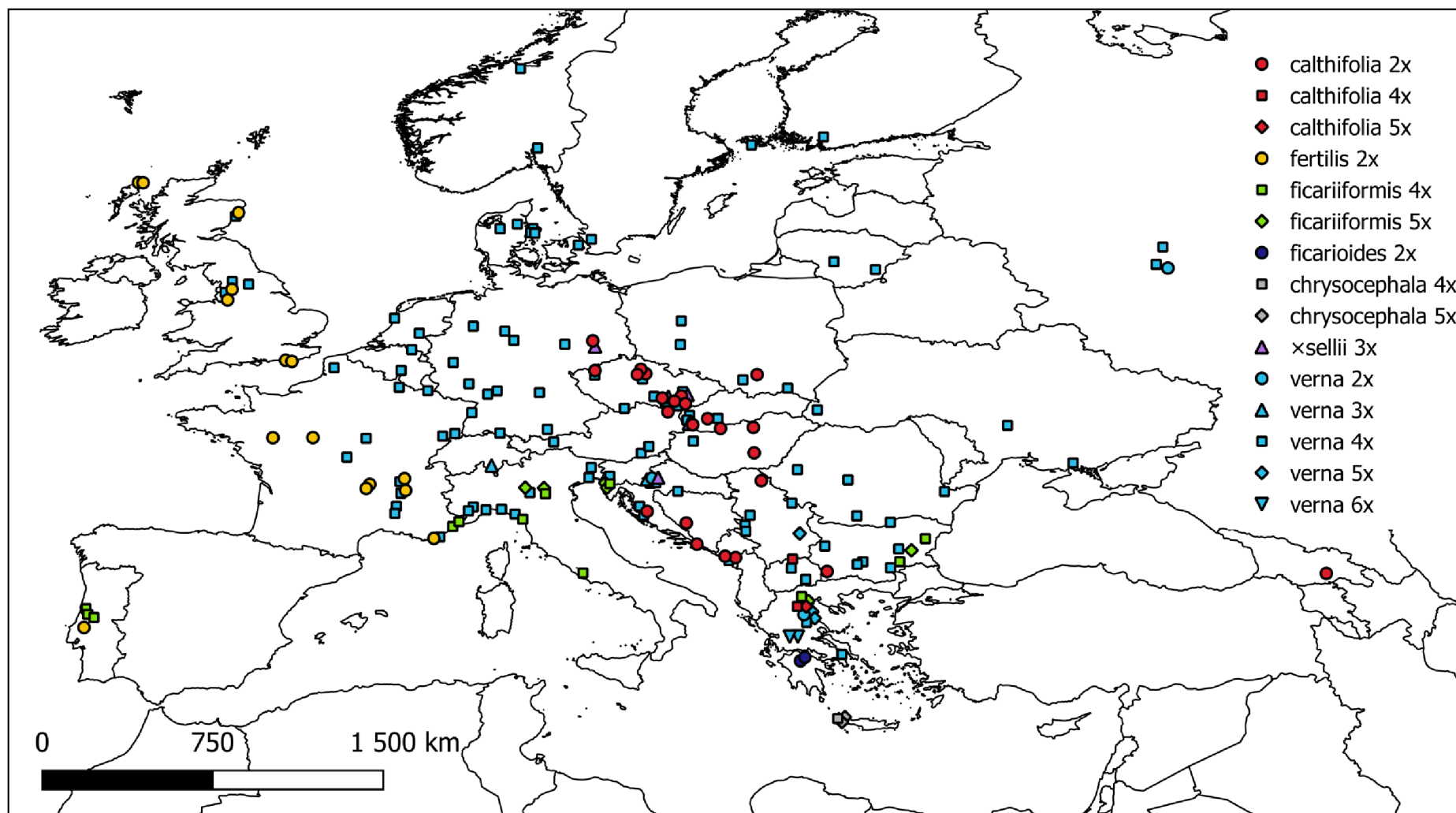
Taxonomická příslušnost byla určena podle dostupných determinačních klíčů (převážně Sell 1994; Veldkamp 2015). Ploidní úroveň studovaných rostlin, pro které byly už dříve

zjištěny počty chromozomů (Šiková 2014; Jandová nepublikováno), byla odhadnuta pomocí průtokové cytometrie (Šiková 2014; Konečná 2018; Popelka et al. 2019a, 2019b; Popelka et al. nepublikováno). Relativní obsah DNA pro jednotlivé taxony a ploidní úrovně, vypočítaný na základě cytometrického měření většiny studovaných populací, je uveden v tabulce 8.

4.2 Sběr dat

Mezi studované znaky byly zahrnuty zejména důležité rozlišovací znaky uváděné v literatuře. Dále byly vybrány i některé další znaky, u nichž byla pozorována variabilita mezi jedinci. Přehled všech hodnocených znaků a jejich zkratk je v tabulce 9. V tabulkách 10 a 11 je pak uveden přehled možných stavů ordinálních a kategoriálních znaků. Obrazová ukázka klasifikace kategoriálních znaků je v přílohách 6–12. Sběr dat na kvetoucích jedincích probíhal od 9. 4. do 26. 5. 2021. Hodnocení vybraných vegetativních znaků na listech (přítomnost přeslenu, okraj listů a měření některých rozměrů) probíhalo od 12. 5. do 1. 6. 2021, tedy těsně před koncem vegetační sezony, kdy už listy ± dosáhly svých maximálních rozměrů a případný přeslen byl plně vyvinut. Sběr nažek, měření lodyh po odkvětu a hodnocení počtu pacibulek na lodyze pak probíhaly od 20. 5. do 15. 6. 2021. Znaky byly měřeny/hodnoceny pro tři jedince z každé populace. Pokud nebyl k dispozici dostatečný počet jedinců, byli hodnoceni jen dva, případně jeden jedinec z populace. V případě směsných populací byly jednotlivé ploidní úrovně pro účely této práce považovány za samostatné populace. U některých jedinců se podařilo zhodnotit pouze část znaků, např. z důvodu nevykvetení či předčasného zaschnutí lodyh. Některé populace a někdy i tytéž exempláře byly již studovány v předcházející bakalářské práci (Uhlířová 2019), avšak tato data nebyla v diplomové práci využita.

Znaky na květech a příslušných lodyhách (délka lodyhy v době květu, délka květní stopky, charakter růstu, chlupatost lodyhy, počet internodií na lodyze a počet listů na lodyze) byly hodnoceny vždy ve stejné fenofázi květu, kdy prašníky vnějších tyčinek byly prasklé a prašníky vnitřních tyčinek uzavřené, tedy časně po otevření květu. Délka lodyhy, délka květní stopky, průměr květů, délka kališních lístků a rozměry korunních lístků byly měřeny digitálním posuvným měřítkem s přesností měření 0,03 mm. Za květní stopku byl považován úsek lodyhy od květu po nejbližší nod. Kromě samostatně měřené délky květní stopky byla měřena i délka lodyhy, do níž byla délka květní stopky také zahrnuta. Do počtu internodií byla zahrnuta pouze nadzemní internodia a stejně tak do počtu listů na lodyze byly započítávány pouze listy na nadzemních internodiích. Při studiu podzemních internodií by totiž docházelo k poškození rostlin. Z toho důvodu byly některé lodyhy vyhodnoceny jako



Obr. 1: Lokality studovaných populací jednotlivých poddruhů druhu *Ficaria verna* a hybridního taxonu *F. xsellii* včetně vyznačení ploidní úrovně. Barva symbolu označuje jednotlivé taxony, tvar symbolu označuje ploidní úroveň. Vytvořeno v programu QGIS 3.28.1-Firenze (QGIS Development Team 2022).

Tab. 7: Počet hodnocených jedinců (J) a populací (P) pro jednotlivé ploidní úrovně studovaných taxonů. FC – *Ficaria verna* subsp. *calthifolia*, FFE – *F. v.* subsp. *fertilis*, FFI – *F. v.* subsp. *ficariiformis*, FFO – *F. v.* subsp. *ficarioides*, FCH – *F. v.* subsp. *chrysocephala*, FS – *F. ×sellii*, FV – *F. v.* subsp. *verna*.

taxon	ploidní úroveň	znaky hodnocené na odebraných listech		znaky hodnocené v době květu + okraj listů		délka lodyhy v době zralosti nažek		počet pacibulek na lodyze		přítomnost přeslenu		počty nažek		znaky na vyvinutých nažkách	
		J	P	J	P	J	P	J	P	J	P	J	P	J	P
FC	2x	52	22	49	23	26	17	29	19	40	22	31	20	20	10
	4x	1	1	1	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	5x	1	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
FFE	2x	38	15	27	12	25	12	25	12	28	13	25	12	17	8
FFI	4x	32	12	21	11	21	11	21	11	19	11	22	12	10	6
	5x	14	7	5	3	6	3	6	3	5	3	6	3	2	2
FFO	2x	4	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
FCH	4x	2	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	5x	3	2	1	1	–	–	–	–	1	1	–	–	–	–
FS	3x	7	4	12	5	6	3	6	3	10	5	6	3	1	1
FV	2x	6	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	1
	3x	3	2	2	1	–	–	–	–	1	1	–	–	–	–
	4x	255	95	202	85	170	69	167	67	197	83	172	71	145	66
	5x	10	3	9	3	8	3	6	3	9	3	10	3	5	3
	6x	3	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	–	–
celkem		431	172	335	151	268	124	266	124	316	148	278	130	203	99

Tab. 8: Relativní obsah DNA (fluorescenční poměr mezi pozicemi G0/G1 peaků vzorku a vnitřního referenčního standardu) pro jednotlivé taxony a ploidní úrovně stanovený pomocí průtokové cytometrie. Předmětem hodnocení byly populace studované v této práci (nikoliv všechny, ale většina) a uvedené hodnoty byly spočítány z průměrných hodnot pro populace. Jako barvivo bylo použito DAPI a jako vnitřní standard žito (*Secale cereale* 'Daňkovské').

Taxon a ploidní úroveň	n	Průměr	SD	Min.	Max.
<i>calthifolia</i> 2x	13	1,305	0,032	1,240	1,357
<i>fertilis</i> 2x	14	1,746	0,053	1,643	1,875
<i>ficarioides</i> 2x	2	1,626	0,011	1,618	1,634
<i>verna</i> 2x	3	1,498	0,198	1,379	1,727
× <i>sellii</i> 3x	2	1,968	0,007	1,963	1,973
<i>verna</i> 3x	1	2,012	–	2,012	2,012
<i>calthifolia</i> 4x	2	2,486	0,037	2,460	2,512
<i>chrysocephala</i> 4x	1	2,836	–	2,836	2,836
<i>ficariiformis</i> 4x	11	2,755	0,156	2,511	2,954
<i>verna</i> 4x	90	2,664	0,135	2,424	3,064
<i>calthifolia</i> 5x	1	3,377	–	3,377	3,377
<i>chrysocephala</i> 5x	2	3,109	0,056	3,070	3,148
<i>ficariiformis</i> 5x	5	3,183	0,092	3,068	3,273
<i>verna</i> 5x	3	3,139	0,029	3,114	3,170
<i>verna</i> 6x	2	3,680	0,010	3,673	3,687

Tab. 9: Přehled studovaných morfologických znaků, jejich zkratky, jednotky měření a vzorce výpočtu.

znak	zkratka	jednotka měření	vzorec výpočtu
délka listu A	DLA	cm	–
délka listu B	DLB	cm	–
šířka listu	SL	cm	–
hloubka zářezu	HZ	cm	DLB - DLA
vzdálenost nejširšího místa listu od místa nasedání řapíku	PO	cm	–
tvár listu	TVAR	–	(DLA - PO) / DLB
délka listu A / délka listu B	DLA_DLB	–	DLA / DLB
délka listu B / šířka listu	DLB_SL	–	DLB / SL
vzdálenost nejširšího místa listu od místa nasedání řapíku / délka listu B	PO_DLB	–	PO / DLB
délka řapíku	DR	mm	–
tloušťka listu	TL	mm	–
okraj listů	O	–	–
skvrnitost listů – barva	BS	–	–
skvrnitost listů	S	–	–
přítomnost přeslenu	PR	–	–

charakter růstu	CHR	–	–
překrytí korunních lístků	PC	–	–
zabarvení korunních lístků anthokyany	AC	–	–
délka korunního lístku	dC	mm	–
šířka korunního lístku	sC	mm	–
délka/šířka korunního lístku	dC_sC	–	dC / sC
délka kališního lístku	dK	mm	–
průměr květu	PK	mm	–
počet korunních lístků na jeden květ	C	–	–
zabarvení lodyhy a řapíků anthokyany	AL	–	–
chlupatost lodyhy	CHL	–	–
délka lodyhy v době květu	DL	mm	–
délka květní stopky	KS	mm	–
počet listů na lodyze	PL	–	–
počet internodií na lodyze	PI	–	–
počet lodyžních listů / počet internodií	PL_PI	–	PL / PI
délka lodyhy v době zralosti nažek	DL2	mm	–
počet pacibulek na lodyze	PAC	–	–
počet vyvinutých nažek v souplodí	VN	–	–
počet abortovaných nažek v souplodí	AN	–	–
počet všech nažek v souplodí	N	–	–
podíl abortovaných nažek v souplodí	AN_N	–	AN / N
délka nažek	dN	mm	–
šířka nažek	sN	mm	–
délka/šířka nažek	dN_sN	–	dN / sN
velikost zobánku	Z	–	–
chlupatost nažek	CH	–	–

Tab. 10: Přehled možných stavů studovaných ordinálních znaků.

znak	zkratka	stav 1	stav 2	stav 3
překrytí korunních lístků	PC	nepřekrývají se	některé se překrývají	překrývají se
charakter růstu	CHR	poléhavá lodyha	vystoupavá lodyha	vzpřímená lodyha
přítomnost přeslenu	PR	bez přeslenu	nezřetelně vyvinutý	zřetelně vyvinutý
okraj listů	O	celokrajný	měle vroubkovaný nebo zubatý	výrazně vroubkovaný nebo zubatý
zabarvení korunních lístků anthokyany	AC	abaxiální strana lístku bez zabarvení dofialova	abaxiální strana lístku slabě zabarvena dofialova	abaxiální strana lístku výrazně fialová

zabarvení lodyhy a řapíků anthokyany	AL	lodyhy a řapíky zelené	lodyhy a řapíky slabě zabarveny dořialova	lodyhy a řapíky výrazně fialové
skvrnitost listů	S	bez skvrn	málo skvrnité	hodně skvrnité
chlupatost lodyhy	CHL	lysá	s ojedinělými chlupy	roztroušeně chlupatá
velikost zobánku	Z	bez zobánku	nevýrazný zobánek	nápadný zobánek
chlupatost nažek	CH	řidce chlupaté	hustě chlupaté	velmi hustě chlupaté

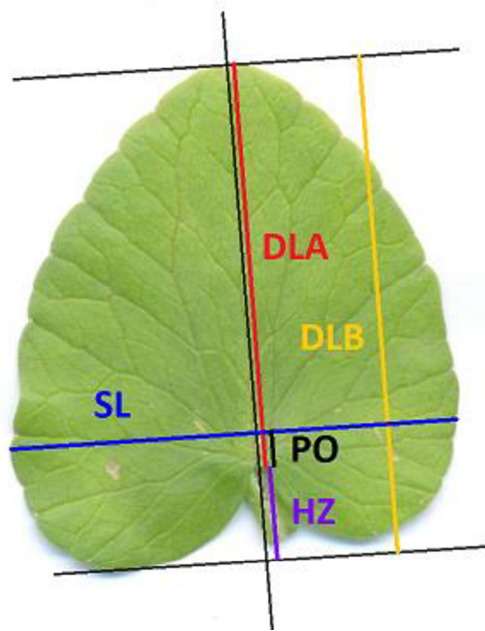
Tab. 11: Přehled možných stavů studovaného kategoriálního znaku a jejich zkratk.

znak	zkratka				
skvrnitost listů – barva	BS	bez skvrn (NS)	světlé skvrny (Sv)	tmavé skvrny (Tm)	světlé i tmavé skvrny (TmSv)

bezlisté. Rozměry korunních lístků byly pro každý květ měřeny na třech utržených korunních lístcích, které byly vybírány \pm náhodně (nebyly vybírány korunní lístky nápadně širší nebo užší než ostatní v daném květu nebo lístky zakrnělé). Délka korunního lístku byla měřena včetně bazální části s nektariem, šířka korunního lístku byla měřena v jeho nejširším místě. K měření vzdáleností na listech byly z každé rostliny odebrány tři největší nepoškozené listy. Listy byly přednostně odebírány z jedinců, na nichž byly hodnoceny znaky během kvetení. Pokud se ale v době květu nepodařilo nasbírat data ze tří jedinců z populace, byly listy odebírány i z jedinců, kteří nebyli předmětem studia během kvetení. Před utržením listů byla pomocí digitálního posuvného měřítka změřena délka řapíku (v případě přízemních listů pouze část řapíku nad úrovní substrátu). Tloušťka listů byla měřena ihned po utržení listů ve střední části čepele, a to tak, aby nebyla změřena střední žilka (byla tedy změřena tloušťka pouze jedné poloviny listu). Odebrané listy byly vloženy do uzavíratelných plastových sáčků a po odstranění řapíku byly oskenovány spolu s přiloženým měřítkem.

K měření hodnocených vzdáleností na naskenovaných listech byl použit program ImageJ 1.41o (National Institutes of Health, USA). Na každém listu byly změřeny čtyři rozměry: 1) délka listu A (DLA), tj. vzdálenost od místa nasedání řapíku k vrcholu listu; 2) délka listu B (DLB), tj. celková délka listu včetně bazálních laloků; 3) šířka listu (SL), tj. největší vzdálenost ve směru kolmém na spojnici vrcholu listu s místem nasedání řapíku; 4) vzdálenost nejširšího místa listu od místa nasedání řapíku (PO) (obr. 2). Pokud se nejširší místo nacházelo „pod“ místem nasedání řapíku, nabýval znak PO záporných hodnot. Z

naměřených hodnot pak byly dopočítány hloubka zářezu (HZ) jako rozdíl mezi délkou listu B a délkou listu A a čtyři poměrové hodnoty (tab. 9)



Obr. 2: Vzdálenosti zjišťované na listových čepelích. V tomto případě znak PO nabývá kladné hodnoty.

Dalším znakem studovaným na konci vegetační sezony byla přítomnost přeslenu. Za přeslen byl považován pouze stav, kdy z nodu nad zkráceným internodiem vyrůstaly tři nebo více tvarově a velikostně vzájemně podobných listů. Přítomnost dalších listů výše na lodyze nebyla při hodnocení přeslenu zohledňována. Znak byl hodnocen pro každou rostlinu jako celek, tj. pokud byl zřetelný přeslen přítomen alespoň na jedné z lodyh, byl znak kódován číslem 3, resp. v případě pouze nezřetelně vyvinutého přeslenu číslem 2. Podobně také okraj listů, rovněž studovaný až po odkvětu, byl hodnocen na základě vizuálního posouzení všech listů dané rostliny.

V průběhu dozrávání nažek byla na každém jedinci náhodně vybrána dvě souplodí, na něž byly uvázány pytlíky z netkané textilie. Při sběru pytlíků s opadanými nažkami byla digitálním posuvným měřítkem změřena délka příslušné lodyhy (včetně květní stopky) a v případě přítomnosti pacibulek byl zaznamenán jejich počet na lodyze. Nažky byly uchovávány zhruba jeden měsíc na suchém a větraném místě a poté na nich byly hodnoceny studované znaky. Nažky byly považovány za abortované, pokud byly zřetelně sraštělé, menší nebo světlejší než ostatní nažky. Pokud souplodí obsahovalo vyvinuté nažky, u dvou náhodně vybraných nažek (resp. jedné, pokud byla vyvinutá pouze jedna nažka) byla pomocí binokulární lupy s okulárovým měřítkem při zvětšení 15× změřena jejich délka a šířka. Velikost zobánku a chlupatost nažek byly hodnoceny pod binokulární lupou při zvětšení 15×

na základě posouzení všech vyvinutých nažek v daném souplodí. Přestože podle Emadzade et al. (2010) se nažky rodu *Ficaria* vyznačují absencí zobánku, podle jiných autorů mají nažky krátký zobánek (např. Sell 1994; Paun et al. 2005; Kästner & Fischer 2006). V Květeně České republiky je použit termín hrot (Křisa 1988). V této diplomové práci budu tento útvar označovat jako zobánek.

4.3 Analýza dat

4.3.1 Tvar listové čepele – eliptická Fourierova analýza a PCA

Na začátku analýzy byly digitalizované listové čepele převedeny na černobílý formát (binarizace) v programu ImageJ 1.41o. Prahová hodnota pro binarizaci byla manuálně nastavena pro každý sken podle potřeby, tak aby byl zachycen přesný obrys i těch nejsvětlejších listů. Tvar listů byl analyzován pomocí balíčku programů SHAPE 1.3 (Iwata & Ukai 2002), který sestává ze čtyř programů. Nejprve byl použit program ChainCoder, který umožňuje získat z digitálního obrazu obrysy objektů a převést informaci do podoby řetězového kódu. Následně byl v programu Chc2Nef řetězový kód obrysů převeden do normalizovaných eliptických Fourierových deskriptorů (EFD). Pro přesné podchycení obrysu bylo zvoleno 50 harmonických proměnných.

V programu MS Excel byly vypočítány průměrné hodnoty EFD pro jedince. Poté byla data analyzována v programu PrinComp, v němž byly koeficienty EFD použity pro analýzu hlavních komponent (PCA). Nakonec byla v programu PrinPrint vizualizována variabilita tvaru listů vysvětlená první a druhou hlavní komponentou (průměr - 2SD, průměr, průměr + 2SD). V prostředí R (RStudio Team 2022) byl poté vytvořen PCA ordinační diagram za použití balíčku ggplot2 (Wickham 2016). Vizualizovány byly první dvě osy a diagram byl doplněn obrysy listů podél os. PCA byla provedena celkem pětkrát: pro celý soubor dat, pro diploidy, pro tetraploidy a pro dva taxony s největším množstvím dat (*verna* a *calthifolia*).

4.3.2 Geografická variabilita tvaru listů u poddruhu *verna*

U poddruhu *verna*, který má největší areál, byl pomocí lineární regrese (jednoduchý lineární regresní model) testován vztah mezi tvarem listové čepele a zeměpisnou délkou a šířkou. Regresní analýza byla provedena v prostředí R za použití balíčků ggplot2 (Wickham 2016), dplyr (Wickham et al. 2022), broom (Robinson et al. 2022) a ggpubr (Kassambara 2020). Jako ukazatele tvaru listové čepele byly použity hodnoty komponentních skóre prvních dvou os PCA provedené na eliptických Fourierových deskriptorech (PC1, PC2).

Před regresní analýzou byla vypočtena průměrná komponentní skóre pro studované populace.

4.3.3 Variabilita morfologických znaků – jednorozměrné analýzy

Před statistickou analýzou byly v případě kvantitativních znaků, pokud byly měřeny ve více opakováních na téže rostlině (např. květy, nažky, lodyhy), vypočítány průměrné hodnoty pro jedince. U rozměrů korunních lístků byly před vlastním průměrováním na jedince vypočítány nejprve průměrné hodnoty ze tří korunních lístků na jeden květ. Kvalitativní znaky na ordinální škále (s výjimkou znaků přítomnost přeslenu a okraj listů, které byly hodnoceny jen jednou pro každého jedince) byly pro jedince zprůměrovány a zaokrouhleny na nejbližší celé číslo (např. tedy pokud měl jeden květ na jedinci překrytí korunních lístků „1“ a další dva květy „2“, výsledná hodnota překrytí byla kódována číslem 2). Výjimkou bylo hodnocení znaků chlupatost lodyhy a skvrnitost listů, kde například v případě, kdy dvě lodyhy byly lysé (1) a jedna lodyha s ojedinelými chlupy (2), výsledná hodnota byla kódována číslem 2. Tím zůstala v datech zachována informace o přítomnosti chlupů (resp. skvrn) na daném jedinci, která ale nemusela být pozorována ve všech třech případech hodnocení znaku na jedinci. U znaku skvrnitost listů – barva byla jedinci přidělena jedna z kategorií vyjadřujících skvrnitost (světlé skvrny, tmavé skvrny, světlé i tmavé skvrny) i v případě, kdy byly skvrny zaznamenány pouze při jednom ze tří hodnocení na témže jedinci, což mohlo být způsobeno různými světelnými podmínkami nebo vyblednutím skvrn.

Popisné statistiky pro kvantitativní znaky byly vypočítány v programu NCSS 9 (Hintze 2013). Jednorozměrné statistické testy a většina grafických výstupů byly provedeny v prostředí R. Rozdíly v kvantitativních a ordinálních znacích mezi studovanými taxony byly testovány Kruskal-Wallisovým testem, případně následným mnohonásobným porovnáním pomocí Dunnova testu s Bonferroniho korekcí za použití balíčků FSA (Ogle et al. 2022), rcompanion (Mangiafico 2022) a multcompView (Graves et al. 2019). Taxony, u nichž byly morfologické znaky hodnoceny pouze na jednom jedinci, byly z analýzy vyřazeny. Do analýzy počtu pacibulek na lodyze byly zahrnuty pouze taxony vytvářející pacibulky. Rozdíly ve znaku skvrnitost listů – barva byly analyzovány pomocí Fisherova exaktního testu s Monte Carlo simulací p-hodnoty (2000 permutací). Následně bylo použito mnohonásobné porovnání s korekcí p-hodnoty „fdr“ v balíčku RVAideMemoire (Hervé 2022). Taxony *ficarioides* a *chrysocephala* nebyly do analýzy zařazeny kvůli nízkému počtu studovaných jedinců. Variabilita kvantitativních znaků byla vizualizována krabičkovými diagramy. Četnosti kategorií kategoriálních znaků byly zobrazeny pomocí skládaných

sloupcových diagramů vytvořených v programu MS Excel. Do sloupcových diagramů nebyly zahrnuty taxony s malým počtem studovaných jedinců (1–2 jedinci). Ve všech jednorozměrných analýzách byly srovnávány taxony bez ohledu na ploidní úroveň.

4.3.4 Mnohorozměrné analýzy: analýza hlavních koordinát (PCoA) a diskriminační analýza (CDA)

Pro nalezení hlavních směrů morfologické variability a zhodnocení morfologické podobnosti studovaných jedinců (resp. taxonů a jejich ploidních úrovní) byla v programu Canoco 5.12 (ter Braak & Šmilauer 2012) použita analýza hlavních koordinát (PCoA) s využitím Gowerova koeficientu nepodobnosti (*Gower distance*). Pro nalezení znaků nejvhodnějších pro odlišení taxonů (bez ohledu na ploidní úroveň) byla v tomtéž programu provedena kanonická diskriminační analýza (CDA) s výběrem nejlepších proměnných (Stepwise technika), s použitím False discovery rate korekce p-hodnot (P(adj)). Kromě znaků uvedených v tabulkách 9–11 byly v těchto analýzách jako další dva znaky použity pozice jedinců na první a druhé ordinační ose (komponentní skóre) v PCA provedené na eliptických Fourierových deskriptorech. Kategoriální znak BS byl zařazen pouze do PCoA, kde figuroval jako faktor se čtyřmi kategoriemi. Obě tyto analýzy byly provedeny celkem se třemi datasey.

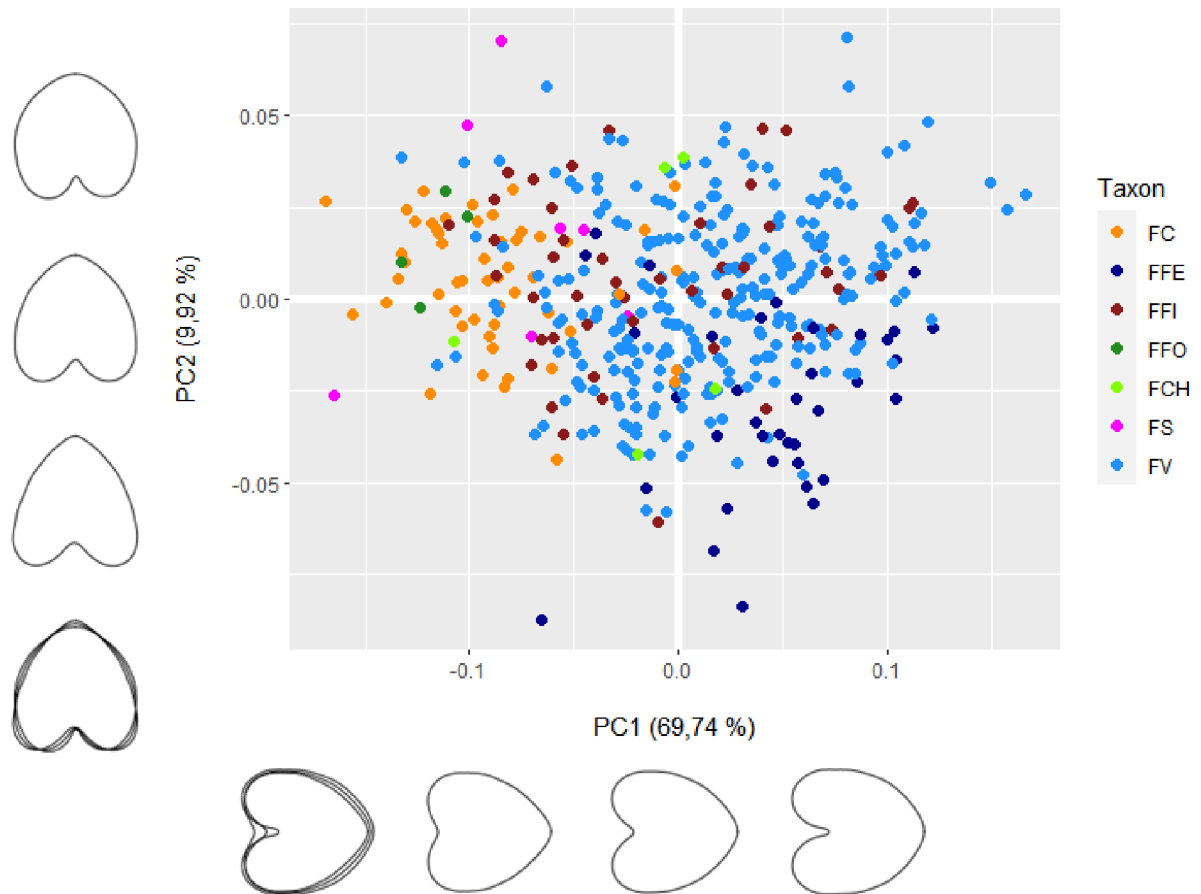
V prvním datasetu byli zahrnuti pouze jedinci, pro které byly dostupné všechny znaky (celkem 178 jedinců v PCoA a 177 jedinců v CDA – jedinec *×sellii* byl pouze jeden a byl z CDA vyřazen). Ve druhém datasetu byly zahrnuty všechny znaky kromě znaků počet pacibulek na lodyze, délka lodyhy v době zralosti nažek a znaků na nažkách, které byly dostupné jen pro část jedinců a jejichž vyřazením mohlo být do analýzy zařazeno více jedinců – celkem 259. Třetí dataset zahrnoval pouze znaky hodnocené na odebraných listech a obsahoval 430 jedinců.

Před analýzami byla testována vzájemná korelace mezi proměnnými. Korelační matice byla vypočtena v programu NCSS 9 s použitím Spearmanova korelačního koeficientu a v případě vysoké korelace mezi znaky ($r_s \geq 0,9$) byl jeden z dvojice znaků vyřazen. Ve všech třech datasetech byly vyřazeny znaky DLB a PO_DLB, v prvních dvou datasetech též znak PK. Před PCoA analýzou byla v případě prvního datasetu provedena logaritmičká transformace znaků VN ($\log(10x+0)$) a AN ($\log(1x+0)$) a v případě druhého datasetu logaritmičká transformace znaků PL a PL_PI ($\log(10x+1)$). Pro interpretaci byly použity první dvě ordinační osy vysvětlující největší část variability v datech. V PCoA diagramech byla u jedinců kromě taxonomické příslušnosti vyznačena také jejich ploidní úroveň.

5 Výsledky

5.1 Tvar listové čepele – eliptická Fourierova analýza a PCA

V první PCA byly použity listy všech studovaných jedinců. První dvě ordinační osy vysvětlují dohromady 79,66 % celkové variability (obr. 3). Z ordinačního diagramu je zřejmé, že analýza nedokázala všechny taxony jednoznačně separovat. Poměrně dobře oddělené jsou *calthifolia* a *fertilis* a také *ficarioides* a *fertilis* (pro *ficarioides* byli ale hodnoceni pouze čtyři jedinci). Podél první osy se nejvíce mění hloubka zářezu: v levé části diagramu jsou listy s mělkým zářezem listu, v pravé části s hlubokým zářezem. *Calthifolia*, *ficarioides* a *×sellii* se vyznačují spíše mělkým zářezem listů. *Verna* má ve srovnání s *calthifolia* zářez listů hlubší, i když hloubka zářezu je u tohoto taxonu dosti variabilní.

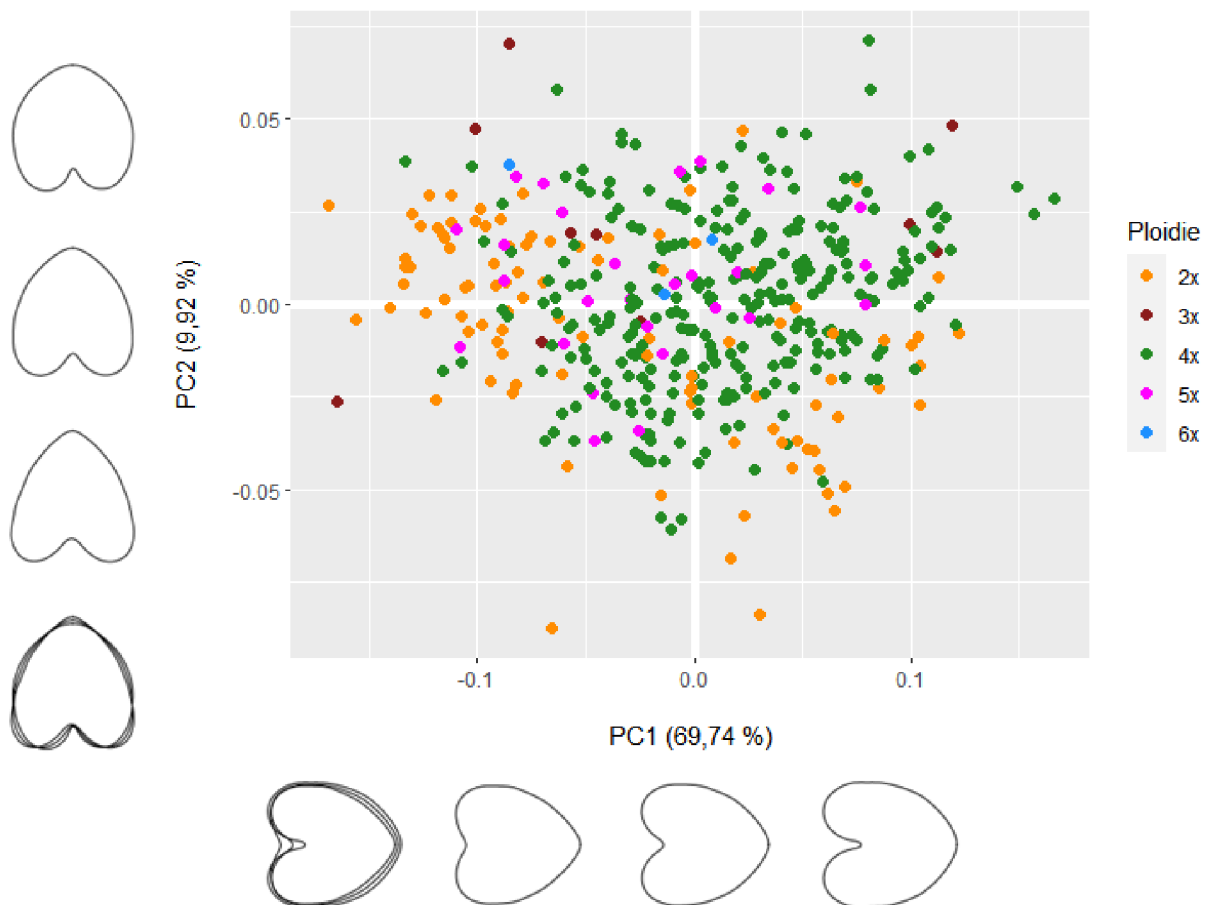


Obr. 3: PCA ordinační diagram všech jedinců se značením taxonu. Analyzovány byly eliptické Fourierovy deskriptory popisující tvar listu. Zobrazené obrisy listů podél os představují průměr -2SD (druhý obrys zleva/zdola), průměr (třetí obrys zleva/zdola) a průměr +2SD (čtvrtý obrys zleva/zdola). Složený obrys nejvíce vlevo/dole představuje překrytí těchto tří obrisů.

FC – *Ficaria verna* subsp. *calthifolia*, FFE – *F. v.* subsp. *fertilis*, FFI – *F. v.* subsp. *ficariiformis*, FFO – *F. v.* subsp. *ficarioides*, FCH – *F. v.* subsp. *chrysocephala*, FS – *F. ×sellii*, FV – *F. v.* subsp. *verna*.

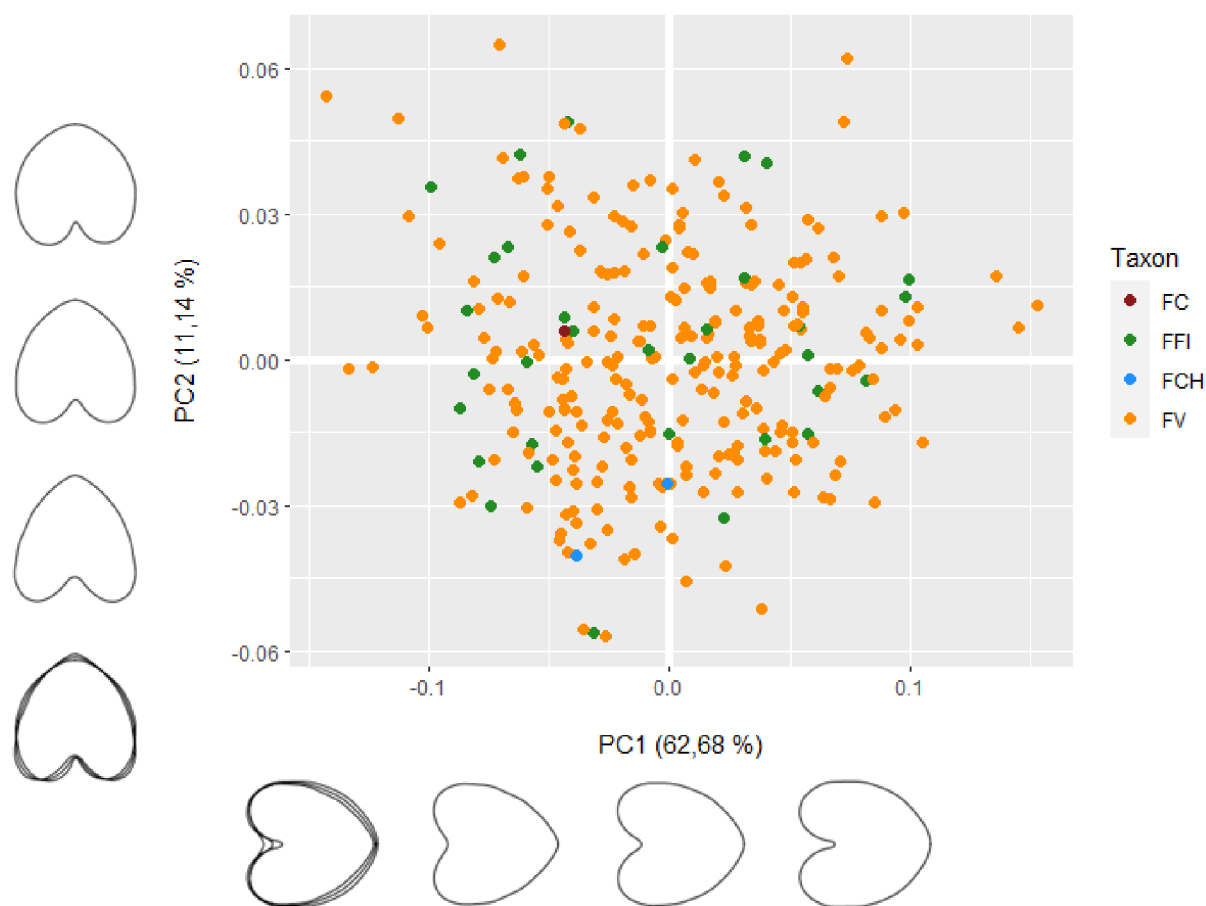
Jedinci *fertilis* se nacházejí převážně v pravé části diagramu, mají tedy obvykle hluboký zářez listů. Z nevelkého počtu listů *chrysocephala* nelze vyslovit jednoznačný závěr. Variabilita tvaru listů je u tohoto taxonu vysoká a překrývá se téměř se všemi ostatními taxony. Podobně také listy *ficariiformis* nevytvářejí zřetelně oddělený shluk.

V horní části diagramu se nacházejí listy s čepelí okrouhlého tvaru se zaobleným vrcholem, s nejširším místem blízko vrcholu. Směrem dolů se obrys čepele listů stává více trojúhelníkovitý, se špičatým vrcholem a rozevřenými bazálními laloky, tedy s nejširším místem blízko báze čepele. Je patrné, že tento typ listů vytváří *fertilis*, u níž se většina jedinců vyskytuje v dolní části diagramu. U ostatních taxonů není zřetelná tendence vyskytovat se v horní nebo dolní části diagramu. Na obrázku 4 je stejný diagram, avšak se zaznačením ploidní úrovně. Jednotlivé ploidní úrovně nejsou oddělené.



Obr. 4: PCA ordinační diagram všech jedinců se zaznačením jejich ploidní úrovně. Analyzovány byly eliptické Fourierovy deskriptory popisující tvar listu. Zobrazené obrysy listů podél os představují průměr - 2SD (druhý obrys zleva/zdola), průměr (třetí obrys zleva/zdola) a průměr + 2SD (čtvrtý obrys zleva/zdola). Složený obrys nejvíce vlevo/dole představuje překrytí těchto tří obrysů.

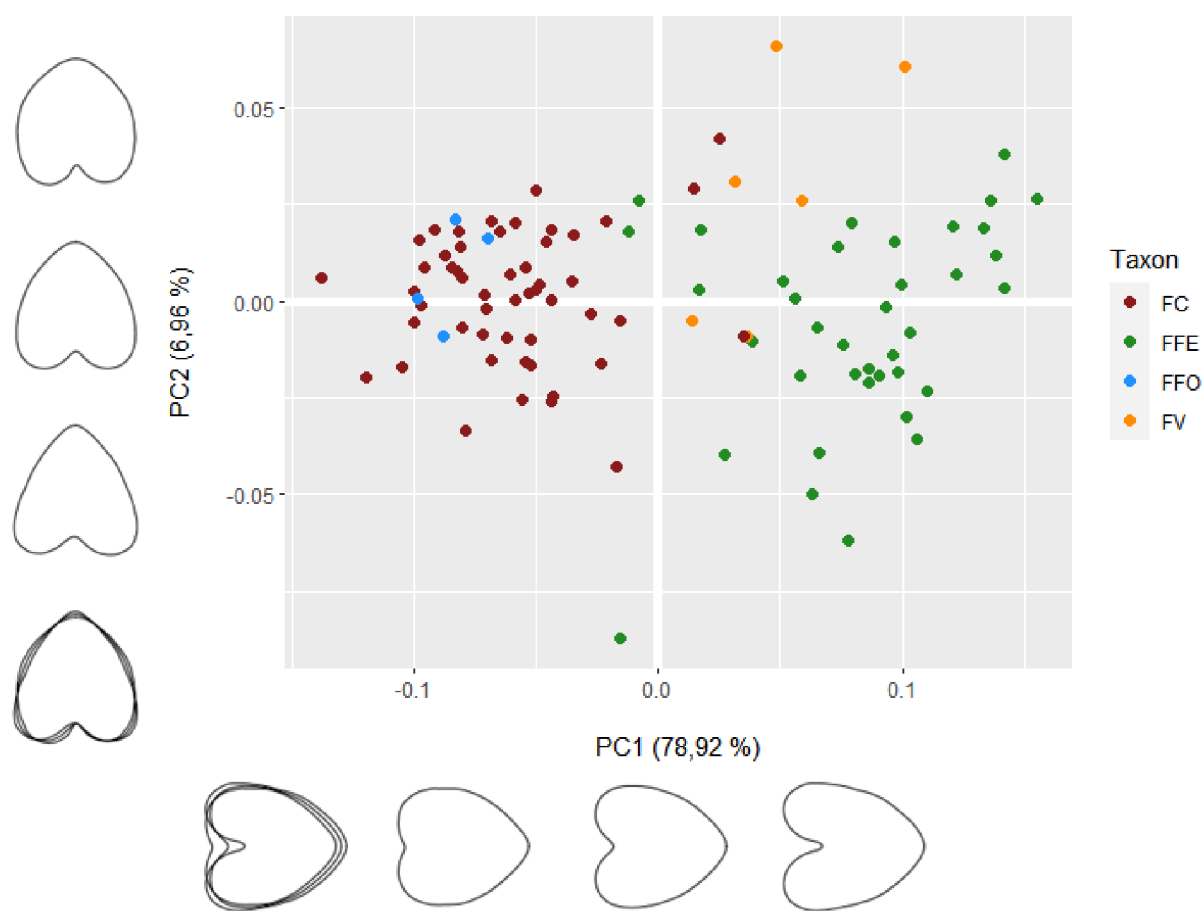
Na obrázku 5 je PCA diagram vycházející z analýzy pouze tetraploidních jedinců. První dvě osy vysvětlují 73,82 % celkové variability. Z diagramu je patrné, že analýza nedokázala na základě tvaru rozlišit listy *verna* a *ficariiformis*. Ostatní taxony jsou zastoupeny příliš malým počtem jedinců na to, aby bylo možné výsledky interpretovat. Obrázek 6 pak zobrazuje výsledek PCA provedené pouze s diploidními jedinci. První dvě osy vysvětlují 85,88 % celkové variability. Podél první osy se částečně oddělují *calthifolia* a *fertilis*. Lokalizace *fertilis* v pravé části značí hlubší zářez listu ve srovnání s *calthifolia*, jejíž shluk má centrum v levé části diagramu. Listy diploidní *verna* se nacházejí zhruba uprostřed mezi shlukem *verna* a shlukem *fertilis*. Analýza nedokázala odlišit listy čtyř studovaných jedinců *ficarioides* od listů *calthifolia*. Ani zobrazení diagramu pro první a třetí nebo pro



Obr. 5: PCA ordinační diagram všech tetraploidních jedinců se zaznačením taxonu. Analyzovány byly eliptické Fourierovy deskriptory popisující tvar listu. Zobrazené obrysy listů podél os představují průměr - 2SD (druhý obrys zleva/zdola), průměr (třetí obrys zleva/zdola) a průměr + 2SD (čtvrtý obrys zleva/zdola). Složený obrys nejvíce vlevo/dole představuje překrytí těchto tří obrysů.

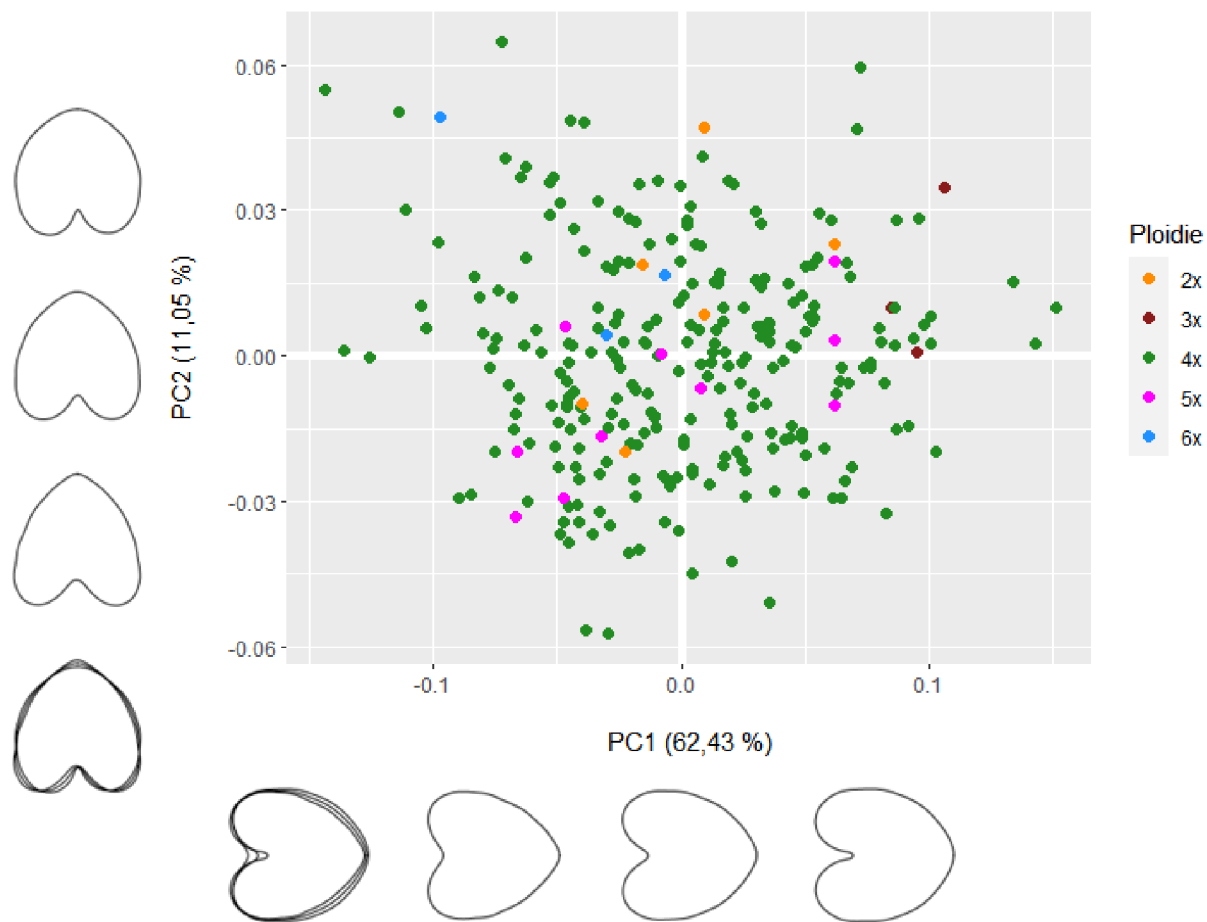
FC – *Ficaria verna* subsp. *calthifolia*, FFI – *F. v.* subsp. *ficariiformis*, FCH – *F. v.* subsp. *chrysocephala*, FV – *F. v.* subsp. *verna*.

první a čtvrtou ordinační osu nevedlo k oddělení listů těchto dvou taxonů. Na obrázku 7 je PCA diagram pro všechny jedince *verna* se značením ploidní úrovně. První dvě osy v tomto případě vysvětlují 73,48 % celkové variability. Z diagramu je zřejmé, že rostliny *verna* s různou ploidní úrovní se tvarem listů neliší. Obrázek 8 pak ukazuje PCA diagram pro všechny jedince *calthifolia* se značením ploidní úrovně. První dvě osy vysvětlují 76,20 % celkové variability. Vzhledem k tomu, že pouze dva jedinci měli jinou ploidní úroveň než diploidní, nelze vyslovit žádný závěr.

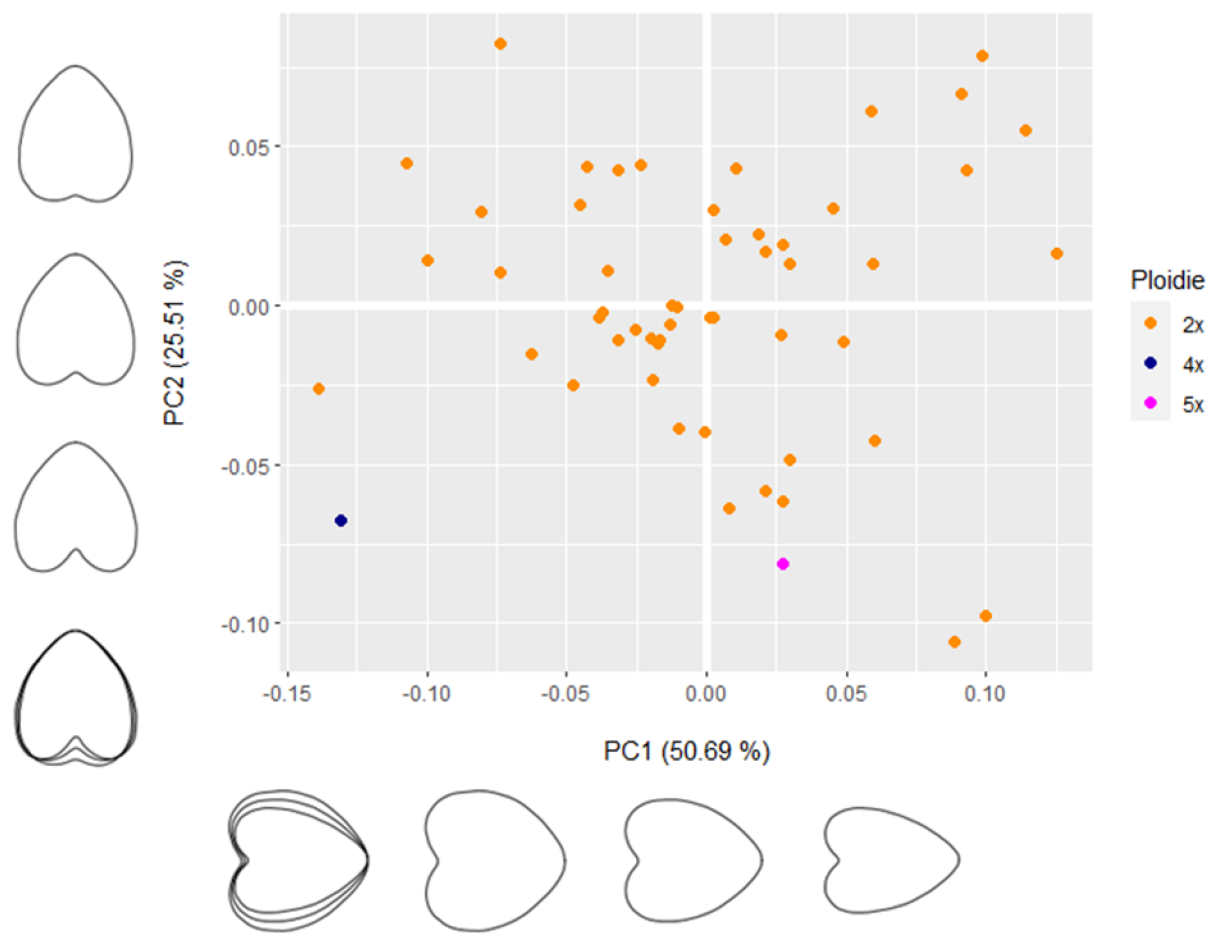


Obr. 6: PCA ordinační diagram všech diploidních jedinců se značením taxonu. Analyzovány byly eliptické Fourierovy deskriptory popisující tvar listu. Zobrazené obrysy listů podél os představují průměr - 2SD (druhý obrys zleva/zdola), průměr (třetí obrys zleva/zdola) a průměr + 2SD (čtvrtý obrys zleva/zdola). Složený obrys nejvíce vlevo a dole představuje překrytí těchto tří obrysů.

FC – *Ficaria verna* subsp. *calthifolia*, FFE – *F. v.* subsp. *fertilis*, FFO – *F. v.* subsp. *ficarioides*, FV – *F. v.* subsp. *verna*.



Obr. 7: PCA ordinační diagram všech jedinců *Ficaria verna* subsp. *verna* se zaznačením ploidní úrovně jedinců. Analyzovány byly eliptické Fourierovy deskriptory popisující tvar listu. Zobrazené obrysy listů podél os představují průměr - 2SD (druhý obrys zleva/zdola), průměr (třetí obrys zleva/zdola) a průměr + 2SD (čtvrtý obrys zleva/zdola). Složený obrys nejvíce vlevo a dole představuje překrytí těchto tří obrysů.



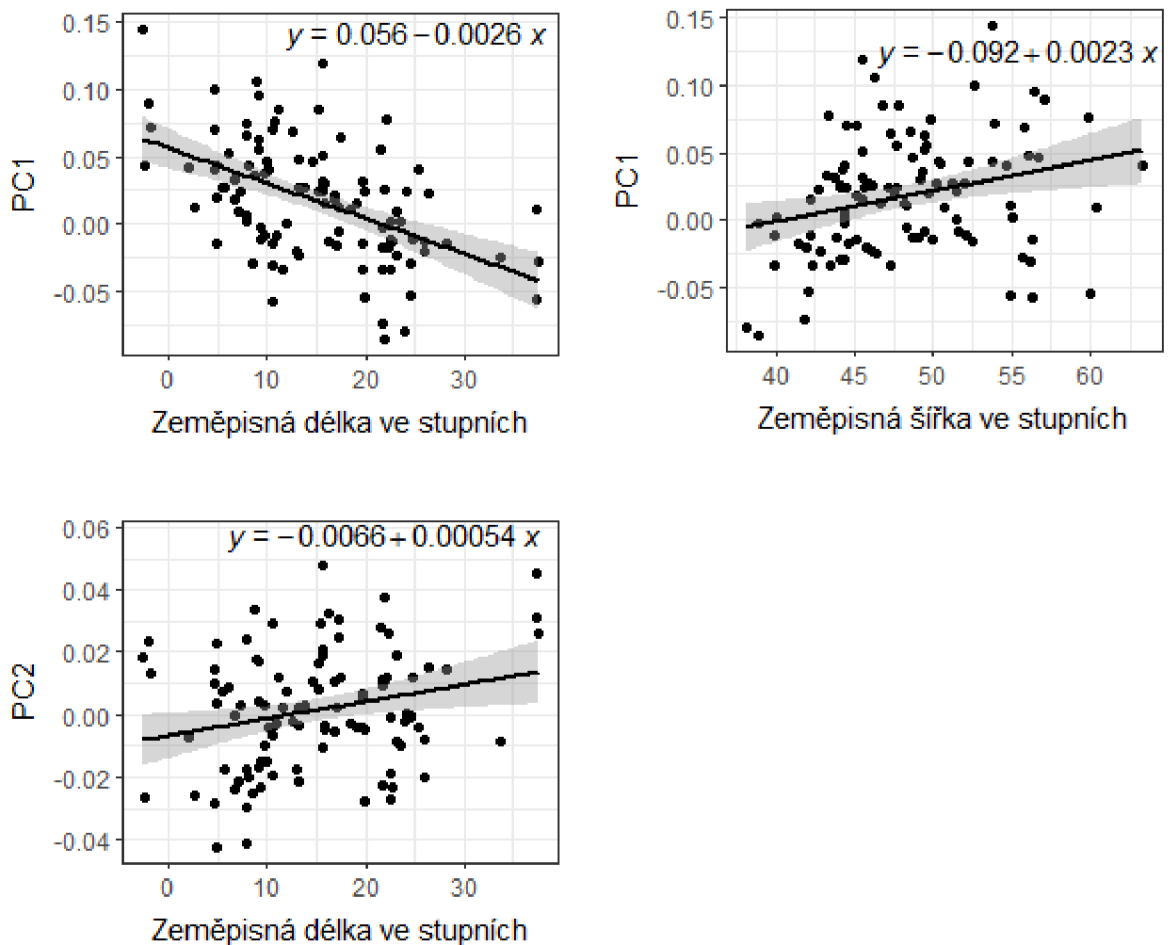
Obr. 8: PCA ordinační diagram všech jedinců *Ficaria verna* subsp. *calthifolia* se zaznačením ploidní úrovně jedinců. Analyzovány byly eliptické Fourierovy deskriptory popisující tvar listu. Zobrazené obrysy listů podél os představují průměr - 2SD (druhý obrys zleva/zdola), průměr (třetí obrys zleva/zdola) a průměr + 2SD (čtvrtý obrys zleva/zdola). Složený obrys nejvíce vlevo a dole představuje překrytí těchto tří obrysů.

5.2 Geografická variabilita tvaru listů u poddruhu *verna*

Regresní analýzou bylo pro listy poddruhu *verna* zjištěno, že hodnota PC1 (komponentní skóre první osy) se s rostoucí zeměpisnou délkou postupně snižuje, zatímco s rostoucí zeměpisnou šířkou zvyšuje (obr. 9, tab. 12). Hloubka zářezu listů se tedy zvětšuje směrem na západ a na sever (změna tvaru listů *verna* podél os – viz obr. 7). Pro PC2 (komponentní skóre druhé osy) byl signifikantní vztah zjištěn pouze v případě zeměpisné délky: hodnota PC2 směrem na východ narůstá. To znamená, že v západní části areálu jsou listy *verna* spíše trojúhelníkovitého tvaru, s rozevírajícími se bazálními laloky a s nejširším místem blíže bázi listu (tedy podobné jako u *fertilis*). Směrem na východ se pak postupně stávají okrouhlejší, podobné spíše *calthifolia*.

Tab. 12: Výsledky lineární regresní analýzy testující závislost tvaru listové čepele taxonu *Ficaria verna* subsp. *verna* na zeměpisné šířce a délce. PC1, PC2 – komponentní skóre první a druhé osy PCA provedené na eliptických Fourierových deskriptorech. Signifikantní výsledky ($p \leq 0,05$) jsou zvýrazněny tučně.

Komponentní skóre	Zeměpisná šířka		Zeměpisná délka	
	p	R ²	p	R ²
PC1	0,005	0,075	< 0,001	0,257
PC2	0,871	< 0,001	0,012	0,060



Obr. 9: Grafy zobrazující závislost tvaru listové čepele taxonu *Ficaria verna* subsp. *verna* na zeměpisné šířce a délce. PC1, PC2 – komponentní skóre první a druhé osy PCA provedené na eliptických Fourierových deskriptorech.

5.3 Variabilita morfologických znaků – jednorozměrné analýzy

5.3.1 Kvantitativní znaky

Kruskal-Wallisův test odhalil pro studované taxony statisticky významné rozdíly ve všech kvantitativních znacích kromě šířky nažek (sN). Pro délku nažek (dN) vyšel sice test

signifikantně, ale při následném mnohonásobném porovnání nebyly rozdíly mezi taxony prokázány. Výsledky testů a vypočtené popisné statistiky (průměr, medián, směrodatná odchylka, minimum a maximum) včetně zaznačení rozdílů mezi srovnávanými taxony jsou shrnuty v tabulce 13. V přílohách 2–5 jsou krabičkové diagramy zobrazující variabilitu jednotlivých znaků uvnitř a mezi srovnávanými skupinami.

Největší délka a šířka listové čepele byla zjištěna u *ficariiformis* a *chrysocephala*. U obou těchto poddruhů průměrná délka čepele (DLB) činí více než 4 cm. Nejmenší průměrné rozměry listů byly naopak zaznamenány u *ficarioides*. *Calthifolia* a *verna* se neliší v délce listové čepele (DLA a DLB), ale liší se v jejich šířce (SL), která je u *verna* větší. *Fertilis* a *calthifolia* jsou signifikantně rozdílné ve znaku DLA (délka listu A), ale neliší se ve znaku DLB (délka listu B). Tyto dva poddruhy se vzájemně odlišují i ve znaku PO (vzdálenost nejširšího místa listu od místa nasedání řapíku): nejširší místo se u *calthifolia* nachází blíže vrcholu listu než v případě *verna*. *Fertilis* je jediný taxon, u něhož převažují listy se zápornou hodnotou znaku PO. Listy tohoto poddruhu se ve znaku PO významně liší od všech ostatních srovnávaných taxonů s výjimkou *ficarioides*. U znaku hloubka zářezu (HZ) byla zjištěna pouze nižší hodnota u *calthifolia* oproti *fertilis*, *ficariiformis* a *verna*.

Málo statisticky významných rozdílů mezi taxony bylo zjištěno i u poměrového znaku délka listu B / šířka listu (DLB_SL), kde pouze listy *calthifolia* vykazovaly signifikantně vyšší hodnoty než listy *fertilis* a *verna* (tedy listy *calthifolia* jsou relativně užší). Více rozdílů bylo zaznamenáno v případě znaku délka listu A / délka listu B (DLA_DLB). Pro listy *calthifolia* je hodnota tohoto znaku nejvyšší, což znamená, že bazální laloky (resp. zářez listu) představují nejmenší část celkové délky listové čepele ze všech taxonů. Na opačném konci se nalézá *fertilis*, u níž tvoří bazální laloky relativně největší část délky čepele. Znak PO_DLB (vzdálenost nejširšího místa listu od místa nasedání řapíku / délka listu B) nabývá nejvyšších hodnot u *calthifolia*. To znamená, že nejširší místo na listu se u tohoto poddruhu nachází relativně nejbliže vrcholu listu. Nejnížší hodnoty pro tento znak vykazuje *fertilis*, u níž je průměrná hodnota záporná, což je dáno zápornými hodnotami pro znak PO (vzdálenost nejširšího místa listu od místa nasedání řapíku). Nejdelší řapíky (znak DR) a nejtlustší čepele (znak TL) byly zjištěny u *chrysocephala*, nejkratší řapíky a nejtencí čepele u *ficarioides*.

Délka lodyhy v době květu (DL) i v době zralosti nažek (DL2) dosahuje nejvyšších hodnot u *verna* a *ficariiformis*. Přestože lodyhy jsou u poddruhu *verna* signifikantně delší než u *calthifolia*, květní stopky (znak KS) jsou naopak delší u *calthifolia* než u *verna*. Největší počet internodií na lodyze (PI) byl zjištěn u *verna*, která se v tomto znaku

Tab. 13: Hodnoty popisných statistik kvantitativních morfologických znaků pro jednotlivé taxony a výsledky Kruskal-Wallisova testu včetně mnohonásobného porovnání. Zobrazeny jsou průměr, medián, směrodatná odchylka (SD), minimální a maximální hodnota. Hodnota χ^2 představuje hodnotu testového kritéria Kruskal-Wallisova testu. Taxony sdílející stejné písmeno nebyly při porovnávání pomocí Dunnova testu signifikantně rozdílné. Pokud je místo písmenného vyjádření uvedena pomlčka, daný taxon nebyl zahrnut do testu kvůli nízkému počtu studovaných jedinců. FC – *Ficaria verna* subsp. *calthifolia*, FCH – *F. v.* subsp. *chrysocephala*, FFE – *F. v.* subsp. *fertilis*, FFI – *F. v.* subsp. *ficariiformis*, FFO – *F. v.* subsp. *ficarioides*, FS – *F. v.* subsp. *×sellii*, FV – *F. v.* subsp. *verna*. Zkratky morfologických znaků jsou vysvětleny v tabulce 9.

	DLA (cm)						DLB (cm)					
	$\chi^2 = 75,96, df = 6, p < 0,001$						$\chi^2 = 60,71, df = 6, p < 0,001$					
	Průměr	Medián	SD	Min.	Max.		Průměr	Medián	SD	Min.	Max.	
FC	2,75	2,84	0,59	1,59	4,38	ab	3,33	3,36	0,69	1,90	5,10	ab
FCH	3,39	3,45	0,83	2,34	4,60	ab	4,30	4,36	0,83	3,04	5,26	bc
FFE	2,04	2,04	0,48	1,20	3,30	c	2,95	2,87	0,65	1,80	4,76	a
FFI	3,24	3,08	0,73	2,03	5,41	a	4,22	4,17	0,97	2,48	6,47	c
FFO	2,03	1,88	0,53	1,55	2,79	bc	2,69	2,60	0,75	1,89	3,66	ab
FS	2,35	2,20	0,57	1,67	3,22	bc	3,05	3,01	0,61	2,31	3,92	ab
FV	2,64	2,62	0,54	1,61	4,59	b	3,56	3,56	0,68	2,13	5,76	b
	SL (cm)						PO (cm)					
	$\chi^2 = 74,47, df = 6, p < 0,001$						$\chi^2 = 119,42, df = 6, p < 0,001$					
	Průměr	Medián	SD	Min.	Max.		Průměr	Medián	SD	Min.	Max.	
FC	2,97	3,01	0,60	1,79	4,70	a	0,50	0,51	0,24	-0,06	1,33	a
FCH	4,02	4,08	0,59	3,07	4,69	bd	0,34	0,47	0,36	-0,13	0,77	ac
FFE	2,87	2,83	0,62	1,65	4,21	a	-0,14	-0,13	0,16	-0,44	0,28	b
FFI	3,92	3,83	0,80	2,54	5,78	b	0,43	0,40	0,34	-0,22	1,34	a
FFO	2,38	2,41	0,63	1,65	3,06	ac	0,27	0,19	0,32	-0,01	0,73	abc
FS	2,83	2,87	0,43	2,30	3,45	ac	0,31	0,38	0,21	-0,12	0,52	ac
FV	3,42	3,43	0,63	2,17	5,87	cd	0,26	0,26	0,23	-0,28	1,11	c
	HZ (cm)						DLB_SL					
	$\chi^2 = 84,98, df = 6, p < 0,001$						$\chi^2 = 56,07, df = 6, p < 0,001$					
	Průměr	Medián	SD	Min.	Max.		Průměr	Medián	SD	Min.	Max.	
FC	0,58	0,57	0,17	0,09	0,94	a	1,13	1,12	0,08	0,96	1,32	a
FCH	0,92	0,84	0,27	0,66	1,29	ab	1,07	1,07	0,06	0,99	1,13	ab
FFE	0,90	0,91	0,21	0,50	1,46	b	1,03	1,03	0,08	0,91	1,18	b
FFI	0,98	0,95	0,35	0,28	1,75	b	1,08	1,09	0,09	0,90	1,33	ab
FFO	0,66	0,68	0,29	0,34	0,94	ab	1,13	1,14	0,06	1,05	1,19	ab
FS	0,70	0,76	0,31	0,24	1,16	ab	1,07	1,07	0,06	0,95	1,13	ab
FV	0,91	0,89	0,22	0,31	1,53	b	1,04	1,04	0,07	0,83	1,23	b
	DLA_DLB						PO_DLB					
	$\chi^2 = 142,06, df = 6, p < 0,001$						$\chi^2 = 121,91, df = 6, p < 0,001$					
	Průměr	Medián	SD	Min.	Max.		Průměr	Medián	SD	Min.	Max.	
FC	0,83	0,82	0,04	0,76	0,97	a	0,15	0,15	0,07	-0,02	0,39	a
FCH	0,78	0,77	0,06	0,73	0,88	acd	0,07	0,09	0,08	-0,03	0,19	abc
FFE	0,69	0,69	0,04	0,60	0,81	b	-0,04	-0,04	0,05	-0,14	0,08	b
FFI	0,77	0,78	0,05	0,67	0,91	c	0,12	0,09	0,11	-0,04	0,64	ac
FFO	0,76	0,78	0,07	0,67	0,82	abcd	0,09	0,09	0,09	0,00	0,20	abc
FS	0,77	0,73	0,09	0,69	0,93	abcd	0,11	0,11	0,08	-0,04	0,20	ac
FV	0,74	0,74	0,04	0,64	0,90	d	0,08	0,07	0,07	-0,08	0,31	c

Tab. 13 – pokračování.

	TVAR						DR (mm)					
	$\chi^2 = 38,10, df = 6, p < 0,001$						$\chi^2 = 81,01, df = 6, p < 0,001$					
	Průměr	Medián	SD	Min.	Max.		Průměr	Medián	SD	Min.	Max.	
FC	0,68	0,68	0,05	0,58	0,79	a	59,77	57,24	17,53	30,11	99,85	a
FCH	0,71	0,76	0,12	0,55	0,84	ab	109,07	112,24	13,68	94,53	127,37	cd
FFE	0,74	0,75	0,06	0,56	0,81	b	69,58	68,22	24,17	34,24	118,71	ab
FFI	0,65	0,67	0,10	0,14	0,78	a	97,06	96,01	29,41	55,29	197,67	c
FFO	0,67	0,67	0,08	0,56	0,75	ab	40,15	36,25	10,89	32,33	55,75	a
FS	0,65	0,67	0,12	0,51	0,85	ab	59,81	59,61	6,48	51,04	72,39	ab
FV	0,67	0,67	0,07	0,52	0,83	a	80,34	78,52	23,16	30,74	157,11	bd
	TL (mm)						DL (mm)					
	$\chi^2 = 65,52, df = 6, p < 0,001$						$\chi^2 = 98,33, df = 5, p < 0,001$					
	Průměr	Medián	SD	Min.	Max.		Průměr	Medián	SD	Min.	Max.	
FC	0,40	0,41	0,06	0,24	0,53	ab	77,96	74,12	29,51	29,44	139,21	a
FCH	0,53	0,53	0,05	0,48	0,58	c	107,84	107,84	–	107,84	107,84	–
FFE	0,37	0,38	0,06	0,27	0,50	a	84,91	81,57	35,48	24,52	155,03	a
FFI	0,48	0,47	0,09	0,23	0,65	c	134,45	129,14	32,44	82,24	191,33	b
FFO	0,35	0,35	0,08	0,26	0,45	ab	19,03	19,03	7,06	14,04	24,02	ab
FS	0,36	0,35	0,04	0,33	0,42	ab	97,99	84,55	29,19	60,79	155,18	ab
FV	0,40	0,40	0,06	0,27	0,64	b	130,37	135,45	34,89	59,84	209,34	b
	KS (mm)						PI					
	$\chi^2 = 32,73, df = 5, p < 0,001$						$\chi^2 = 106,80, df = 5, p < 0,001$					
	Průměr	Medián	SD	Min.	Max.		Průměr	Medián	SD	Min.	Max.	
FC	63,26	59,53	22,21	29,44	133,23	a	2,25	2,00	0,61	1,00	4,00	a
FCH	15,88	15,88	–	15,88	15,88	–	3,33	3,33	–	3,33	3,33	–
FFE	57,24	55,49	23,15	13,14	102,97	ab	2,37	2,00	0,87	1,00	4,33	ab
FFI	65,35	73,40	25,07	21,14	118,29	a	3,09	3,00	0,90	2,00	5,50	bc
FFO	19,03	19,03	7,06	14,04	24,02	ab	1,00	1,00	0,00	1,00	1,00	ab
FS	61,41	63,31	24,55	25,87	105,72	ab	2,71	2,50	0,87	1,67	4,00	ab
FV	48,62	44,99	22,00	7,61	141,19	b	3,64	3,67	0,94	1,00	6,33	c
	PL						PL_PI					
	$\chi^2 = 27,61, df = 5, p < 0,001$						$\chi^2 = 53,84, df = 5, p < 0,001$					
	Průměr	Medián	SD	Min.	Max.		Průměr	Medián	SD	Min.	Max.	
FC	4,45	4,50	2,33	0,00	9,00	a	1,90	1,96	1,04	0,00	4,50	a
FCH	4,00	4,00	–	4,00	4,00	–	1,13	1,13	–	1,13	1,13	–
FFE	2,63	2,00	2,20	0,00	8,00	b	0,95	0,78	0,70	0,00	3,50	b
FFI	5,15	5,00	2,66	1,00	12,00	a	1,63	1,60	0,61	0,50	3,47	a
FFO	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	ab	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	bc
FS	4,85	5,00	1,73	1,00	7,50	a	1,90	1,83	0,94	0,50	3,75	ad
FV	4,53	4,50	1,72	0,00	9,33	a	1,27	1,19	0,50	0,00	4,50	cd

Tab. 13 – pokračování.

	C						PK (mm)					
	$\chi^2 = 18,66, df = 5, p = 0,002$						$\chi^2 = 23,98, df = 5, p < 0,001$					
	Průměr	Medián	SD	Min.	Max.		Průměr	Medián	SD	Min.	Max.	
FC	8,48	8,29	0,79	7,00	12,33	a	27,20	27,00	4,07	19,66	39,89	ab
FCH	11,33	11,33	–	11,33	11,33	–	23,80	23,80	–	23,80	23,80	–
FFE	8,42	8,33	0,96	6,00	10,67	a	24,49	24,93	4,29	14,55	32,55	a
FFI	9,31	9,33	0,98	8,00	11,67	b	29,74	29,20	5,15	21,09	42,42	b
FFO	8,00	8,00	0,00	8,00	8,00	ab	21,10	21,10	1,40	20,11	22,09	ab
FS	8,55	8,00	0,93	8,00	10,80	ab	25,59	25,54	3,44	20,50	31,18	ab
FV	8,68	8,33	0,92	7,00	13,00	a	25,95	25,83	3,84	15,55	42,28	a
	dC (mm)						sC (mm)					
	$\chi^2 = 24,31, df = 5, p < 0,001$						$\chi^2 = 37,60, df = 5, p < 0,001$					
	Průměr	Medián	SD	Min.	Max.		Průměr	Medián	SD	Min.	Max.	
FC	13,07	12,79	1,86	8,99	17,77	ab	4,98	4,98	0,82	3,37	7,87	ab
FCH	11,13	11,13	–	11,13	11,13	–	4,30	4,30	–	4,30	4,30	–
FFE	11,69	11,55	2,06	7,04	15,12	a	4,65	4,59	0,89	3,13	6,46	ac
FFI	13,95	13,72	2,24	10,13	18,52	b	5,61	5,47	0,97	3,39	7,35	b
FFO	9,95	9,95	0,86	9,34	10,55	ab	3,68	3,68	0,19	3,55	3,82	ac
FS	12,21	12,30	1,45	9,93	14,84	ab	4,58	4,41	0,89	3,27	6,88	ac
FV	12,37	12,28	1,83	7,56	20,61	a	4,57	4,44	0,84	2,87	7,65	c
	dC_sC						dK (mm)					
	$\chi^2 = 14,31, df = 5, p = 0,014$						$\chi^2 = 32,93, df = 5, p < 0,001$					
	Průměr	Medián	SD	Min.	Max.		Průměr	Medián	SD	Min.	Max.	
FC	2,67	2,60	0,37	2,02	3,79	ab	8,18	8,08	1,20	5,33	11,57	ab
FCH	2,59	2,59	–	2,59	2,59	–	8,01	8,01	–	8,01	8,01	–
FFE	2,59	2,57	0,50	1,57	3,63	ab	7,61	7,62	1,25	4,27	10,04	ac
FFI	2,53	2,51	0,25	2,07	3,04	a	9,02	9,25	1,31	6,88	11,42	b
FFO	2,71	2,71	0,10	2,64	2,78	ab	7,18	7,18	0,30	6,96	7,39	abc
FS	2,73	2,77	0,29	1,99	3,07	ab	7,29	7,05	0,89	5,62	9,17	ac
FV	2,77	2,78	0,44	1,79	4,06	b	7,67	7,58	1,04	4,79	10,84	c
	DL2 (mm)						PAC					
	$\chi^2 = 62,27, df = 5, p < 0,001$						$\chi^2 = 13,13, df = 2, p = 0,001$					
	Průměr	Medián	SD	Min.	Max.		Průměr	Medián	SD	Min.	Max.	
FC	97,80	84,63	32,95	41,63	155,66	a	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	–
FFE	108,64	99,09	48,57	21,02	204,49	ab	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	–
FFI	147,93	148,47	33,89	79,06	219,11	bc	3,22	2,00	3,55	0,00	11,50	ab
FFO	28,60	28,60	10,30	21,32	35,89	abc	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	–
FS	103,44	102,34	47,36	43,79	162,70	abc	1,33	1,00	1,63	0,00	4,00	a
FV	155,50	154,81	34,35	69,19	242,12	c	4,36	4,50	2,25	0,00	10,00	b

Tab. 13 – pokračování.

	VN						AN					
	$\chi^2 = 26,37, df = 5, p < 0,001$						$\chi^2 = 30,81, df = 5, p < 0,001$					
	Průměr	Medián	SD	Min.	Max.		Průměr	Medián	SD	Min.	Max.	
FC	6,60	4,00	8,64	0,00	39,00	ab	17,31	14,50	8,92	6,00	50,00	ab
FFE	7,32	8,50	7,20	0,00	21,50	ab	24,92	25,00	10,53	7,00	44,50	c
FFI	1,54	0,00	2,44	0,00	7,50	c	19,27	17,50	7,27	11,00	43,50	ac
FFO	16,75	16,75	3,89	14,00	19,50	a	11,50	11,50	3,54	9,00	14,00	abc
FS	1,00	0,00	2,45	0,00	6,00	bc	20,42	15,50	12,09	10,00	40,00	abc
FV	3,54	2,50	3,46	0,00	17,50	ab	14,83	14,00	6,01	2,00	32,50	b
	N						AN_N					
	$\chi^2 = 50,16, df = 5, p < 0,001$						$\chi^2 = 24,42, df = 5, p < 0,001$					
	Průměr	Medián	SD	Min.	Max.		Průměr	Medián	SD	Min.	Max.	
FC	23,90	21,50	10,42	8,50	59,00	ab	0,76	0,82	0,25	0,20	1,00	ab
FFE	32,24	32,00	10,18	16,50	63,50	a	0,77	0,77	0,24	0,25	1,00	abc
FFI	20,80	19,75	7,52	11,00	45,50	bc	0,93	1,00	0,12	0,63	1,00	c
FFO	28,25	28,25	7,42	23,00	33,50	abc	0,40	0,40	0,02	0,39	0,42	a
FS	21,42	16,50	11,39	10,00	40,00	abc	0,94	1,00	0,14	0,65	1,00	bc
FV	18,35	17,25	6,46	3,00	35,00	c	0,81	0,85	0,17	0,26	1,00	ab
	dN (mm)						sN (mm)					
	$\chi^2 = 11,77, df = 4, p = 0,019$						$\chi^2 = 8,51, df = 4, p = 0,075$					
	Průměr	Medián	SD	Min.	Max.		Průměr	Medián	SD	Min.	Max.	
FC	3,43	3,47	0,45	2,52	4,50	a	2,31	2,28	0,36	1,65	3,00	a
FFE	3,56	3,45	0,44	2,90	4,83	a	2,15	2,00	0,35	1,80	3,00	a
FFI	3,65	3,62	0,55	2,67	4,66	a	2,31	2,32	0,36	1,67	3,00	a
FFO	2,92	2,92	0,08	2,87	2,98	a	1,69	1,69	0,01	1,68	1,70	a
FS	3,20	3,20	–	3,20	3,20	–	2,00	2,00	–	2,00	2,00	–
FV	3,70	3,65	0,43	2,62	5,00	a	2,27	2,23	0,35	1,55	3,00	a
	dN_sN											
	$\chi^2 = 22,01, df = 4, p < 0,001$											
	Průměr	Medián	SD	Min.	Max.							
FC	1,59	1,59	0,14	1,29	1,81	a						
FFE	1,76	1,76	0,16	1,50	2,02	b						
FFI	1,63	1,61	0,10	1,54	1,88	ab						
FFO	1,73	1,73	0,06	1,69	1,78	ab						
FS	1,60	1,60	–	1,60	1,60	–						
FV	1,74	1,73	0,14	1,36	2,18	b						

významně liší od všech srovnávaných taxonů s výjimkou *ficariiformis*. Počet listů na lodyze je nejnižší u *ficarioides*, kde všechny studované lodyhy byly v době květu vyhodnoceny jako bezlisté. Druhý nejnižší počet byl zaznamenán u *fertilis*, která se signifikantně liší od všech taxonů s výjimkou *ficarioides*.

U silně korelovaných znaků průměr květu (PK) a délka korunního lístku (dC) byl jediný signifikantní rozdíl nalezen mezi *ficariiformis* a dvojicí *verna* a *fertilis*, které mají květy menší než *ficariiformis*. *Calthifolia* a *verna* se vzájemně neliší v délce korunních lístků (dC), avšak odlišují se jejich šířkou (znak sC), kdy u *calthifolia* jsou korunní lístky širší než u *verna*. Dále bylo zjištěno, že kališní lístky (znak dK) jsou u *calthifolia* signifikantně delší než u *verna*. V případě znaku délka/šířka korunního lístku (dC_sC) byl jediný statisticky významný rozdíl nalezen mezi *verna*, která má korunní lístky v průměru ze všech taxonů nejužší, a *ficariiformis*, u níž jsou naopak nejširší.

Při srovnání taxonů vytvářejících pacibulky byl zjištěn rozdíl v počtu pacibulek na lodyze (PAC) mezi *verna* a hybridním taxonem \times *sellii*. *Verna* vytváří na lodyze větší množství pacibulek než \times *sellii*. *Ficariiformis* se počtem pacibulek na lodyze neliší ani od jednoho z těchto taxonů. Nejméně vyvinutých nažek v jednom souplodí vytvářela \times *sellii* (průměrně 1,0). U tohoto taxonu bylo průměrně 94 % všech nažek v souplodí abortovaných. Podobně nízký počet vyvinutých nažek v jednom souplodí byl zjištěn ještě u *ficariiformis* (1,54). Další taxon s pacibulkami, *verna*, vytvářel vyvinutých nažek signifikantně více než *ficariiformis* (průměrně 3,54 v jednom souplodí). Nejvíce vyvinutých nažek v souplodí a také nejnižší podíl abortovaných nažek byl zaznamenán u *ficarioides*. Průměrný počet všech nažek v souplodí (tedy počet vyvinutých i abortovaných) se pohyboval od 18,35 u *verna* až po 32,24 u *fertilis*. Poměrem délka/šířka nažek (dN_sN) se odlišuje *calthifolia* od *verna* a *fertilis*: nažky *calthifolia* jsou kulatější, méně protáhlé.

5.3.2 Ordinální a kategoriální znaky

U znaků hodnocených na ordinální škále byly Kruskal-Wallisovým testem zjištěny signifikantní rozdíly mezi taxony pro všechny hodnocené znaky (tab. 14). Znak skvrnitost listů – barva (BS), nabývající čtyř možných kategorií, byl testován pomocí Fisherova exaktního testu, jehož výsledky jsou shrnuty v tabulce 15. Na obrázcích 10–12 je pomocí skládaných sloupcových diagramů vyjádřeno zastoupení jednotlivých stavů kategoriálních znaků (znaky na ordinální škále 1–3 a znak skvrnitost listů – barva) pro studované taxony, s výjimkou taxonů s velmi nízkým počtem hodnocených jedinců. V tabulce 16 jsou tyto výsledky vyjádřeny číselně pro všechny taxony.

Tab. 14: Výsledky Kruskal-Wallisova testu pro kategoriální znaky. Stejné písmeno v řádce značí, že taxony nebyly pro daný znak při porovnávání pomocí Dunnova testu signifikantně rozdílné ($p \leq 0,05$). Hodnota χ^2 představuje hodnotu testového kritéria Kruskal-Wallisova testu. FC – *Ficaria verna* subsp. *calthifolia*, FFE – *F. v.* subsp. *fertilis*, FFI – *F. v.* subsp. *ficariiformis*, FFO – *F. v.* subsp. *ficarioides*, FS – *F. ×sellii*, FV – *F. v.* subsp. *verna*. Zkratky morfologických znaků jsou vysvětleny v tabulce 16.

znak	χ^2	df	p	FC	FFE	FFI	FFO	FS	FV
PC	22,66	5	< 0,001	a	ab	b	ab	ab	a
CHR	125,47	5	< 0,001	a	a	bc	abc	ab	c
PR	161,87	5	< 0,001	a	bc	d	abd	ad	c
O	46,09	5	< 0,001	a	ab	ab	b	a	b
AC	45,04	5	< 0,001	ab	c	ac	abc	abc	b
AL	55,95	5	< 0,001	a	a	a	ab	a	b
S	32,88	5	< 0,001	a	b	abc	abc	ac	c
Z	35,85	4	< 0,001	a	ab	b	ab	–	b
CH	13,76	4	0,008	a	b	ab	ab	–	ab

Tab. 15: Výsledky (p-hodnoty) Fisherova exaktního testu (mnohonásobné porovnání) pro znak skvrnitost listů – barva (BS). FC – *Ficaria verna* subsp. *calthifolia*, FFE – *F. v.* subsp. *fertilis*, FFI – *F. v.* subsp. *ficariiformis*, FS – *F. ×sellii*, FV – *F. v.* subsp. *verna*, ns – nesignifikantní výsledek ($p \geq 0,05$), NS – bez skvrn, Sv – světlé skvrny, Tm – tmavé skvrny, TmSv – světlé i tmavé skvrny.

	NS : Sv	NS : Tm	NS : TmSv	Sv : Tm	Sv : TmSv	Tm : TmSv
FC : FFE	< 0,001	ns	< 0,001	ns	ns	ns
FC : FFI	ns	0,002	ns	ns	ns	ns
FC : FS	ns	ns	ns	ns	ns	ns
FC : FV	ns	0,002	ns	ns	ns	ns
FFE : FFI	< 0,001	ns	0,041	0,001	0,031	ns
FFE : FS	< 0,001	ns	< 0,001	ns	ns	ns
FFE : FV	< 0,001	ns	< 0,001	0,003	ns	ns
FFI : FS	ns	ns	ns	ns	ns	ns
FFI : FV	ns	ns	ns	ns	ns	ns
FS : FV	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Ficariiformis se od *calthifolia* a *verna* signifikantně odlišuje větším překrytím korunních lístků (znak PC). Zatímco lodyhy u *calthifolia* a *fertilis* rostou spíše vzpřímeně (znak CHR), *verna* a *ficariiformis* vytvářejí převážně poléhavé nebo vystoupavé lodyhy. U *ficarioides* byly lodyhy obou studovaných jedinců vyhodnoceny jako vzpřímené. Sloupcový diagram na obrázku 10 vpravo nahoře naznačuje, že *×sellii* je v tomto znaku intermediární mezi *verna* a *calthifolia* (bylo ale hodnoceno pouze 12 jedinců). Přítomnost přeslenu byla pozorována u všech taxonů, avšak v případě *verna* a *fertilis* pouze vzácně. Častá je u *calthifolia* a *×sellii*. Tendence vytvářet přeslen je ale patrná také u *ficariiformis*. Ve většině případů se jednalo o zřetelně vyvinutý přeslen, tedy s více než třemi listy. Vyvinutý přeslen měly i obě studované rostliny *ficarioides*. U obou jedinců *ficarioides* byl okraj listové čepele

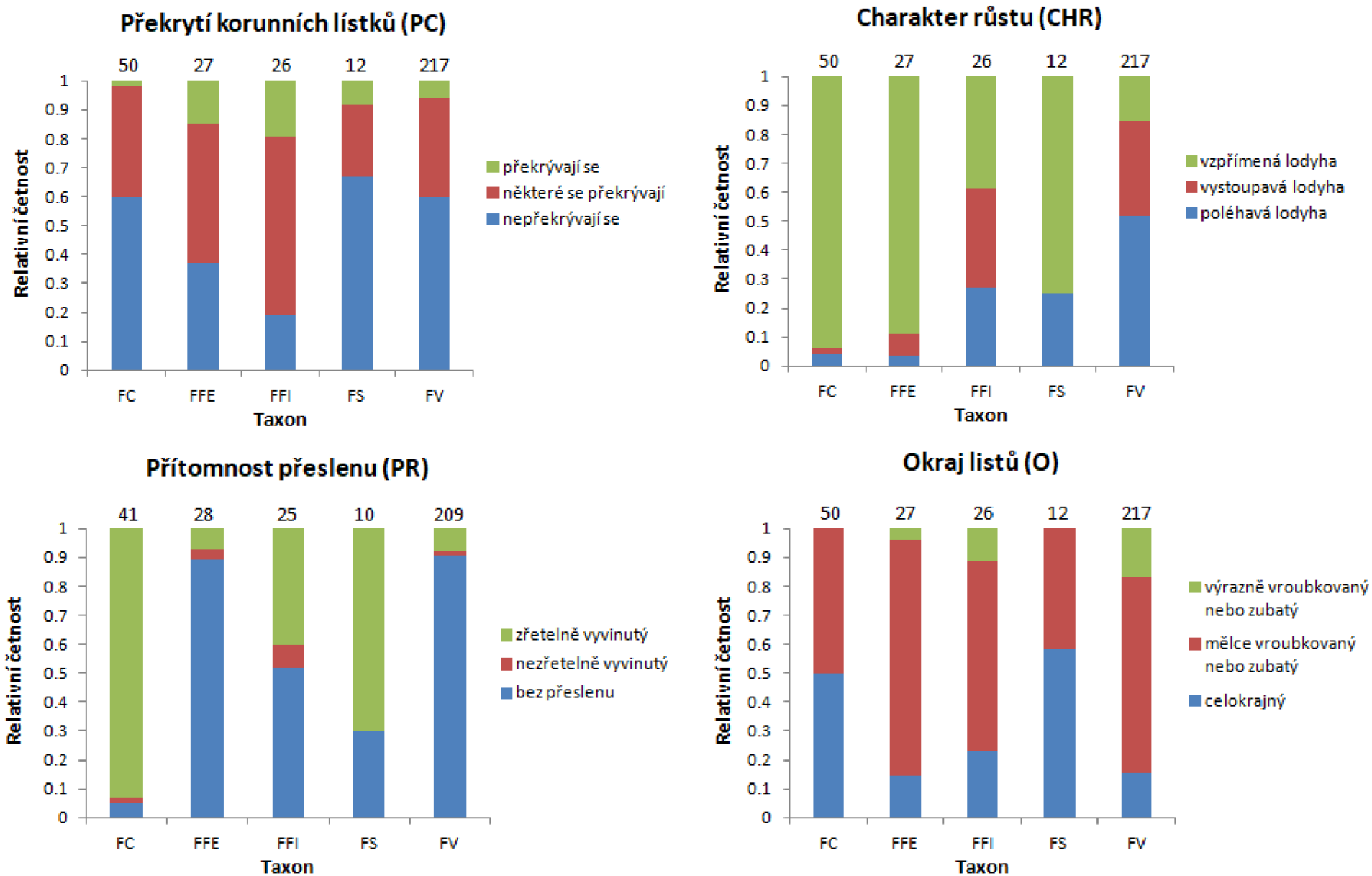
(O) vyhodnocen jako výrazně vroubkovaný nebo zubatý. Poměrně výrazné vroubkování či zubatost listů vykazuje též *verna*, která se spolu s *ficarioides* významně liší od *calthifolia* a *×sellii*, u nichž byly listy všech jedinců hodnoceny jako celokrajné či mělce vroubkované nebo zubaté.

U znaku zabarvení korunních lístků anthokyany (AC) se ukázalo, že *fertilis* má v korunních lístcích více anthokyanů než *calthifolia* a *verna* (resp. její korunní lístky jsou z vnější strany více zabarveny do fialova). Významný rozdíl byl zjištěn také mezi *ficariiformis* a *verna*: *ficariiformis* má anthokyanů v korunních lístcích více. Opačně je tomu u znaku zabarvení lodyhy a řapíků anthokyany (AL), kde bylo u *verna* anthokyanů více nejen ve srovnání s *ficariiformis*, ale i ve srovnání s *calthifolia*, *fertilis* a *×sellii*.

Nejvíce skvrnité listy vytváří *fertilis*, u níž měl pouze jeden studovaný jedinec listy bez skvrn. U tohoto poddruhu převažovaly rostliny s listy hodnocenými jako málo skvrnité. Naopak většina studovaných jedinců *calthifolia* a *×sellii* (cca 80 %) měla listy zcela bez skvrn. Znak skvrnitost listů – barva (BS) zčásti vyjadřuje stejnou informaci jako znak skvrnitost listů (S). Je patrné, že nejvíce rostlin vytvářelo pouze neskvrnité listy (170 jedinců). Druhý nejčastější byl stav, kdy se na jedné rostlině vyskytovaly listy se světlými i tmavými skvrnami (90 jedinců). Pouze tmavé skvrny mělo 41 jedinců a pouze světlé skvrny 34 jedinců. *Calthifolia* je jediný taxon, u něhož nebyly zaznamenány žádné rostliny s pouze tmavými skvrnami. Tvorba pouze světlých skvrn je u většiny taxonů vzácná nebo nebyla pozorována; výjimkou je *fertilis*, u které to byl nejčastější stav. Nápadně četnější výskyt listů s pouze světlými skvrnami a obecně častější výskyt skvrnitých listů u *fertilis* ve srovnání s ostatními taxony zodpovídají za velkou část významných rozdílů uvedených v tabulce 15.

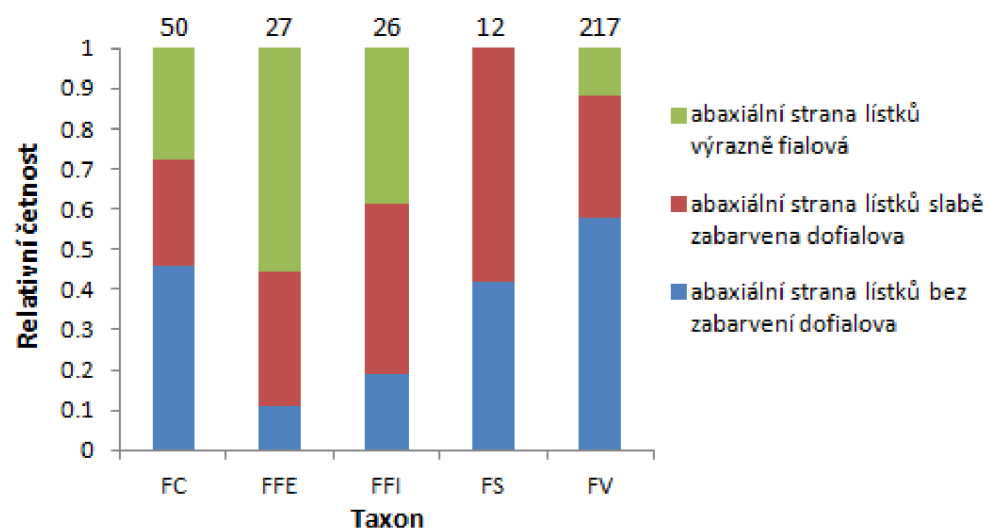
Velikostí zobánku (Z) se významně liší *calthifolia* od *ficariiformis* a *verna*. V případě *calthifolia* mělo 90 % jedinců nažky bez zobánku a žádná hodnocená rostlina neměla nažky s nápadným zobánkem. Většina jedinců *ficariiformis* a *verna* měla naopak nažky s vyvinutým zobánkem. Pro znak chlupatost nažek (CH) byl statisticky významný rozdíl zaznamenán pouze mezi *calthifolia* a *fertilis*. Nažky *fertilis* byly ve srovnání s *calthifolia* hodnoceny jako hustěji chlupaté.

Chlupaté lodyhy se vyskytovaly pouze u několika jedinců *fertilis* (viz tab. 16). Z toho důvodu nebyl znak chlupatost lodyhy (CHL) statisticky testován a nebyl pro něj zhotoven ani sloupcový diagram.

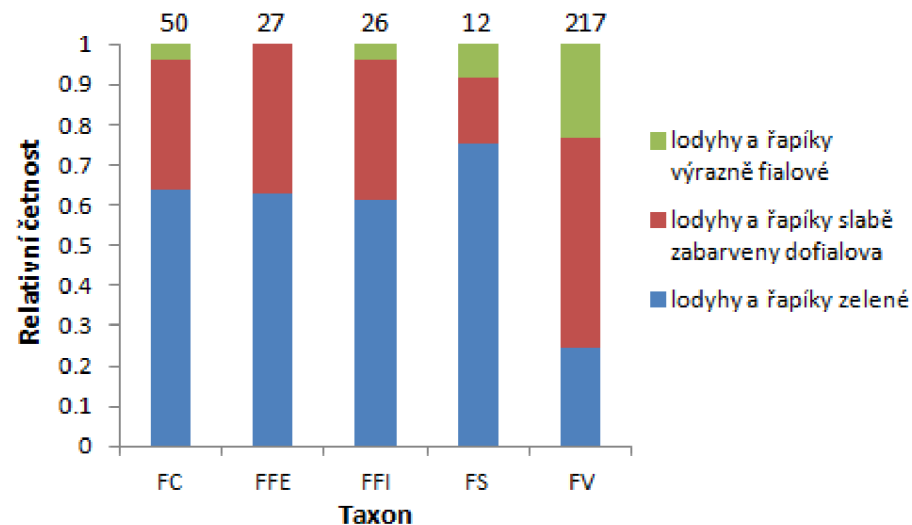


Obr. 10: Relativní četnosti kategorií kategoriálních morfologických znaků pro jednotlivé taxony (skladané sloupcové diagramy). FC – *Ficaria verna* subsp. *calthifolia*, FFE – *F. v.* subsp. *fertilis*, FFI – *F. v.* subsp. *ficariiformis*, FS – *F. ×sellii*, FV – *F. v.* subsp. *verna*.

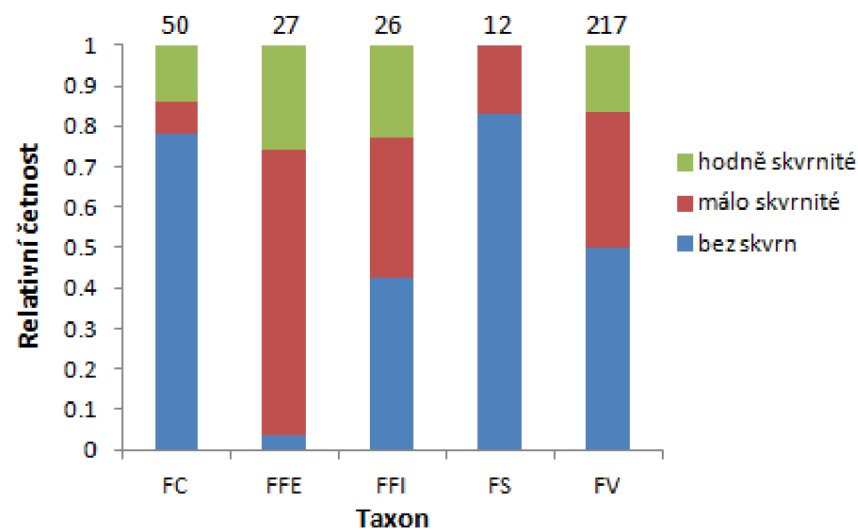
Zabarvení korunních lístků anthokyany (AC)



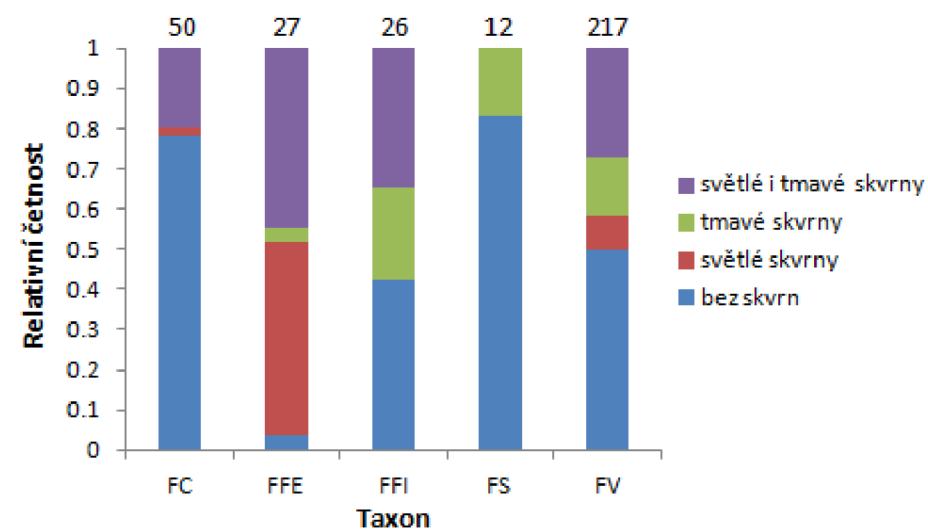
Zabarvení lodyhy a řapíků anthokyany (AL)



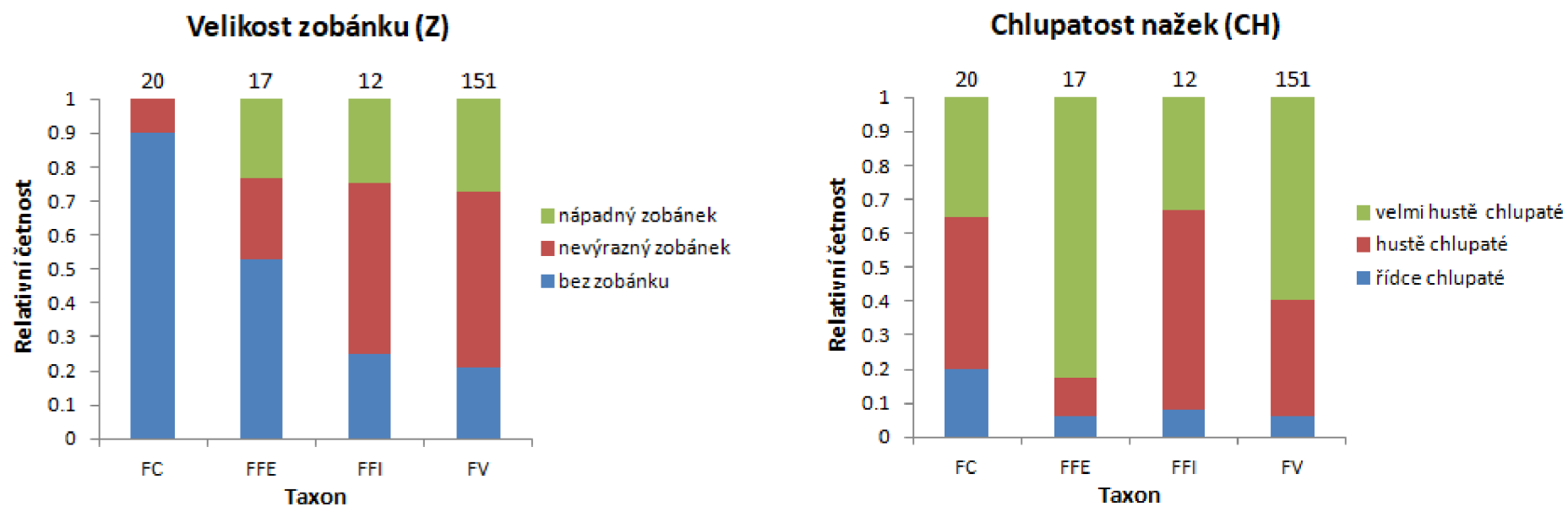
Skvrnitost listů (S)



Skvrnitost listů – barva (BS)



Obr. 11: Relativní četnosti kategorií kategoriálních morfologických znaků pro jednotlivé taxony (skladané sloupcové diagramy). FC – *Ficaria verna* subsp. *calthifolia*, FFE – *F. v.* subsp. *fertilis*, FFI – *F. v.* subsp. *ficariiformis*, FS – *F. ×sellii*, FV – *F. v.* subsp. *verna*.



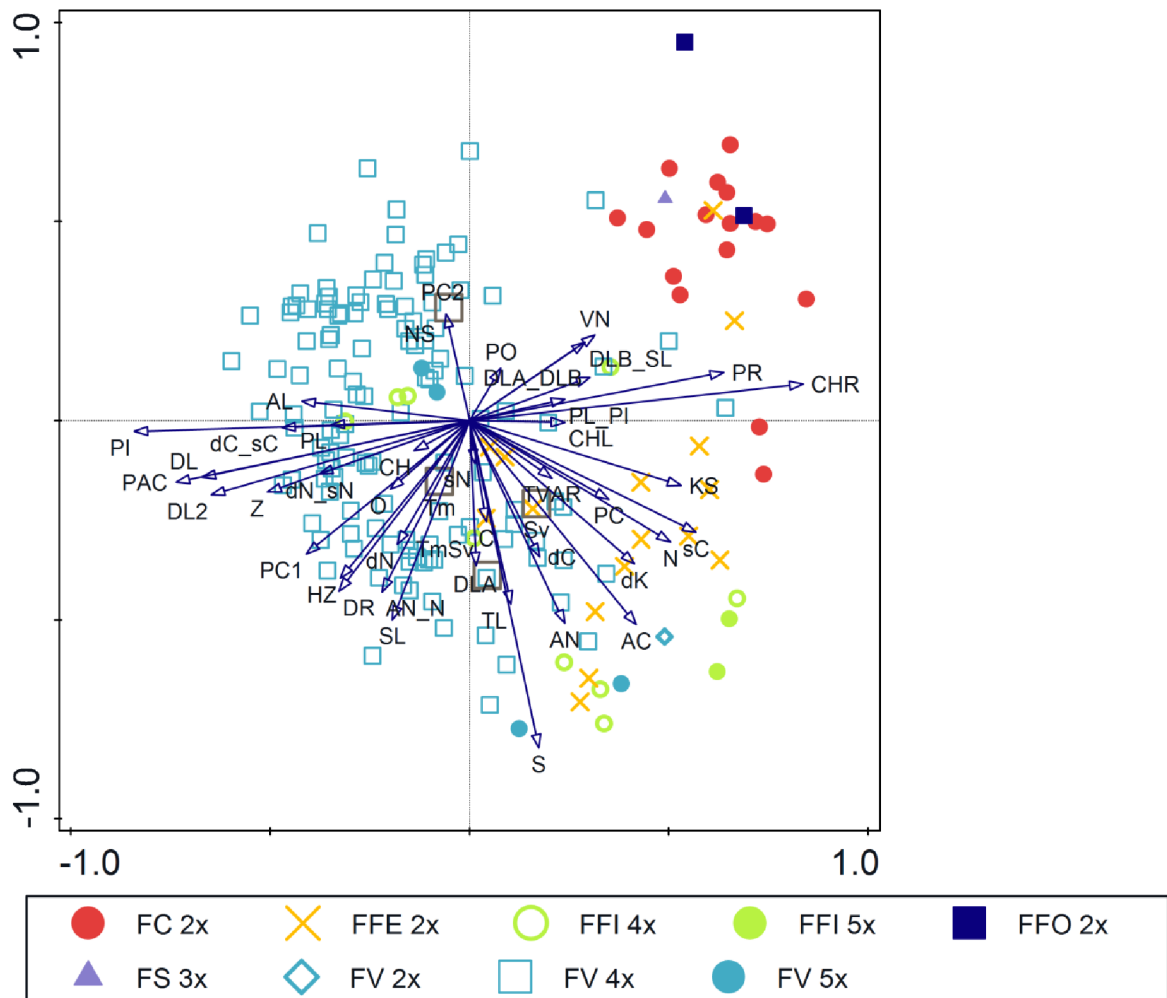
Obr. 12: Relativní četnosti kategorií kategoriálních morfologických znaků pro jednotlivé taxony (skládané sloupcové diagramy). FC – *Ficaria verna* subsp. *calthifolia*, FFE – *F. v.* subsp. *fertilis*, FFI – *F. v.* subsp. *ficariiformis*, FV – *F. v.* subsp. *verna*.

Tab. 16: Počty jedinců studovaných taxonů, u nichž byly zaznamenány jednotlivé stavy kategoriálních znaků. FC – *Ficaria verna* subsp. *calthifolia*, FFE – *F. v.* subsp. *fertilis*, FFI – *F. v.* subsp. *ficariiiformis*, FFO – *F. v.* subsp. *ficarioides*, FCH – *F. v.* subsp. *chrysocephala*, FS – *F. ×sellii*, FV – *F. v.* subsp. *verna*.

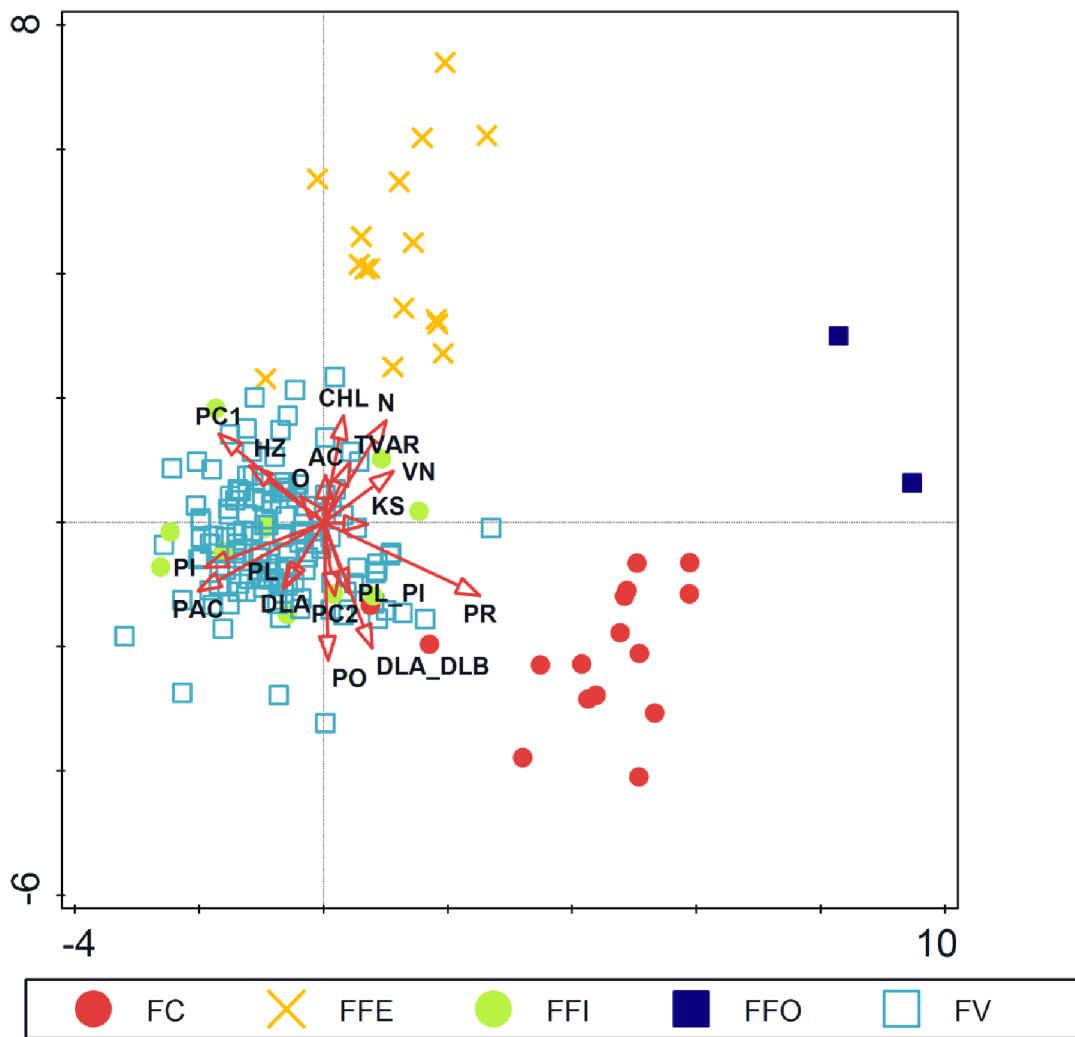
znak	stav znaku	FC	FFE	FFI	FFO	FCH	FS	FV
Překrytí korunních lístků (PC)	1	30	10	5	1	0	8	130
	2	19	13	16	1	1	3	74
	3	1	4	5	0	0	1	13
Charakter růstu (CHR)	1	2	1	7	0	0	3	112
	2	1	2	9	0	1	0	72
	3	47	24	10	2	0	9	33
Přítomnost přeslenu (PR)	1	2	25	13	0	1	3	189
	2	1	1	2	0	0	0	3
	3	38	2	10	2	0	7	17
Okraj listu (O)	1	25	4	6	0	1	7	34
	2	25	22	17	0	0	5	147
	3	0	1	3	2	0	0	36
Zabarvení korunních lístků anthokyany (AC)	1	23	3	5	2	1	5	125
	2	13	9	11	0	0	7	66
	3	14	15	10	0	0	0	26
Zabarvení lodyhy a řapíků anthokyany (AL)	1	32	17	16	1	1	9	53
	2	16	10	9	1	0	2	113
	3	2	0	1	0	0	1	51
Skvrnitost listů (S)	1	39	1	11	1	0	10	108
	2	4	19	9	1	1	2	73
	3	7	7	6	0	0	0	36
Chlupatost lodyhy (CHL)	1	50	21	26	2	1	12	217
	2	5	0	0	0	0	0	0
	3	1	0	0	0	0	0	0
Velikost zobánku (Z)	1	18	9	3	2	0	1	32
	2	2	4	6	0	0	0	78
	3	0	4	3	0	0	0	41
Chlupatost nažek (CH)	1	4	1	1	0	0	0	9
	2	9	2	7	2	0	1	52
	3	7	14	4	0	0	0	90
Skvrnitost listů – barva (BS)	NS	39	1	11	1	0	10	108
	Sv	1	13	0	0	1	0	19
	Tm	0	1	6	1	0	2	31
	TmSv	10	12	9	0	0	0	59

5.3.3 Mnohorozměrné analýzy: analýza hlavních koordinát (PCoA) a diskriminační analýza (CDA)

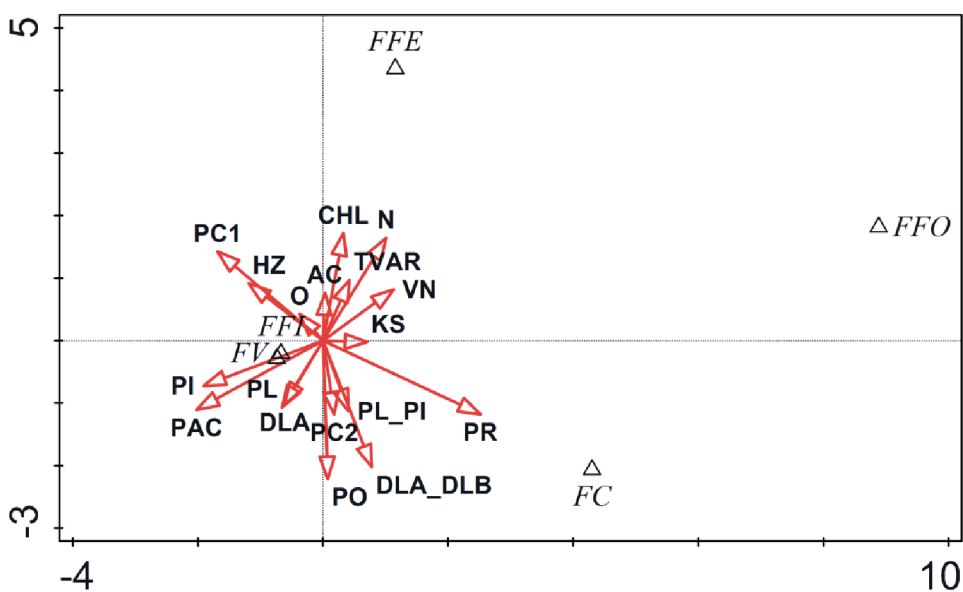
V případě první PCoA provedené se všemi znaky vysvětluje první osa 16,99 % a druhá osa 11,46 % celkové variability (obr. 13). S první osou nejvíce korelují znaky PI (počet internodií na lodyze) a CHR (charakter růstu) a s druhou osou znak S (skvrnitost listů). Podél první osy jsou relativně dobře vzájemně oddělené *verna* a *calthifolia*, podél druhé osy *calthifolia* a *ficariiformis*. Jedinci *fertilis* jsou koncentrováni v pravé části diagramu, avšak zasahují do shluků jiných taxonů. Oba jedinci *ficarioides* vykazují největší podobnost taxonům *calthifolia* a *×sellii*. Diskriminační analýzou bylo vybráno celkem 18 ze 40 znaků (obr. 14 a 15).



Obr. 13: PCoA ordinační diagram jedinců pro všechny znaky. Zaznačeny jsou taxony včetně ploidní úrovně. FC – *Ficaria verna* subsp. *calthifolia*, FFE – *F. v.* subsp. *fertilis*, FFI – *F. v.* subsp. *ficariiformis*, FFO – *F. v.* subsp. *ficarioides*, FS – *F. ×sellii*, FV – *F. v.* subsp. *verna*. Zkratky znaků viz tab. 9 a 11.

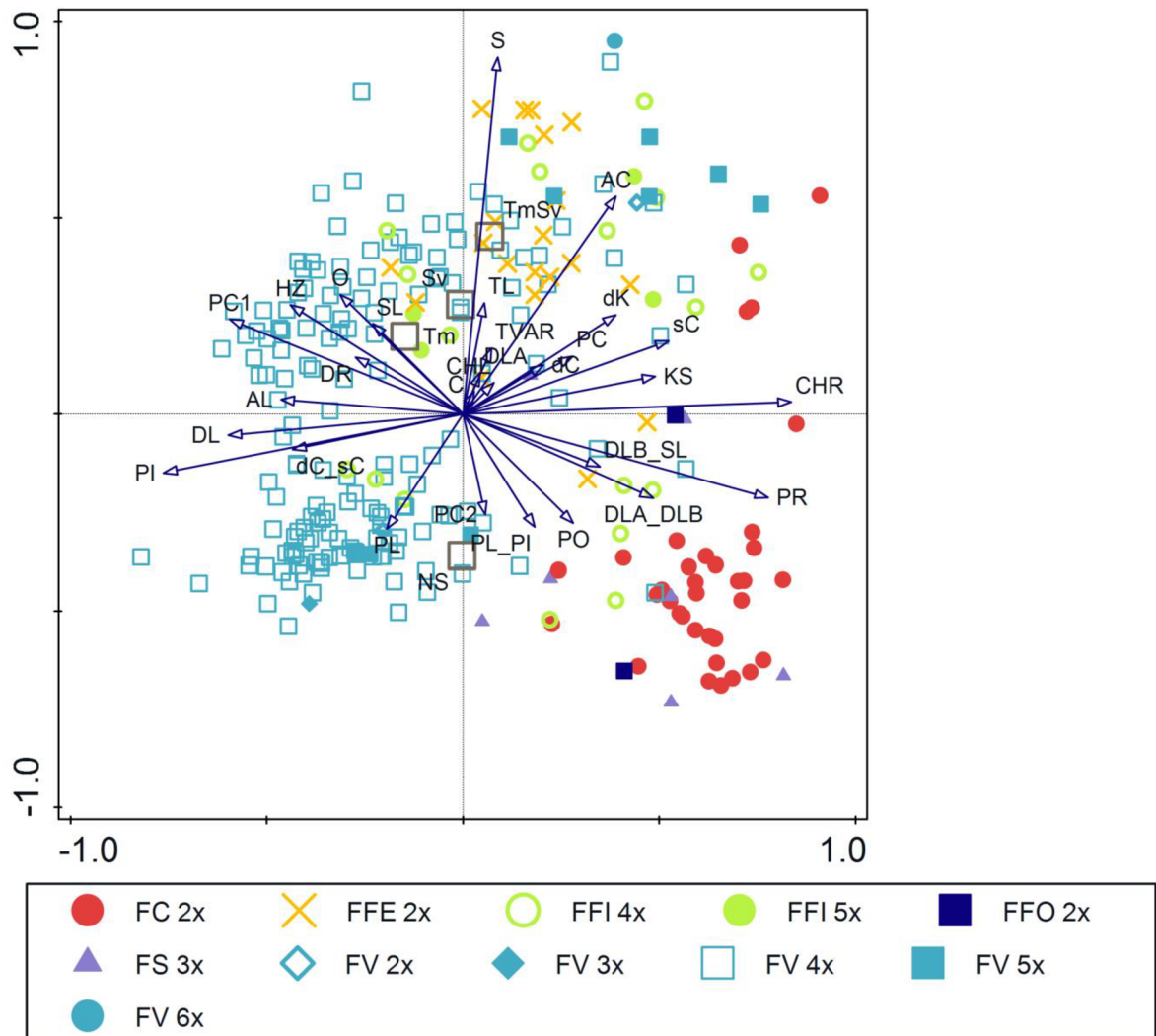


Obr. 14: CDA ordinační diagram pro všechny znaky (kromě kategoriálního znaku BS) se značením jedinců. FC – *Ficaria verna* subsp. *calthifolia*, FFE – *F. v.* subsp. *fertilis*, FFI – *F. v.* subsp. *ficariiformis*, FFO – *F. v.* subsp. *ficarioides*, FV – *F. v.* subsp. *verna*. Zkratky znaků viz tab. 9.

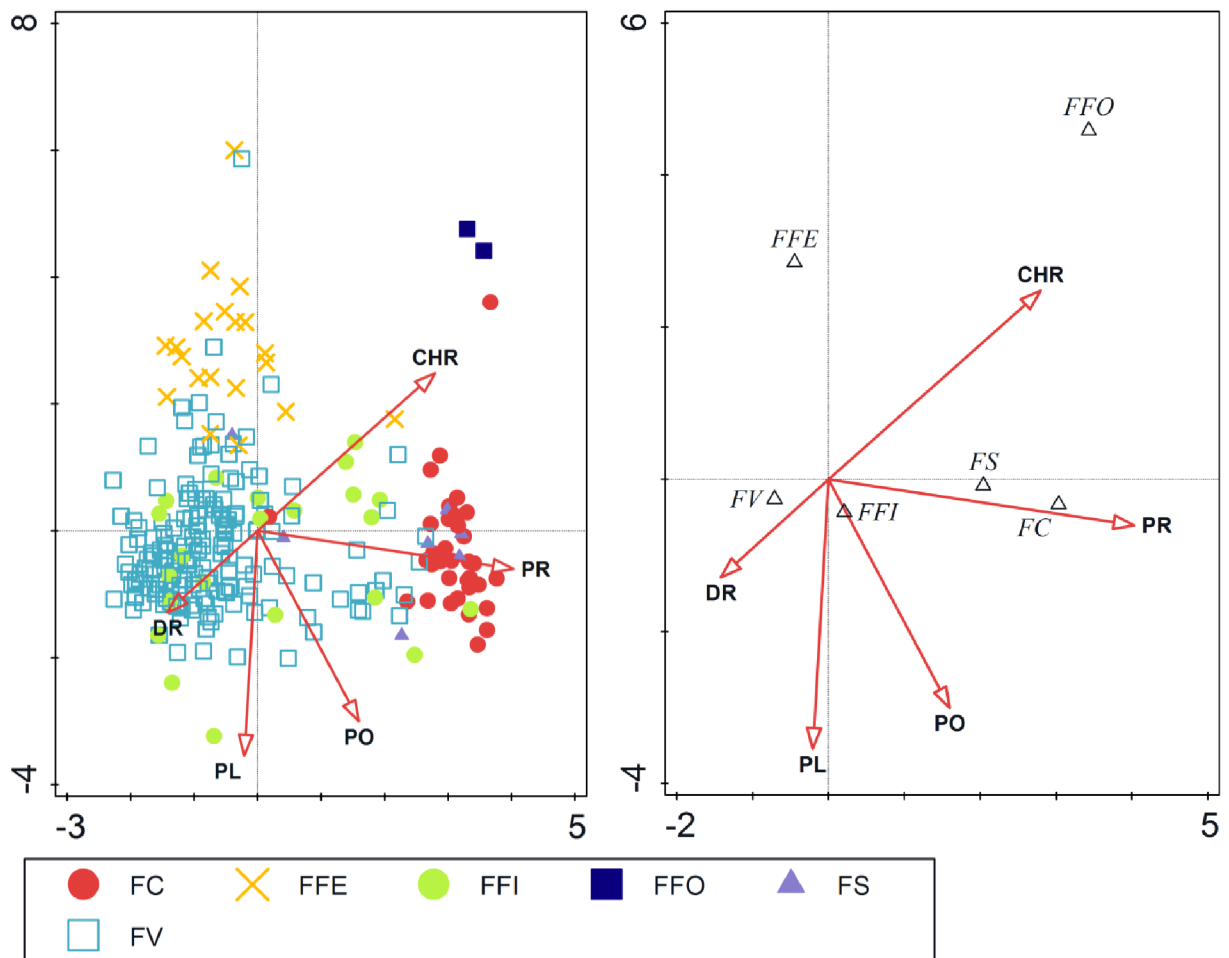


Obr. 15: CDA ordinační diagram pro všechny znaky (kromě kategoriálního znaku BS) se značením taxonů. FC – *Ficaria verna* subsp. *calthifolia*, FFE – *F. v.* subsp. *fertilis*, FFI – *F. v.* subsp. *ficariiformis*, FFO – *F. v.* subsp. *ficarioides*, FV – *F. v.* subsp. *verna*. Zkratky znaků viz tab. 9.

V případě druhé PCoA vysvětluje první osa 18,03 % a druhá 14,20 % celkové variability (obr. 16). S první osou nejvíce korelují znaky CHR (charakter růstu), PR (přítomnost přeslenu) a PI (počet internodií na lodyze). S druhou osou opět nejvíce koreluje znak S (skvrnitost listů). Vyřazení některých znaků mělo za následek větší počet jedinců v analýze, ale ve srovnání s předešlou PCoA spíše horší separaci jednotlivých taxonů. Jedinci *×sellii* a *ficarioides* se nacházejí v blízkosti shluku *calthifolia*. Diskriminační analýzou bylo vybráno celkem 5 z 29 znaků (obr. 17).



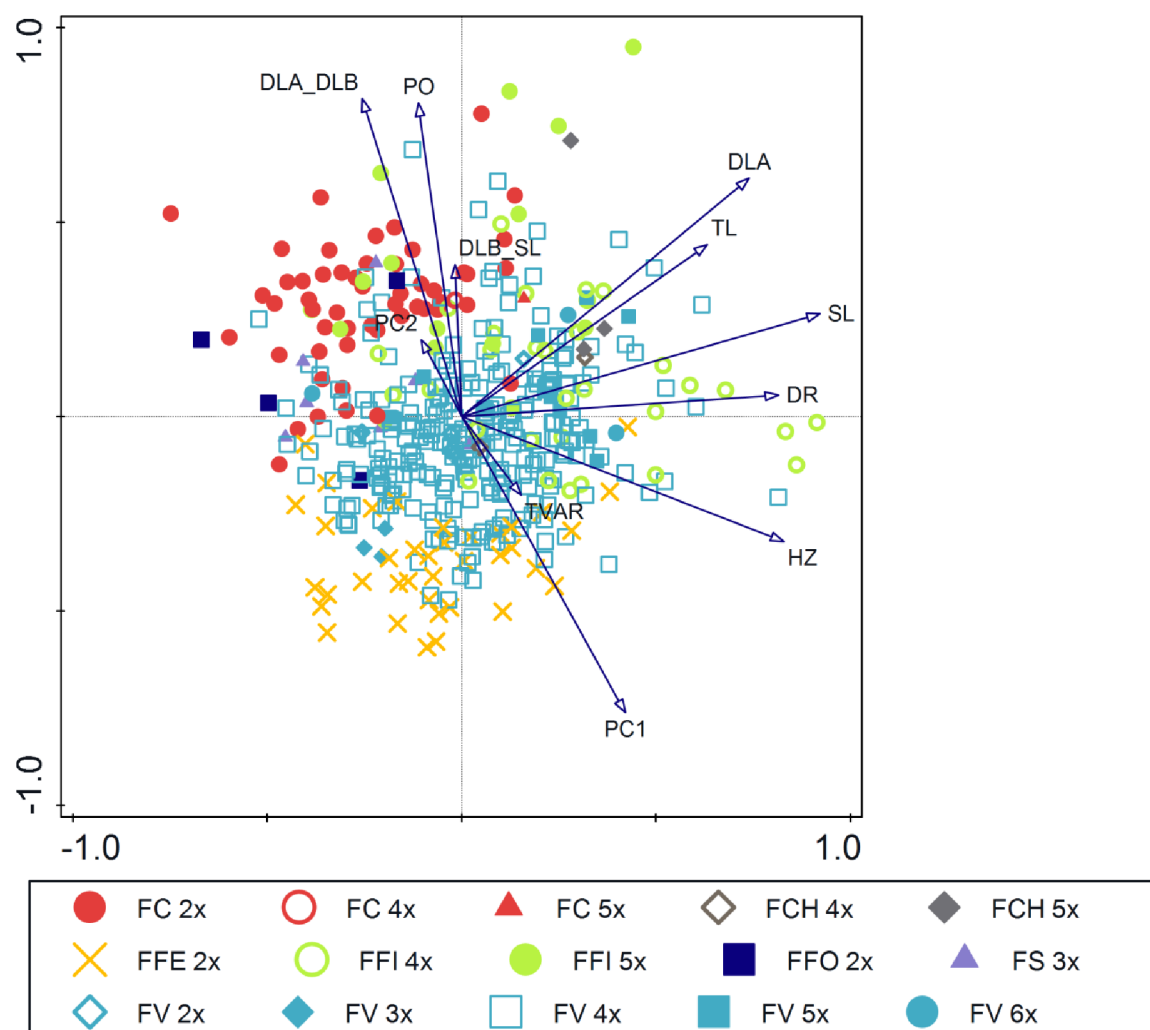
Obr. 16: PCoA ordinační diagram jedinců pro všechny znaky kromě znaků PAC, DL2 a znaků na nažkách. Zaznačeny jsou taxony včetně ploidní úrovně. FC – *Ficaria verna* subsp. *calthifolia*, FFE – *F. v.* subsp. *fertilis*, FFI – *F. v.* subsp. *ficariiformis*, FFO – *F. v.* subsp. *ficarioides*, FS – *F. ×sellii*, FV – *F. v.* subsp. *verna*. Zkratky znaků viz tab. 9 a 11.



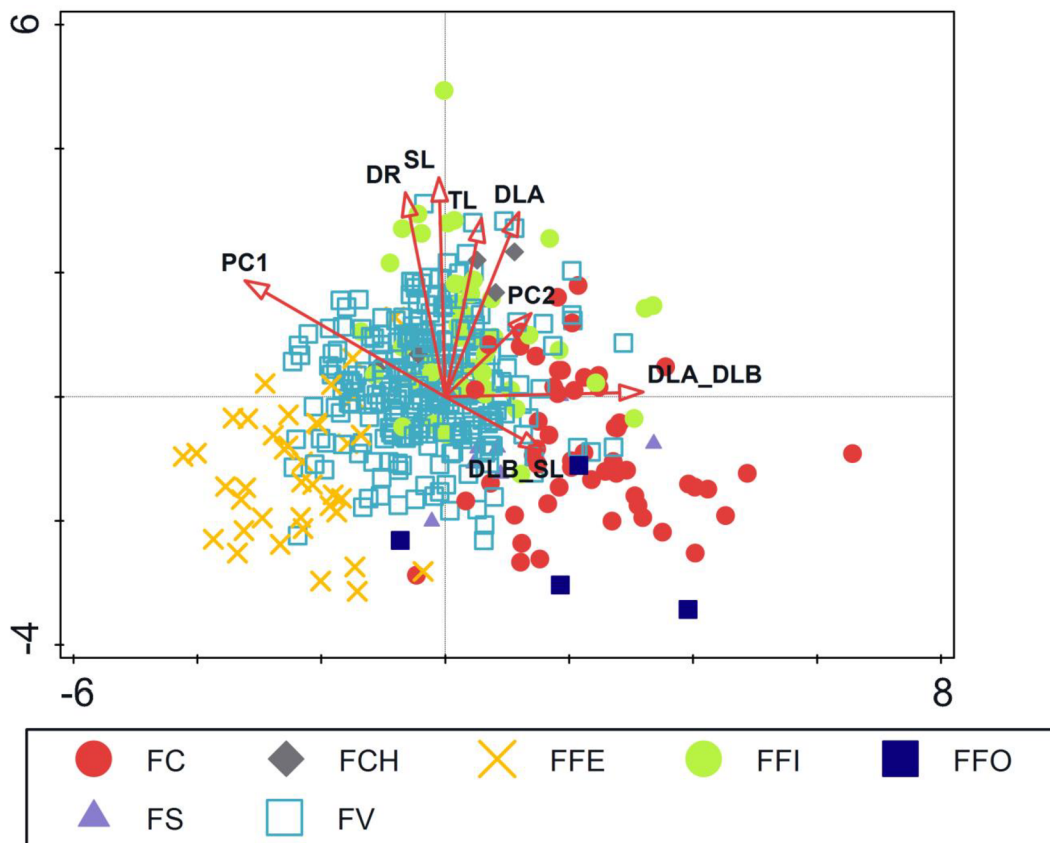
Obr. 17: CDA ordinační diagram pro všechny znaky kromě znaků BS, PAC, DL2 a znaků na nažkách se označením jedinců (vlevo) a taxonů (vpravo). FC – *Ficaria verna* subsp. *calthifolia*, FFE – *F. v.* subsp. *fertilis*, FFI – *F. v.* subsp. *ficariiformis*, FFO – *F. v.* subsp. *ficarioides*, FS – *F. ×sellii*, FV – *F. v.* subsp. *verna*. Zkratky znaků viz tab. 9.

U třetí PCoA (se znaky měřenými na odebraných listech) vysvětluje první osa 24,60 % a druhá osa 20,50 % celkové variability (obr. 18). S první osou nejvíce korelují znaky SL (šířka listu), HZ (hloubka zářezu) a DR (délka řapíku). S druhou osou nejvíce korelují znaky DLA_DLB (délka listu A / délka listu B) a PO (vzdálenost nejširšího místa listu od místa nasedání řapíku). Ve srovnání s předchozími analýzami dokázala tato PCoA lépe odlišit jednotlivé taxony. *Calthifolia* a *fertilis* se v diagramu prakticky nepřekrývají. Centrum shluku *verna* se nachází mezi *calthifolia* a *fertilis*, částečně však zasahuje do shluků obou těchto poddruhů. Jedinci *×sellii* se nacházejí zhruba mezi *calthifolia* a *verna*. Pozice *ficarioides* je i v této analýze v blízkosti shluku *calthifolia*. Jedinci *ficariiformis* z velké části zasahují do shluku *verna*, ale částečně se prostorově separují díky vyšším hodnotám znaků souvisejících s velikostí rostliny, resp. orgánů. Podobnou tendenci vykazuje i *chrysocephala*,

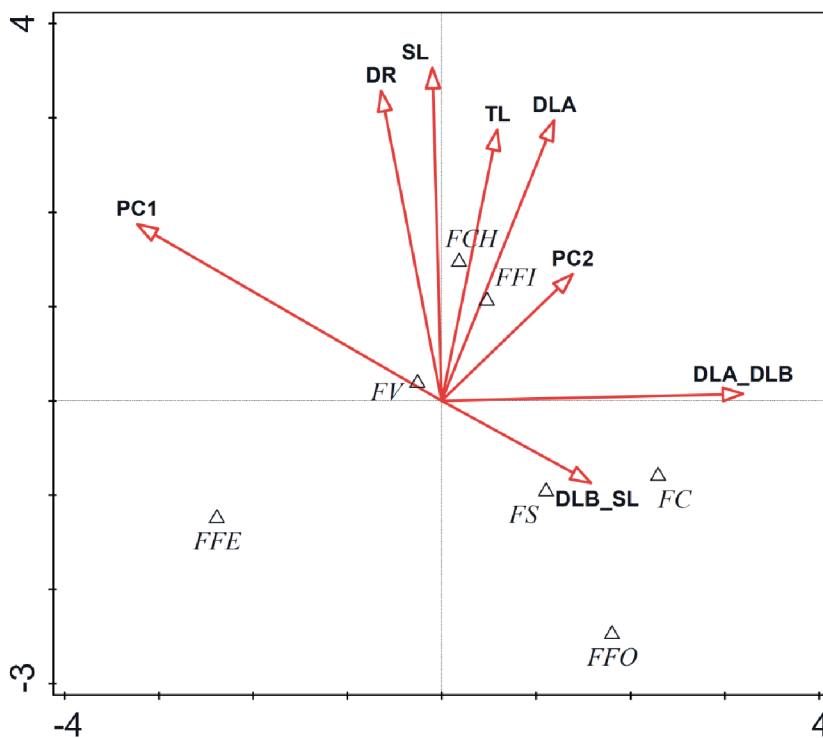
u níž však byli hodnoceni pouze čtyři jedinci. Diskriminační analýzou bylo vybráno celkem 8 z 11 znaků (obr. 19 a 20).



Obr. 18: PCoA ordinační diagram jedinců pro znaky hodnocené na odebraných listech. Zaznačeny jsou taxony včetně ploidní úrovně. FC – *Ficaria verna* subsp. *calthifolia*, FCH – *F. v.* subsp. *chrysocephala*, FFE – *F. v.* subsp. *fertilis*, FFI – *F. v.* subsp. *ficariiformis*, FFO – *F. v.* subsp. *ficarioides*, FS – *F. ×sellii*, FV – *F. v.* subsp. *verna*. Zkratky znaků viz tab. 9.



Obr. 19: CDA ordinační diagram pro znaky hodnocené na odebraných listech se zaznačením jedinců. FC – *Ficaria verna* subsp. *calthifolia*, FCH – *F. v.* subsp. *chrysocephala*, FFE – *F. v.* subsp. *fertilis*, FFI – *F. v.* subsp. *ficariiformis*, FFO – *F. v.* subsp. *ficarioides*, FS – *F. ×sellii*, FV – *F. v.* subsp. *verna*. Zkratky znaků viz tab. 9.



Obr. 20: CDA ordinační diagram pro znaky hodnocené na odebraných listech se zaznačením taxonů. FC – *Ficaria verna* subsp. *calthifolia*, FCH – *F. v.* subsp. *chrysocephala*, FFE – *F. v.* subsp. *fertilis*, FFI – *F. v.* subsp. *ficariiformis*, FFO – *F. v.* subsp. *ficarioides*, FS – *F. ×sellii*, FV – *F. v.* subsp. *verna*. Zkratky znaků viz tab. 9.

6 Diskuze

Vysoká morfologická variabilita a fenotypová plasticita je běžnou příčinou nejasné taxonomické klasifikace u řady rostlin (např. Kellogg et al. 2004; Angaji et al. 2012; Nicoletti et al. 2014; Koutecký et al. 2022). Nejinak je tomu i u rodu *Ficaria*. V předchozích studiích byly taxony rodu *Ficaria* vymezeny na základě morfologie a geografického rozšíření bez znalosti ploidní úrovně všech studovaných jedinců (Veldkamp 2015), nebo pouze na základě velikosti genomu (Zonneveld 2015). Tato práce představuje první práci, která kombinuje data o morfologii a velikosti genomu na úrovni celého rodu. Předmětem studia byly téměř všechny recentně rozlišované poddruhy (*calthifolia*, *fertilis*, *ficariiformis*, *ficarioides*, *chrysocephala*, *verna*) a hybridní taxon \times *sellii*.

V důsledku obtížné kultivace (citlivost vůči nízkým teplotám), případně celkově vyšší vzácnosti výskytu ve volné přírodě, byla ale zvláště u taxonů *ficarioides*, *chrysocephala* a \times *sellii* velikost vzorku redukována, což se odrazilo v nevyváženosti datasetu. Zejména znaky na generativních orgánech byly u těchto taxonů hodnoceny jen na několika málo jedincích (pokud vůbec). Pro znaky měřené na odebraných listech byl studovaný počet jedinců o něco vyšší (viz tab. 7), přesto nebyl v některých případech dostatečný na prokázání statisticky signifikantních rozdílů. Kupříkladu morfologicky dosti vyhraněná *ficarioides* se v jednorozměrných statistických analýzách obvykle průkazně nelišila od jiných taxonů.

S ohledem na velké množství studovaných morfologických znaků a srovnávaných taxonů bude v diskuzi kladen důraz na srovnání dvojic: *verna* a *calthifolia* (jejich morfologickou diferenciací se ve středoevropské oblasti zabývali např. Veselá (1969), Drenckhahn (2016) a Popelka et al. (2019b)), *verna* a *fertilis* (jejich morfologickým srovnáním a hledáním vhodných determinačních znaků se zabývali např. Marsden-Jones (1935), Marsden-Jones & Turrill (1952) a Heywood & Walker 1961)) a také *verna* a *ficariiformis*. Poslední dva jmenované poddruhy nebyly v žádné dosavadní studii porovnávány, přestože jsou si morfologicky blízké. Navíc hlavní udávané determinační znaky mezi těmito poddruhy jsou založené na velikosti květů a listů (Sell 1994; Veldkamp 2015) a nelze je tedy z důvodu fenotypové plasticity považovat za příliš spolehlivé. Uvedené poddruhy (*calthifolia*, *fertilis*, *ficariiformis* a *verna*) jsou navíc nejrozšířenější (lze u nich tedy očekávat i největší morfologickou variabilitu) a pro jejich hodnocení bylo nasbíráno dostatečné množství dat.

Většina poddruhů studovaných v této diplomové práci byla zastoupena pouze malým počtem jedinců s jinou než převažující ploidní úrovní, a proto jednotlivé ploidní úrovně

v rámci poddruhů nebyly mezi sebou statisticky srovnávány. V předcházející bakalářské práci (Uhlířová 2019) bylo ale zjištěno, že velikost orgánů v rodě *Ficaria* se v rámci taxonu s rostoucí ploidní úrovní zvětšuje (Uhlířová 2019). Jev, kdy orgány polyploidních rostlin dorůstají větších rozměrů, je známý jako gigas efekt a souvisí s celkově větší velikostí buněk u polyploidů ve srovnání s diploidy (Stebbins 1950, 1971). V souladu s tímto předpokladem dospěli Vamosi et al. (2007) metaanalýzou k závěru, že v rámci druhu mívají polyploidní jedinci často větší květy než jedinci diploidní (ale zdaleka to není pravidlem). Ovšem při srovnání velikosti květů alopolyploidních druhů s jejich předpokládanými diploidními předky nebo blízkce příbuznými diploidními druhy nebyla u polyploidů větší velikost květů prokázána (Vamosi et al. 2007). To by odpovídalo situaci v rodě *Ficaria*: tetraploidní poddruh *verna* nevytváří větší květy než diploidní poddruhy *calthifolia* a *fertilis*, jejichž hybridizací a následnou polyploidizací mohl poddruh *verna* vzniknout (Zonneveld 2015).

6.1 Jak jsou pro determinaci orsejů užitečné kvantitativní a kategoriální vegetativní znaky a které to jsou?

Vegetativní znaky se těší oblibě v určovacích klíčích, protože jsou většinou použitelné po celou vegetační sezonu. Bohužel jsou ale tyto znaky značně variabilní v důsledku proměnlivého prostředí (Bradshaw 1965; Frazee & Marquis 1994; González & Gianoli 2004; Xu et al. 2008; Villedas et al. 2021). U rodu *Ficaria* jsou pro determinaci v literatuře uváděny tyto znaky: délka a šířka listové čepele, tvar listové čepele (míra překrytí bazálních laloků, hloubka zářezu), délka řapíků, okraj listové čepele, skvrnitost listů, umístění hydátod na okraji listové čepele, uspořádání listů na lodyze (přítomnost listové růžice), postupné zmenšování listů na lodyze, délka lodyhy, počet listů na lodyze, počet nodů na lodyze, přítomnost anthokyanů v bazálních částech lodyh a v řapících listů, charakter růstu, tvorba pacibulek v úžlabí listů, počet pacibulek na lodyze a hmotnost pacibulek (Ovchinnikov 1937; Marsden-Jones & Turrill 1952; Marchant & Brighton 1974; Taylor & Markham 1978; Křisa 1988; Tutin & Cook 1993; Sell 1994; Kästner & Fischer 2006; Veldkamp 2015; Vázquez 2016; Popelka et al. 2019b). Většina uvedených znaků byla studována i v této práci. Navíc byly studovány i nové, v literatuře dosud neudávané vegetativní znaky, jako je tloušťka listové čepele a chlupatost lodyhy.

Velikost listové čepele je obvykle popisována jako vhodný determinační znak (Sell 1994; Veldkamp 2015), což bylo prokázáno i v této práci. Největší průměrná délka a šířka listové čepele byla zjištěna u poddruhů *ficariiformis* a *chrysocephala*. To odpovídá v literatuře uváděným největším rozměrům listové čepele u těchto dvou taxonů, u

chrysocephala až 8×9 cm (délka \times šířka, Sell 1994; Veldkamp 2015). Velikost listové čepele ale nelze samu o sobě použít jako determinační znak pro všechny taxony. Také v tloušťce listové čepele byly zjištěny četné rozdíly mezi taxony. Je patrné, že tloušťka listové čepele do značné míry souvisí s její velikostí. Výrazně vyšších hodnot dosahovala u *ficariiformis* a *chrysocephala*, které se signifikantně lišily od všech ostatních taxonů. Zdá se tedy, že tloušťka listové čepele může být pro determinaci některých taxonů užitečným znakem, ovšem nevýhodou tohoto znaku je poměrně náročné zjišťování vyžadující cvik. Navíc tento znak patrně bude, stejně jako rozměry čepele, dosti plastický (v podmínkách common garden by mělo dojít k odfiltrování vlivu prostředí) a další jeho velkou nevýhodou lze spatřovat v tom, že ho nelze hodnotit na usušeném, herbářovém materiálu.

U poddruhů *verna* a *calthifolia*, které se průkazně lišily pouze v šířce, ale nikoliv v délce listové čepele, se osvědčilo požití poměru délka/šířka čepele. Ten byl u *calthifolia* větší. Listy poddruhu *calthifolia* jsou tedy užší než u *verna*, což je v souladu s výsledky mé bakalářské práce (Uhlířová 2019) i s výsledky studie Popelka et al. (2019b). V obou uvedených pracích byla také shodně s touto diplomovou prací zaznamenána větší hloubka zářezu u poddruhu *verna* ve srovnání s *calthifolia* (vyjádřená v absolutních číslech i jako relativní hodnota). Potvrdily se údaje v determinačním klíči uvedeném ve studii Popelka et al. (2019b) zjištěné u střeoevropských populací, podle nichž je hloubka zářezu čepele bazálních listů pro poddruh *calthifolia* menší než $1/5$ délky čepele a pro taxony *verna* a *×sellii* větší než $1/5$ délky čepele. U všech tří taxonů byla ale v mém případě pro tento znak zaznamenána poměrně velká variabilita a rozmezí hodnot se pro jednotlivé taxony překrývala. Důvodem může být pokrytí celého areálu studovaných taxonů. *Verna* a *fertilis* se vzájemně nelišily v absolutní hloubce zářezu, ale lišily se relativní hodnotou: u poddruhu *fertilis* zaujímá hloubka zářezu proporcionálně větší část celkové délky listové čepele. Listy *ficariiformis* byly ve srovnání s poddruhem *verna* větší, ale odlišovaly se i menší relativní hloubkou zářezu. Totéž bylo zjištěno i v bakalářské práci (Uhlířová 2019). Jedná se o jediný poměrový znak na listech, v němž se tyto dva poddruhy liší.

Listy poddruhu *fertilis* se vyznačují tím, že jsou obvykle nejširší v oblasti bazálních laloků, tj. znak PO (vzdálenost nejširšího místa listu od místa nasedání řapíku) nabýval nejčastěji ze všech taxonů záporných hodnot. Existence listů se zápornou hodnotou PO byla ale zaznamenána u všech taxonů. Nejbliže vrcholu se nejširší místo listu nacházelo u poddruhu *calthifolia*. Podobné výsledky byly zjištěny, pokud byla zohledněna i délka listové čepele a pracovalo se s relativní hodnotou (PO_DLB). Tyto dva znaky (PO a PO_DLB) byly vysoce korelované, jak ostatně dokládá nutnost vyřadit znak PO_DLB v mnohorozměrných

analýzách. Vzdálenost nejširšího místa listu od místa nasedání řapíku by se tedy potenciálně mohla používat jako pomocný znak pro odlišení poddruhů *verna* a *fertilis*, pokud by se ukázalo, že se zjištěné rozdíly projevují i v populacích těchto poddruhů rostoucích sympatricky v západní a jihozápadní Evropě. Listy *fertilis* také dosahovaly nejvyšších hodnot znaku TVAR, který vyjadřuje, jaká procentuální část celkové délky listové čepele se nachází „nad“ linií vyznačující nejširší místo listu.

S velikostí listové čepele úzce souvisí délka řapíku. U taxonů s většími čepelemi byly zjištěny i delší řapíky. Ve srovnání s délkou a šířkou listové čepele mají poměrně krátké řapíky *calthifolia* a *×sellii*. Byly ale měřeny přízemní listy i listy v přeslenu. Pro srovnání s ostatními taxony netvořícími pravidelně přeslen by proto bylo vhodnější použít u všech taxonů pouze listy přízemní, což však nebylo možné kvůli jejich častému poškození, zejména slimáky. Delší řapíky u poddruhu *verna* ve srovnání s poddruhem *calthifolia* zaznamenali i Popelka et al. (2019b), ale také Post et al. (2009) v sekundárním areálu v USA.

Marsden-Jones & Turrill (1952) uvádějí, že poddruh *verna* většinou mívá členitější okraj listové čepele než *fertilis*. Rozdíl v členitosti okraje listové čepele mezi těmito poddruhy nebyl ale v této diplomové práci zjištěn. Byl však zaznamenán členitější okraj čepele u poddruhu *verna* oproti *calthifolia*. Tento rozdíl nebývá mezi těmito poddruhy uváděn. Pouze Kästner & Fischer (2006) v popisu poddruhu *calthifolia* uvádějí, že má listový okraj „velmi mělce“ vroubkovaný, zatímco v popisu poddruhu *verna* je zmíněn pouze „mělce“ vroubkovaný okraj.

U rostlin z Velké Británie je u poddruhu *fertilis* ve srovnání s *verna* popisována tendence častěji vytvářet světlé skvrny na listech, zatímco v četnosti výskytu tmavých skvrn a jejich rozsahu se tyto poddruhy vzájemně neliší (Marsden-Jones & Turrill 1952). Tento rozdíl mezi oběma poddruhy se potvrdil i v této práci: zatímco zhruba polovina jedinců poddruhu *verna* měla listy neskvrnitě, *fertilis* měla listy téměř vždy se skvrnami. Téměř vždy u ní byly přítomny světlé skvrny, tmavé jen někdy. Rozdíl ve skvrnitosti listů byl nalezen i mezi *verna* a *calthifolia*. *Calthifolia* má listy obvykle neskvrnitě; skvrnitě listy byly zaznamenány jen u některých populací z Balkánu.

Přítomnost přeslenu byla zaznamenána u všech taxonů s výjimkou *chrysocephala* (jeden studovaný jedinec), avšak u některých pouze vzácně (*verna*, *fertilis*). Za přeslen byla v této práci považována situace, kdy z nodu nad zkráceným internodiem vyrůstaly tři nebo více tvarově a velikostně vzájemně podobných listů. U orsejů často z jednoho nodu vyrůstá kromě velkého listu/listů i jeden nebo několik listů menších. V některých případech nebylo

snadné rozhodnout, zda jsou si listy velikostí a tvarem dostatečně podobné, aby mohl být daný stav považován za přeslen. Stejně tak nelze vymezit ostrou hranici mezi zkráceným a nezkráceným internodiem. Hodnocení tohoto znaku bylo tedy do jisté míry subjektivní. V případě *calthifolia* byl přeslen vytvořen u 39 ze 41 rostlin. Lze tedy souhlasit s literárními údaji, v nichž bývá přítomnost listové růžice uváděna jako charakteristický morfologický znak pro tento taxon (např. Kästner & Fischer 2006; Drenckhahn 2016; Popelka et al. 2019b). Také oba jedinci poddruhu *ficarioides* měli zřetelně vyvinutý přeslen. Přestože Veldkamp (2015) přítomnost přeslenu u *ficarioides* nezmiňuje, Danin & Fragman-Sapir (2016) u ní uvádějí, že má listy uspořádané střídavě nebo v růžici. Podobně i Ovchinnikov (1937) uvádí, že na bázi květních stopek je jeden list nebo shluk několika listů. V případě *×sellii* byla přítomnost přeslenu zaznamenána u 7 z 10 studovaných rostlin, což se shoduje s tvrzením, že tento taxon někdy vytváří přeslen (Popelka et al. 2019b). Přeslen byl ale často pozorován i u poddruhu *ficariiformis*, kde byl přítomen zhruba u poloviny rostlin. Tímto znakem se *ficariiformis* dokonce signifikantně odlišovala od poddruhu *verna*. Tendence vytvářet přeslen není v literatuře pro *ficariiformis* uváděna. Jedná se o kvalitativní znak, který by teoreticky mohl být používán jako pomocný znak pro determinaci těchto dvou vzájemně si podobných poddruhů.

Zaznamenaný rozdíl v charakteru růstu mezi *calthifolia* a *verna* (spíše vzpřímený vs. spíše poléhavý růst lodyh) se shoduje s údaji v literatuře (např. Drenckhahn 2016; Popelka et al. 2019b). U hybridního taxonu *×sellii* byla ale většina lodyh hodnocena jako vzpřímené, přestože Popelka et al. (2019b) pro něj uvádějí většinou vystoupavý nebo poléhavý růst. V mé práci byl také zjištěn poměrně značný rozdíl v charakteru růstu mezi poddruhy *verna* a *fertilis*. Lodyhy poddruhu *fertilis* jsou převážně vzpřímené, s méně internodii a s menším počtem listů. Naproti tomu u poddruhu *verna* jsou lodyhy obvykle poléhavé nebo vystoupavé, s více internodii a s více listy. Tytéž rozdíly týkající se charakteru růstu a olistění lodyh uvádí pro tyto poddruhy i Taylor & Markham (1978).

Ukázalo se, že *verna* má v lodyhách a řapících více anthokyanů než všechny ostatní srovnávané taxony s výjimkou *ficarioides* (pro kterou byli ale hodnoceni jen dva jedinci). Zjištěný vyšší obsah anthokyanů v lodyhách u poddruhu *verna* ve srovnání s poddruhem *calthifolia* zhruba odpovídá výsledkům zjištěným na orsejích z Německa (Drenckhahn 2016). Podle této studie ale u poddruhu *calthifolia* anthokyanů v lodyze zcela chybí, zatímco v této diplomové práci byly zaznamenány i lodyhy zbarvené do fialova. Tento rozpor lze pravděpodobně vysvětlit pokrytím většího areálu. Poměrně častá chlupatost lodyh u poddruhu *fertilis* nebývá v literatuře uváděna. Patrně se jedná o přehlíženou skutečnost –

chlupy na lodyze jsou mnohdy zřetelné až při bližším pohledu a na sušeném materiálu se jejich viditelnost zřejmě ještě snižuje.

Morfometrickou studii v rodě *Ficaria* provedli na herbářovém materiálu z USA Post et al. (2009). Jejich cílem bylo zjistit, jestli lze i v USA rozeznat poddruhy rozlišované v Evropě. Tito autoři studovali sedm kvantitativních morfologických znaků, u nichž uvádějí průměrné hodnoty naměřené pro pět zaznamenaných poddruhů (*calthifolia*, *fertilis*, *ficariiformis*, *chrysocephala* a *verna*). Srovnání mnou naměřených hodnot s jejich výsledky je ale dosti problematické, a to nejen z důvodu, že tito autoři pracovali s vylisovanými volně rostoucími severoamerickými rostlinami neznámého původu (možná i s potomky rostlin, které prošly procesem šlechtění), ale také z důvodu odlišné metodiky sběru morfologických dat. Post et al. (2009) například měřili z každého jedince až 10 blíže nespecifikovaných listů; pravděpodobně tedy značnou část hodnocených listů představovaly listy lodyžní. U tří z pěti poddruhů (*calthifolia*, *ficariiformis*, *verna*) jsou mnou naměřené hodnoty délky listové čepele vyšší, zatímco u dvou (*fertilis* a *chrysocephala*) prakticky stejné jako ve studii Post et al. (2009). Naopak délka řapíků byla v mém případě u všech poddruhů nižší, nejvýraznější byl tento rozdíl u *fertilis* (průměrná délka 69,58 mm vs. 121,9 mm).

Obecně platí, že orseje, které byly při odebrání v přírodě mohutného vzrůstu, se po přesazení a zapěstování v podmínkách common garden postupně zmenší (Popelka et al. nepublikováno). Obdobný příklad velikostní fenotypové plasticity u orsejů uvádí Gadella (1977) na rostlinách poddruhu *fertilis* z Nizozemska, které měly lodyhy dlouhé až 30 cm a květy o průměru až 5 cm, ale po přesazení na jiné stanoviště ztratily již příští rok svou nadprůměrnou velikost. Z mých výsledků je patrné, že *chrysocephala* a *ficariiformis* i po několikaletém pěstování na pozemku dosahují větších rozměrů než ostatní taxony. Větší velikost těchto taxonů udávaná v literatuře tedy zřejmě není pouhým důsledkem růstu v klimaticky příznivějších oblastech Evropy, ale je alespoň zčásti dána geneticky.

6.2 Lze pomocí geometrické morfometrie najít rozdíly ve tvaru listů mezi srovnávanými taxony?

Tvar a velikost listů jsou u rostlin velmi variabilní a liší se mezi různými druhy, populacemi, jedinci i v rámci jednoho genotypu (Bar & Ori 2014; Chitwood & Sinha 2016; Fritz et al. 2018). Navíc se tvar listů alometricky mění v průběhu jejich vývoje (Chitwood & Sinha 2016). Vliv této skutečnosti byl v mé práci minimalizován odebíráním plně vyvinutých listů. Přestože některé parametry jsou během vývoje listů relativně fixní, jejich konečný tvar je ovlivněn všemi vlivy, kterým je list v průběhu svého vývoje vystaven (Bar & Ori 2014).

Například nízká intenzita ozáření vede u většiny rostlin k prodloužení řapíku a ke zmenšení plochy listové čepele (Tsukaya 2005; Bar & Ori 2014). U rostlin z druhového komplexu *Piriqueta caroliniana* byla v sušším roce pozorována tvorba užších a chlupatějších listů (Picotte et al. 2009). Chitwood et al. (2016) zaznamenali meziroční variabilitu ve tvaru listů u druhů rodu *Vitis*. Se suchou a chladnější vegetační sezonou byl spojen výraznější bazální zářez (Chitwood et al. 2016). Přestože velikost a tvar listů jsou do značné míry plastické, mají (alespoň u některých skupin) význam pro taxonomii. Například u dvou druhů rodu *Begonia* bylo experimentálně zjištěno, že tvar a velikost listů jsou v rámci jednoho genotypu konstantní v různých environmentálních podmínkách, tedy že jsou do velké míry dědičné a představují tak užitečné znaky pro taxonomii (McLellan 2000). Nicméně pro taxonomické účely se u těchto dvou druhů rodu *Begonia* jako zcela nespolehlivá ukázala hrubost okraje listů, která byla velmi proměnlivá v různých podmínkách prostředí a studované populace se lišily v rozsahu i směru odpovědi (McLellan 2000).

Tato práce je první prací, v níž byl tvar listů v rodě *Ficaria* studován pomocí geometrické morfometrie. V podmínkách common-garden byl odfiltrován vliv prostředí a lze předpokládat, že zaznamenané rozdíly ve tvaru listů odrážejí genetické rozdíly mezi taxony. Variabilita ve tvaru listů u jednotlivých taxonů rodu *Ficaria* v přírodních podmínkách je tedy pravděpodobně větší. Přestože některé taxony byly na základě tvaru listů vzájemně částečně separované, obecně se rozpětí tvarů listů u jednotlivých taxonů značně překrývá. Nejvíce tvarově rozdílné jsou listy *fertilis* a *ficarioides a fertilis a calthifolia*. Z PCA diagramů je patrné totéž, co bylo zjištěno i v jednorozměrných analýzách: listy *fertilis* mají největší relativní hloubku zářezu a nejširší místo se nachází relativně nejdále od vrcholu listu ze všech taxonů, většinou v oblasti bazálních laloků. Listy *calthifolia* se vyznačují malou relativní hloubkou zářezu.

Tvar listů poddruhu *verna* je víceméně intermediární mezi poddruhy *calthifolia* a *fertilis*. To podporuje hypotézu vyslovenou na základě velikosti genomu, podle níž je *verna* alotetraploid s rodičovskými taxony *calthifolia* a *fertilis* (Zonneveld 2015). Intermediární tvar listů je popisován nejen u mnoha F1 hybridů (např. Brown et al. 1997; Kato et al. 2001; Jørgensen & Mauricio 2005; Picotte et al. 2009; Kuligowska et al. 2015; Liu et al. 2018), ale také například u hybridizací nedávno vzniklého druhu *Senecio squalidus* (Abbott et al. 2010). Avšak ne vždy bývá tvar listů hybridů intermediární mezi rodičovskými taxony. Například u hybridizací vzniklého diploidního druhu slunečnice *Helianthus anomalous* byl tvar listů stejný jako u jednoho z rodičovských druhů (Schwarzbach et al. 2001). Rosenthal et al. (2002) pak zaznamenali u tří hybridních diploidních druhů slunečnic (*H. anomalous*, *H.*

deserticola, *H. paradoxus*) ve srovnání s jejich rodičovskými taxony transgresivní tvar listů. Tyto příklady tvaru listů u hybridů a hybridizací vzniklých druhů jsou v souladu s výsledky studie Rieseberg et al. (1993), podle níž hybridy a hybridní druhy rostlin vykazují spíše mozaiku intermediárních znaků a znaků podobných jednomu z rodičů než čistě intermediární znaky. Časté jsou u nich i znaky transgresivní nebo zcela nové (Rieseberg et al. 1993). Odhadovat u rostlin na základě tvaru listů rodičovské taxony a jejich potomky je tedy nespolehlivé. Vzhledem k velikosti genomu a geografickému rozšíření poddruhů *verna*, *calthifolia* a *fertilis* existuje ale jistá pravděpodobnost, že intermediární tvar listů u poddruhu *verna* skutečně představuje projev hybridního původu poddruhu *verna*.

U listů poddruhu *verna* byla zjištěna klinální variabilita v jejich tvaru. Hypotéza o dvojnásobném nezávislém vzniku *F. verna* subsp. *verna* – autopolyploidizací předka *F. verna* subsp. *calthifolia* (východní linie) a autopolyploidizací předka *F. verna* subsp. *fertilis* (západní linie) (Drenckhahn et al. 2017) – se na základě tvaru listů *verna* nezdá příliš pravděpodobná, protože zjištěná změna tvaru listů je kontinuální. Skutečnost, že listy v západní části areálu jsou tvarově podobnější poddruhu *fertilis* a ve východní části areálu poddruhu *calthifolia*, může poukazovat na to, že populace v západní části areálu byly geneticky více ovlivněny poddruhem *fertilis* a ve východní části areálu poddruhem *calthifolia*. Jak ukázaly hybridizační experimenty (Konečná 2021; Konečná nepublikováno), reprodukčně izolační mechanismy jsou v rodě *Ficaria* přinejmenším u některých taxonů nedostatečně vyvinuty a nelze tedy vyloučit možnost genového toku mezi taxony. Je ale otázkou, zda zjištěné mezipopulační rozdíly ve tvaru listů poddruhu *verna* odpovídají celkové genetické diferenciaci jednotlivých populací. Může se jednat jen o výsledek selekce, která v určitých klimatických podmínkách favorizuje určitý tvar listů. Tvar listů totiž v důsledku selekčního tlaku často vykazuje výraznou klinální variabilitu, přestože populace v různých částech areálu nejsou celkově příliš diverzifikované a neutrální molekulární markery klinální variabilitu nevykazují (Holman et al. 2011; Campitelli & Stinchcombe 2013; Wang et al. 2021).

Listy *ficarioides* v PCA diagramu nebyly separované od listů *calthifolia*, přestože jsou nápadně vrubkováné až laločnaté, zatímco listy *calthifolia* jsou převážně celokrajné, a to ani v případě, kdy byli analyzováni pouze diploidní jedinci. Listy taxonů rodu *Ficaria* jsou totiž nejvíce variabilní v hloubce zářezu a v pozici nejširšího místa a v obou těchto znacích jsou si listy *ficarioides* a *calthifolia* podobné. Nepomohlo ani pokusné zobrazení třetí osy. Rozdíl mezi taxony by se pravděpodobně v PCA diagramu projevil, pokud by byly analyzovány pouze tyto dva taxony. Pro poddruh *chrysocephala* bylo hodnoceno jen málo

jedinců, lze ale říci, že jeho listy jsou tvarově variabilní. Listy *ficariiformis* se tvarem velmi podobají listům *verna*. Ani při analýze pouze tetraploidních jedinců nebyl patrný žádný rozdíl v pozici jedinců podél první a druhé osy mezi těmito dvěma poddruhy. Přestože při jednorozměrné analýze byl zjištěn statisticky významný rozdíl v absolutní i relativní hloubce zářezu, je zřejmé, že se nejedná o velký rozdíl, protože v grafu se prakticky neprojevil.

Výsledky naznačují, že tvar listů v rodě *Ficaria* nesouvisí s ploidní úrovní, ale spíše s taxonomickou příslušností. Listy *verna* s různou ploidií se sice tvarově nelišily, avšak u některých druhů rostlin se rozdíl ve tvaru listů mezi různými ploidními úrovněmi vyskytují. Například Babil et al. (2010) zjistili, že jednotlivé ploidní úrovně druhu *Dioscorea alata* se vzájemně odlišují nejen poměrem délka/šířka, ale také hloubkou a šířkou zářezu. Mansouri & Bagheri (2017) zaznamenali různý tvar listů mezi diploidními a pomocí kolchicinu vytvořenými tetraploidními rostlinami konopí (*Cannabis sativa*), přičemž listy tetraploidů byly kratší a širší.

Přestože studium tvaru listů pomocí geometrické morfometrie neumožňuje u orsejů jednoznačně rozlišit vymezené taxony, lze říci, že použitá metoda byla i přes pracné a zdlouhavé zpracování dat úspěšná. Studium tvaru listů pomocí geometrické morfometrie se současné době běžně využívá při řešení taxonomických problémů. Například Karbstein et al. (2020) použili geometrickou morfometrii listů a květního lůžka spolu s fylogenomickými metodami pro vymezení sexuálních druhů v polyploidním apomiktickém komplexu *Ranunculus auricomus*. Fylogenomický přístup a geometrická morfometrie přinesly shodné výsledky, takže mohlo být vymezeno pět geograficky izolovaných sexuálních druhů lišících se geneticky i morfologicky. Autoři použili metodu TPS pracující s význačnými body. Podobně i Piedra-Malagón et al. (2016) s úspěchem použili metodu geometrické morfometrie (opět založenou na význačných bodech) jako doplňkovou metodu k objasnění taxonomické problematiky druhového komplexu *Crataegus rosei*. V této diplomové práci by ale metoda založená na význačných bodech nebyla vhodná, protože na listových čepelích orsejů lze jednoznačně identifikovat jen dva homologické body: místo nasedání řapíku a vrchol listu. Proto byla vybrána metoda analýzy obrysu.

Ne vždy ale výsledky geometrické morfometrie souhlasí s výsledky molekulárních analýz. Například Pessoa et al. (2021) se pokoušeli objasnit taxonomii druhového komplexu rodu *Epidendrum* (Orchidaceae) pomocí multidisciplinárního přístupu. Rozdíly ve tvaru pysku a v distribuci heterochromatinu neodpovídaly úplně fylogenetické příbuznosti. Autoři zdůrazňují nutnost kombinovat při řešení taxonomických otázek různé přístupy. Nesoulad mezi výsledky morfometrických (včetně geometrické morfometrie) a molekulárních analýz

zaznamenali i Rejlová et al. (2021) při studiu diploidních a tetraploidních rostlin *Urtica dioica* s.l. Protože v této diplomové práci byly použity pouze morfometrické metody, je interpretace výsledků obtížná. Je otázkou, do jaké míry odráží tvar listů v rodě *Ficaria* genetickou příbuznost.

6.3 Jak jsou pro determinaci orsejů užitečné kvantitativní a kategoriální generativní znaky a které to jsou?

Velikost generativních znaků bývá u rostlin obvykle méně plastická než velikost znaků vegetativních (Bradshaw 1965; Frazee & Marquis 1994; Villellas et al. 2021). Bylo ale prokázáno, že například velikost květů může být ovlivněna obsahem živin v půdě (např. Higaki et al. 1992; Burkle & Irwin 2010; Majetic et al. 2017). Obecně však platí, že k dosažení maximálního fitness rostlina spíše snižuje nebo zvyšuje počet květů, zatímco velikost a tvar květů jsou zejména u entomogamních druhů relativně konstantní a mají adaptivní význam (Bradshaw 1965). Použití znaků na květech a nažkách pro determinaci taxonů rodu *Ficaria* by tak teoreticky mohlo být spolehlivější než použití vegetativních znaků.

V literatuře jsou u rodu *Ficaria* uváděny tyto morfologické determinační znaky týkající se generativních orgánů: průměr květů, rozměry korunních lístků, tvar korunních lístků (délka/šířka), počet korunních lístků, překrytí korunních lístků, množství anthokyanů na abaxiální straně korunních lístků, způsob větvení žilek v korunních lístcích, velikost a tvar nektariových šupinek na bázi korunních lístků, rozměry kališních lístků, délka prašníků, počet vyvinutých a abortovaných nažek v souplodí a jejich proporcionální zastoupení, rozměry nažek a chlupatost nažek (Ovchinnikov 1937; Marsden-Jones & Turrill 1952; Veselá 1969; Marchant & Brighton 1974; Křisa 1988; Tutin & Cook 1993; Sell 1994; Kästner & Fischer 2006; Veldkamp 2015; Vázquez 2016; Popelka et al. 2019b). V této práci nebyly studovány délka prašníků, větvení žilek v korunních lístcích a charakter nektariových šupinek vzhledem k jejich komplikovanému hodnocení. Navíc poslední dva znaky byly testovány pouze na poddruzích *verna* a *calthifolia* (Veselá 1969), pro něž existuje řada jiných, snadněji hodnotitelných determinačních znaků (viz Popelka et al. 2019b). Kvůli obtížné manipulaci s kališními lístky (z důvodu jejich konkávního tvaru a snadné smáčknutelnosti) nebyla měřena jejich šířka, ale pouze délka. Jako další znak, který nebývá pro determinaci výslovně zmiňován, byla přidána velikost zobánku.

Poddruhy *calthifolia* a *verna* se nelišily délkou korunních lístků, ale lišily se jejich šířkou – u *calthifolia* jsou korunní lístky širší. Ke stejným výsledkům dospěli i Popelka et al.

(2019b). V jiné studii byla zjištěna i menší délka korunních lístků u poddruhu *calthifolia* oproti *verna* (Veselá 1969), v tomto případě byly ale studovány pouze české a slovenské populace. Na rozdíl od studie Popelka et al. (2019b) jsem nezaznamenala statisticky významný rozdíl ve tvaru korunních lístků vyjádřeném poměrem délka/šířka. V předcházející bakalářské práci byl zjištěn statisticky významný rozdíl v tomto poměru, ale nikoliv v délce a šířce korunních lístků (Uhlířová 2019). Přestože rozdíl v délce korunních lístků mezi těmito dvěma poddruhy nebyl prokázán, byl zjištěn signifikantní rozdíl v délce kališních lístků. Veselá (1969) přitom zaznamenala pouze rozdíl v jejich šířce, která ale nebyla v této práci studována.

V této souvislosti je zajímavé, že poměr délka/šířka korunních lístků byl u všech pěti taxonů studovaných v bakalářské (Uhlířová 2019) i v této diplomové práci v druhém případě vyšší. Pro všechny taxony s výjimkou *chrysocephala* (pro níž bylo při hodnocení v roce 2021 velmi málo dat – jeden jedinec) byla v diplomové práci také naměřena větší délka i šířka korunních lístků. Je možné, že se jedná o důsledek rozdílného počasí v obou letech, přičemž nárůst velikosti korunních lístků v roce 2021 se relativně více projevil v jejich délce než v šířce. Přestože Tutin & Cook (1993) uvádějí pro poddruh *verna* maximální průměr květů 20 mm a Sell (1994) 25 mm, mnou zjištěný medián průměru květů na jedince byl 25,83 mm – květy byly tedy často větší. Veldkamp (2015) pak uvádí průměr květů pro poddruh *verna* 13–30 mm, což více odpovídá mým výsledkům. Opět se může jednat o důsledek nestejného pokrytí areálu tohoto taxonu v jednotlivých studiích.

Zjištěné větší překrytí korunních lístků u poddruhu *ficariiformis* ve srovnání s poddruhem *verna* souvisí s vyšším počtem korunních lístků, ale také s jejich větší šířkou. Tutin & Cook (1993) uvádějí, že korunní lístky se u *ficariiformis* překrývají, zatímco u *verna* se nepřekrývají. Přestože mé výsledky toto tvrzení podporují, takto jednoznačné oddělení těchto dvou poddruhů nebylo pro tento znak pozorováno. Dle některých údajů se také *fertilis* a *verna* odlišují mírou překrytí korunních lístků: u poddruhu *fertilis* se korunní lístky většinou překrývají, kdežto u poddruhu *verna* se obvykle nepřekrývají (Marsden-Jones 1935; Veldkamp 2015). V mé práci byl ale zaznamenán nanejvýš slabý trend podporující tuto skutečnost. Ostatně některými autory byla spolehlivost tohoto znaku pro rozlišení těchto dvou poddruhů zpochybněna (Heywood & Walker 1961; Gadella 1977).

Abaxiální strana korunních lístků byla u *fertilis* intenzivněji zabarvena anthokyany než u poddruhu *verna*, což souhlasí s výsledky studie Marsden-Jones & Turrill (1952). Srovnáním zabarvení korunních lístků anthokyany u jiných poddruhů se žádné další studie nezabývaly. Z mých výsledků se ale zdá, že by tento znak mohl být užitečný například také

pro odlišení poddruhů *ficariiformis* (více anthokyanů) a *verna* (méně anthokyanů). Obsah anthokyanů v korunních lístcích zjevně nesouvisí s obsahem anthokyanů v lodyhách a řapících.

Hybridní taxon *×sellii* byl v mnoha kvantitativních znacích intermediární mezi rodičovskými taxony *calthifolia* a *verna*. Bylo tomu tak u většiny znaků vyjadřujících tvar listu, jako jsou například vzdálenost nejširšího místa listu od místa nasedání řapíku a hloubka zářezu. Intermediární hodnoty byly zjištěny také v poměru délka/šířka korunních lístků a dále i v délce lodyhy (v době květu i v době zralosti nažek), v počtu internodií na lodyze, v počtu pacibulek na lodyze a v počtu všech nažek v souplodí. To je v souladu s výsledky studie Popelka et al. (2019b), kde byl statisticky průkazný intermediární charakter *×sellii* zjištěn u většiny hodnocených morfologických znaků. V této diplomové práci nebyl ale u většiny znaků intermediární charakter statisticky významný. Pravděpodobně se však jedná o důsledek nízkého počtu hodnocených jedinců. Jedinými statisticky významnými rozdíly byl nižší počet internodií a pacibulek u *×sellii* ve srovnání s *verna*.

Přestože byly měřeny pouze vyvinuté, neabortované nažky, byly mnou naměřené rozměry nažek výrazně nižší, než uvádějí Post et al. (2009). Například průměrné rozměry (délka \times šířka v milimetrech) pro poddruh *calthifolia* byly $3,43 \times 2,31$ (vs. $4,26 \times 3,04$ dle Post et al. 2009), pro *fertilis* $3,56 \times 2,15$ (vs. $4,58 \times 3,27$ dle Post et al. 2009) a pro *verna* $3,70 \times 2,27$ (vs. $4,35 \times 2,95$ dle Post et al. 2009). Podle Drenckhahna (Drenckhahn 2016) dosahují nažky poddruhu *calthifolia* v Německu délky zhruba 3–4 mm a šířky 2,5–3 mm, což se blíží mým výsledkům. Ovšem Veldkamp (2015) uvádí rozměry nažek pro *calthifolia* pouze $2,5 \times 2$ mm a pro *fertilis* $2,5\text{--}3,5 \times 1,7\text{--}2,2$ mm. V Květeně ČR je délka nažek uváděna jako jeden z rozlišovacích znaků mezi poddruhy *calthifolia* (délka nažek 2,8–3,3 mm) a *verna* (délka nažek 2–2,5 mm) (Křísa 1988). To je tedy v rozporu s mými výsledky, kde u těchto poddruhů nebyl ve velikosti nažek zjištěn statisticky významný rozdíl. Výrazně se lišící údaje o rozměrech nažek lze kromě rozdílného geografického původu hodnocených rostlin vysvětlit také rozdílným způsobem měření a různou přesností měření v jednotlivých studiích. Například Post et al. (2009) používali k měření nažek digitální posuvné měřítko, nikoliv binokulární lupu s okulárovým měřítkem.

V mém případě mohla být velikost nažek ovlivněna též skutečností, že na experimentálním pozemku bylo pohromadě pěstováno velké množství různých genotypů s různou ploidní úrovní. Vzhledem k tomu, že orseje se spolu poměrně ochotně kříží (Popelka et al. 2019a, 2019b; Konečná 2021), lze očekávat, že velikost semen, potažmo nažek, mohla být ovlivněna ploidní úrovní otcovské rostliny. Je totiž známo, že na vývoj endospermu má

vliv poměr chromozomových sad pocházejících od matky a od otce. V případě zvýšeného poměru ve prospěch otcovského genomu dochází k mohutnějšímu vývoji endospermu a tvorbě větších semen, v opačném případě k potlačení vývoje endospermu a tvorbě menších semen (Haig & Westoby 1991; Scott et al. 1998). Z mých výsledků sice vyplývá, že délka ani šířka nažek nejsou pro rozlišování taxonů použitelné, možná je to ale důsledek výše zmíněné skutečnosti. Poměr délka/šířka nažek se ukázal být pro determinaci taxonů vhodnější. Pro nažky poddruhu *calthifolia* jsou hodnoty tohoto poměrového znaku nižší než pro *fertilis* a *verna*, což znamená, že nažky *calthifolia* jsou ve srovnání s nažkami *fertilis* a *verna* kulatější. Rozdíly ve tvaru nažek mezi taxony nebývají ale v literatuře zmiňovány.

Poněkud překvapivý je fakt, že u *ficariiformis* byl zjištěn signifikantně nižší počet vyvinutých nažek v souplodí ve srovnání se všemi ostatními taxony s výjimkou *×sellii*, tedy i nižší než u *verna*. Malý počet vyvinutých nažek v souplodí bývá uváděn jako charakteristický znak pro poddruh *verna* (Marsden-Jones 1935; Andreas 1954; Taylor & Markham 1978; Wcisło & Pogan 1981; Sell 1994), avšak pro *ficariiformis* nebývá snižená fertilita udávána. V mé bakalářské práci bylo množství vyvinutých nažek u obou poddruhů srovnatelné (Uhlířová 2019).

Poměrně vysoké zastoupení vyvinutých nažek u poddruhu *verna* bylo pozorováno i v mé bakalářské práci (taktéž průměrně 19 % vyvinutých nažek v souplodí), a ještě o něco vyšší (23 %) ve studii Popelka et al. (2019b), kde byly rovněž studovány rostliny pěstované na experimentálním pozemku. Nezvykle vysoké zastoupení vyvinutých nažek u pěstovaných jedinců poddruhu *verna* lze vysvětlit velkým počtem genotypů nacházejících se pohromadě na malé ploše. Vzhledem k převažující vegetativní reprodukci a autoinkompatibilitě může být totiž tvorba nažek u poddruhu *verna* v přirozených podmínkách teoreticky limitována nedostatkem pylu od geneticky odlišných individuí (Popelka et al. 2019b).

Velikost zobánku na nažkách nebývá u rodu *Ficaria* uváděna jako determinační znak. Mé výsledky ale naznačují, že nažky poddruhů *verna* a *ficariiformis* mají výraznější zobánek než *calthifolia*. Většina studovaných jedinců poddruhu *calthifolia* měla nažky bez zobánku. Na přítomnost zobánku u tohoto taxonu nejsou ale jednotné názory. Například Kästner & Fischer (2006) u nažek poddruhu *calthifolia* zmiňují přítomnost krátkého zobánku, zatímco podle Drenckhahna (Drenckhahn 2016) jsou bez zřetelného zobánku. Na základě mého pozorování souhlasím spíše s druhou studií. Velikost (resp. přítomnost) zobánku může být ale vnímána značně subjektivně a také se může lišit v různých populacích. Chlupatostí nažek se většina taxonů neliší, pouze *calthifolia* má nažky méně chlupaté než *fertilis*. Přestože

nažky *ficarioides* jsou v literatuře popisovány jako lysé (Ovchinnikov 1937) či lysé nebo olysálé (Veldkamp 2015), byly nažky obou jedinců hodnoceny jako hustě chlupaté.

6.4 Morfologická diferenciacce taxonů při použití mnohorozměrných metod

Analýza hlavních koordinát (PCoA) byla provedena se třemi různými datasey (všechny znaky; všechny znaky kromě znaků PAC, DL2 a znaků na nažkách; znaky hodnocené na odebraných listech). Výsledky naznačují, že v literatuře rozlišované taxony rodu *Ficaria* nejsou jednoznačně morfologicky odlišené. Vysoká morfologická variabilita a s ní spjaté potíže při určování jednotlivých rostlin včetně záměn taxonů jsou dokumentovány i v literatuře (např. Sell 1994; Veldkamp 2015). Přesto je ale v diagramech patrná tendence shlukování se jedinců stejného taxonu. Míra vzájemné morfologické diferenciacce není ale u všech taxonů stejná. Při analýze všech znaků byla od ostatních taxonů poměrně dobře oddělená *calthifolia*, což je dáno zejména vzpřímeným charakterem růstu a málo skvrnitými listy. Také jedinci *fertilis* vytvářeli zřetelný shluk, částečně izolovaný od ostatních taxonů. Ve srovnání s poddruhem *calthifolia* je ale poddruh *fertilis* morfologicky více heterogenní. Poddruh *fertilis* se sice vyznačuje rovněž vzpřímeným charakterem růstu, ale díky více skvrnitým listům byl od poddruhu *calthifolia* relativně dobře oddělený podél druhé osy. Poddruh *verna* byl ve všech třech datasetech zastoupen největším počtem studovaných jedinců, pocházejících z nejrozsáhlejšího geografického území, což se odrazilo v největší morfologické variabilitě zaznamenané právě u tohoto taxonu. Převážná většina jedinců byla ale oddělena od *calthifolia* a *fertilis* díky více poléhavým lodyhám s více internodií.

Vyřazení některých znaků v druhé PCoA (počet pacibulek na lodyze, délka lodyhy v době zralosti nažek, znaky na nažkách) se projevilo zejména horším oddělením jedinců *fertilis* a *verna*. Patrně je to důsledek zejména vyřazení počtu pacibulek na lodyze, protože právě tento znak je pro diferenciaci těchto dvou poddruhů považován snad za nejdůležitější, resp. nejspolehlivější (Heywood & Walker 1961). Naproti tomu *calthifolia* a *verna* byly zřetelně odlišené i v tomto případě, z čehož vyplývá, že pro jejich rozlišení není přítomnost/nepřítomnost pacibulek tak zásadní jako v případě dvojice *verna* a *fertilis*. *Ficariiformis*, poslední z hojněji zastoupených poddruhů, vytváří ve všech třech datasetech nejméně jednotnou skupinu, která se značně prolíná s jinými taxony. Oprávněnost vyčleňování tohoto taxonu se na základě morfologie jeví jako pochybná. Také na základě studia velikosti genomu se reálná existence taxonu *ficariiformis* jeví jako nejistá, neboť velikostí genomu se tetraploidní *ficariiformis* neliší od tetraploidní *verna* (Konečná 2018).

Poměrně dobrou separaci jednotlivých taxonů ukázala PCoA provedená pouze se znaky na listech. Zde se *ficariiformis* podél první osy částečně oddělovala od *verna*, což ale souvisí s delšími řapíky a většími listovými čepelemi u tohoto poddruhu. Vzhledem k tomu, že právě na základě velikosti orgánů bylo při prvotním určení rozhodnuto, zda se jedná o poddruh *verna* či *ficariiformis*, nelze tuto částečnou separaci obou taxonů považovat za důkaz podporující oprávněnost vyčleňování poddruhu *ficariiformis*. Diskriminační analýza ukázala, že tyto dva poddruhy jsou vzájemně prakticky neurčitelné; poněkud vzdálenější si byly při diskriminační analýze provedené na odebraných listech, což ale opět bylo dáno velikostními rozdíly.

Podobně jako při analýze tvaru listů pomocí geometrické morfometrie, také v případě PCoA (se všemi znaky i pouze se znaky na odebraných listech) byla u *ficarioides* zjištěna největší podobnost s poddruhem *calthifolia*. Je možné, že tyto dva diploidní poddruhy jsou si blízce příbuzné. Kromě morfologické podobnosti (podobný tvar listů, tvorba přeslenu, absence pacibulek, vzpřímený růst) by tomu nasvědčovala i relativní blízkost areálů těchto dvou poddruhů. Zároveň jsou ale tyto dva poddruhy vzájemně snadno rozpoznatelné zejména díky výrazně laločnatému okraji listů u *ficarioides*. Ostatně i výsledky diskriminační analýzy naznačují, že tyto dva poddruhy lze bez problémů rozeznat. Hybridní taxon *×sellii* byl i v PCoA analýzách přibližně intermediární mezi svými rodičovskými taxony. K vyslovení jednoznačných závěrů by ale pro taxony *ficarioides*, *×sellii* a *chrysocephala* bylo zapotřebí provést morfometrickou analýzu na větším počtu populací/jedinců.

7 Závěr

Tato diplomová práce přispěla k poznání morfologické variability v rodě *Ficaria*. Výhodou práce je pokrytí celého areálu většiny taxonů, studium rostlin pěstovaných v uniformních podmínkách a znalost ploidní úrovně studovaných rostlin. Byly použity jednorozměrné i mnohorozměrné statistické metody. Kromě tradičních morfometrických metod byla použita i metoda geometrické morfometrie (eliptická Fourierova analýza), konkrétně pro srovnání tvaru listů. Podařilo se získat obsáhlý soubor morfologických dat, bohužel byl ale dataset značně nevyvážený. Protože byly použity pouze morfometrické metody, je význam výsledků pro objasnění taxonomické problematiky limitovaný.

U řady tradičně uváděných morfologických znaků byla potvrzena jejich vhodnost pro determinaci taxonů. Rozsahy hodnot morfologických znaků se ale mezi jednotlivými taxony značně překrývají a pro správnou determinaci je vždy nutné kombinovat více morfologických znaků. Velmi užitečným znakem je tvorba pacibulek v úžlabí listů, která byla doposud pozorována pouze u poddruhů *ficariiformis*, *verna* a hybridního taxonu \times *sellii*. Ze znaků, které nebývají v literatuře pro determinaci výslovně zmiňovány, se jako užitečné jeví tloušťka listové čepele, chlupatost lodyhy, zbarvení korunních lístků anthokyany nebo také skvrnitost listů a tvar nažek. U poddruhu *verna*, který má největší areál, byla zaznamenána klinální variabilita ve tvaru listové čepele se zeměpisnou délkou.

Na základě morfologických rozdílů by patrně bylo vhodné hodnotit poddruhy *calthifolia*, *fertilis*, *ficarioides* a *verna* na úrovni samostatných druhů. Na druhou stranu ale existují i morfologicky ne zcela jednoznačně zařaditelné populace. Poddruh *ficariiformis* se jeví jako pochybný taxon, morfologicky blízký poddruhu *verna*. Přesto se v některých znacích od poddruhu *verna* statisticky liší, například častou přítomností přeslenu listů nebo větším množstvím anthokyanů na abaxiální straně korunních lístků. Poddruh *chrysocephala* byl v datasetu zastoupen příliš malým počtem jedinců pro vyslovení nějakého závěru. Pro hybridní taxon \times *sellii* byla velikost vzorku rovněž poměrně redukována, avšak výsledky naznačují pro většinu znaků intermediární charakter mezi jeho rodičovskými taxony, poddruhy *calthifolia* a *verna*.

Studium polyploidního komplexu rodu *Ficaria* vyžaduje další, podrobnější analýzy, a to zejména molekulární, neboť samotné morfometrické a cytologické metody nejsou pro objasnění fylogenetických vztahů dostačující. Důležité je zařadit do studia rostliny z různých částí areálů jednotlivých taxonů. Na základě studia chloroplastových haplotypů a ITS (Duchoslav et al. nepublikováno) se v poslední době ukazuje, že celá problematika bude

patrně mnohem komplikovanější, než se předpokládalo. Pozoruhodné je nedávné zjištění, že triploidní jedinci jsou v přírodě velmi častí (Duchoslav et al. nepublikováno). Taxonomické členění rodu *Ficaria* tak zřejmě v budoucnu projde změnami.

8 Literatura

- Abbott R. J., Hegarty M. J., Hiscock S. J. & Brennan A. C. (2010): Homoploid hybrid speciation in action. – *Taxon* 59: 1375–1386.
- Adams D. C., Rohlf F. J. & Slice D. E. (2004): Geometric morphometrics: ten years of progress following the ‘revolution’. – *Ital. J. Zool.* 71: 5–16.
- Anders-Gasser I. (1985): Cytotaxonomische Untersuchungen an *Ranunculus ficaria* L. – *Mitt. Naturforsch. Ges. Bern* 42: 79–85.
- Andreas C. H. (1954): Notes on *Ranunculus ficaria* L. in the Netherlands. – *Acta Bot. Neerl.* 3: 446–453.
- Angaji S. A., Ghahremaninejad F., Mousavi S. F. & Tabrizi F. M. (2012): Study of genetic variation in *Salix* using molecular markers. – *Adv. Environ. Biol.* 6: 2982–2985.
- Axtell A., DiTommaso A. & Post A. (2010): Lesser celandine (*Ranunculus ficaria*): A threat to woodland habitats in the northern United States and southern Canada. – *Invasive Plant Sci. Manag.* 3: 190–196.
- Babil P. K., Irie K., Shiwachi H., Tun Y. T., Toyohara H. & Fujimaki H. (2010): Ploidy variation and their effects on leaf and stoma traits of water yam (*Dioscorea alata* L.) collected in Myanmar. – *Trop. Agr. Develop.* 54: 132–139.
- Baltisberger M. & Widmer A. (2005): Cytological investigations on some *Ranunculus* species from Crete. – *Candollea* 60: 335–344.
- Banfi E., Galasso G. & Soldano A. (2011): Notes on systematics and taxonomy for the Italian vascular flora. 2. – *Nat. Hist. Sci.* 152: 85–106.
- Bar M. & Ori N. (2014): Leaf development and morphogenesis. – *Development* 141: 4219–4230.
- Barros Neves J. (1942): Sôbre a carilogia de *Ranunculus ficaria* L. – *Bol. Soc. Brot.* 16: 169–181.
- Blackith R. E. & Reyment R. A. (1971): *Multivariate morphometrics*. – Academic Press, London.
- Bonhomme V., Picq S., Gaucherel C. & Claude J. (2014): Momocs: outline analysis using R. – *J. Stat. Softw.* 56: 1–24.
- Bonhomme V., Prasad S. & Gaucherel C. (2013): Intraspecific variability of pollen morphology as revealed by elliptic Fourier analysis. – *Plant Syst. Evol.* 299: 811–816.
- Bookstein F. L. (1989): Principal warps: Thin-plate splines and the decomposition of deformations. – *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.* 11: 567–585.

- Bookstein F. L. (1991). Morphometric tools for landmark data. – Cambridge University Press, Cambridge.
- Bradshaw A. D. (1965): Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. – *Adv. Genet.* 13: 115–155.
- Brown J., Brown A. P., Davis J. B. & Erickson D. (1997): Intergeneric hybridization between *Sinapis alba* and *Brassica napus*. – *Euphytica* 93: 163–168.
- Burkle L. A. & Irwin R. E. (2010): Beyond biomass: measuring the effects of community-level nitrogen enrichment on floral traits, pollinator visitation and plant reproduction. – *J. Ecol.* 98: 705–717.
- Campitelli B. E. & Stinchcombe J. R. (2013): Natural selection maintains a single-locus leaf shape cline in Ivyleaf morning glory, *Ipomoea hederacea*. – *Mol. Ecol.* 22: 552–564.
- Ciocârlan V. (2009): Flora ilustrată a României, Pteridophyta et Spermatophyta, Ed. 3. – Edit. Ceres, București.
- Cipollini K., Titus K. & Wagner C. (2012): Allelopathic effects of invasive species (*Alliaria petiolata*, *Lonicera maackii*, *Ranunculus ficaria*) in the midwestern United States. – *Allelopathy J.* 29: 63–76.
- Danin A. & Fragman-Sapir O. (2016): Flora of Israel and adjacent areas. – URL: <https://flora.org.il/en/plants/> (navštíveno 4. 3. 2023)
- Diosdado J. C & Pastor J. E. (1993): Aportación al conocimiento cariológico del género *Ranunculus* L. subgénero *Ficaria* (Schaeffer) L. Benson en la Península Ibérica. – *Acta Bot. Malac.* 18: 77–88.
- Drenckhahn D. (2016): Morphologie und Jahreszyklus von *Ficaria calthifolia* Rchb. – eine neu etablierte Sippe in Deutschland. – *Forum geobot.* 7: 1–17.
- Drenckhahn D., Baumgartner W. & Zonneveld B. (2017): Different genome sizes of Western and Eastern *Ficaria verna* lineages shed light on steps of *Ficaria* evolution. – *Forum geobot.* 7: 27–33.
- Duchoslav M. & Trávníček B. (2019): 15. *Ficaria* Guett. – orsej. – In: Kaplan Z., Danihelka J., Chrtek J. jun., Kirschner J., Kubát K., Štech M. & Štěpánek J. (eds), Klíč ke květeně České republiky. Ed. 2, p. 373, Academia, Praha.
- Emadzade K., Lehnebach C., Lockhart P. & Hörandl E. (2010): A molecular phylogeny, morphology and classification of genera of Ranunculeae (Ranunculaceae). – *Taxon* 59: 809–828.
- Förster P. (1997): Die Keimpflanzen der Tribus Ranunculeae DC. und der Tribus Adonideae Kunth (Ranunculaceae). – *Flora* 192: 133–142.

- Frazer J. E. & Marquis R. J. (1994): Environmental contribution to floral trait variation in *Chamaecrista fasciculata* (Fabaceae: Caesalpinoideae). – *Am. J. Bot.* 81: 206–215.
- Fritz M. A., Rosa S. & Sicard A. (2018): Mechanisms underlying the environmentally induced plasticity of leaf morphology. – *Front. Genet.* 9: 478.
- Furuta N., Ninomiya S., Takahashi N., Ohmori H. & Ukai Y. (1995): Quantitative evaluation of soybean (*Glycine max* L. Merr.) leaflet shape by principal component scores based on elliptic Fourier descriptor. – *Breed. Sci.* 45: 315–320.
- Gadella T. W. J. (1977): De fertiele vorm van het Speenkruid, *Ranunculus ficaria* L. ssp. *ficaria*, nieuw voor Nederland. – *Levende Nat.* 80: 131–142.
- Gadnidge R. I., Gviniashvili T. N., Danelia I. M. & Churadze M. V. (1998): Chromosome numbers of the species of the Georgian flora. – *Bot. Zhurn. (Moscow & Leningrad)* 83: 143–147.
- Gill J. J. B., Jones B. M. G., Marchant C. J., McLeish J. & Ockendon D. J. (1972): The distribution of chromosome races of *Ranunculus ficaria* L. in the British Isles. – *Ann. Bot.* 36: 31–47.
- González A. V. & Gianoli E. (2004): Morphological plasticity in response to shading in three *Convolvulus* species of different ecological breadth. – *Acta Oecol.* 26: 185–190.
- Gorb E. V. & Gorb S. N. (2003): Seed dispersal by ants in a deciduous forest ecosystem: mechanisms, strategies, adaptations. – Kluwer Academic Publisher, Dordrecht.
- Graves S., Piepho H., Selzer L. & Dorai-Raj S. (2019): multcompView: Visualizations of Paired Comparisons. R package version 0.1-8. – URL: <https://CRAN.R-project.org/package=multcompView>.
- Haig D. & Westoby M. (1991): Genomic imprinting in endosperm: its effect on seed development in crosses between species, and between different ploidies of the same species, and its implications for the evolution of apomixis. – *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 333: 1–13.
- Halket A. C. (1927): Observations on the tubercles of *Ranunculus ficaria* L. – *Ann. Bot.* 41: 731–753.
- Hand R. (2006): Supplementary notes to the flora of Cyprus V. – *Willdenowia* 36: 761–809.
- Hassler M. (2022): Synonymic checklists of the vascular plants of the world. – In: Bánki O., Roskov Y., Döring M., Ower G., Vandepitte L., Hobern D., Remsen D., Schalk P., DeWalt R. E., Keping M. et al., Catalogue of Life Checklist (14.3, Nov 2022). – URL: <https://doi.org/10.48580/dfqt-3dd> (navštíveno 17. 4. 2023)
- Hervé M. (2022): RVAideMemoire: Testing and Plotting Procedures for Biostatistics. R package version 0.9-81-2. – URL: <https://CRAN.R-project.org/package=RVAideMemoire>.

- Heywood V. H. & Walker S. (1961): Morphological separation of cytological races in *Ranunculus ficaria* L. – Nature 189: 604.
- Higaki T., Imamura J. S. & Paull R. E. (1992): N, P, and K rates and leaf tissue standards for optimum *Anthurium andraeanum* flower production. – HortScience 27: 909–912.
- Hintze J. (2013): NCSS 9. – NCSS, LLC, Kaysville, Utah, USA. – URL: <http://www.ncss.com>.
- Hollister J. D. (2015): Polyploidy: adaptation to the genomic environment. – New Phytol. 205: 1034–1039.
- Holman J. E., Hughes J. M. & Fensham R. J. (2011): Origins of a morphological cline between *Eucalyptus melanophloia* and *Eucalyptus whitei*. – Aust. J. Bot. 59: 244–252.
- Hörandl E., Paun O., Johansson J., Lehnebach C., Armstrong T., Chen L. & Lockhart P. (2005): Phylogenetic relationships and evolutionary traits in *Ranunculus* s.l. (Ranunculaceae) inferred from ITS sequence analysis. – Mol. Phylogenet. Evol. 36: 305–327.
- Howell C. (2008): Consolidated list of environmental weeds in New Zealand. – Science & Technical Pub., Dept of Conservation, Wellington, NZ.
- Chen Y., Jabbour F., Novikov A., Wang W. & Gerber S. (2018): A study of floral shape variation in Delphinieae (Ranunculaceae) using geometric morphometrics on herbarium specimens. – Bot. Lett. 165: 368–376.
- Chitwood D. H. & Otoni W. C. (2017): Morphometric analysis of *Passiflora* leaves: the relationship between landmarks of the vasculature and elliptical Fourier descriptors of the blade. – GigaScience 6: 1–13.
- Chitwood D. H., Rundell S. M., Li D. Y., Woodford Q. L., Yu T. T., Lopez J. R., Greenblatt D., Kang J. & Londo J. P. (2016): Climate and developmental plasticity: interannual variability in grapevine leaf morphology. – Plant Physiol. 170: 1480–1491.
- Chitwood D. H. & Sinha N. R. (2016): Evolutionary and environmental forces sculpting leaf development. – Curr. Biol. 26: R297–R306.
- Iwata H. & Ukai Y. (2002): SHAPE: A computer program package for quantitative evaluation of biological shapes based on elliptic Fourier descriptors. – J. Hered. 93: 384–385.
- Jørgensen S. & Mauricio R. (2005): Hybridization as a source of evolutionary novelty: leaf shape in a Hawaiian composite. – Genetica 123: 171–179.
- Karbstein K., Tomasello S., Hodač L., Dunkel F. G., Daubert M. & Hörandl E. (2020): Phylogenomics supported by geometric morphometrics reveals delimitation of sexual species within the polyploid apomictic *Ranunculus auricomus* complex (Ranunculaceae). – Taxon 69: 1191–1220.

Kassambara A. (2020): ggpubr: 'ggplot2' Based Publication Ready Plots. R package version 0.4.0. – URL: <https://CRAN.R-project.org/package=ggpubr>.

Kästner A. & Fischer A. (2006): Porträts ausgewählter seltener österreichischer Gefäßpflanzenarten (II): (5) *Callianthemum anemonoides*, (6) *Cephalaria transsylvanica*, (7) *Ceratocephala orthoceras*, (8) *Ficaria calthifolia* im Vergleich mit (9) *F. verna*, (10) *Isopyrum thalictroides*, (11) *Medicago monspeliaca*, (12) *Melampyrum barbatum*, (13) *Ononis pusilla*, (14) *O. rotundifolia* und (15) *Silene flavescens*. – *Neilreichia* 4: 75–109.

Kato J., Ishikawa R. & Mii M. (2001): Different genomic combinations in inter-section hybrids obtained from the crosses between *Primula sieboldii* (Section *Cortusoides*) and *P. obconica* (Section *Obconicolisteri*) by the embryo rescue technique. – *Theor. Appl. Genet.* 102: 1129–1135.

Kellogg E. A., Hiser K. M. & Doust A. N. (2004): Taxonomy, phylogeny, and inflorescence development of the genus *Ixophorus* (Panicoideae: Poaceae). – *Int. J. Plant Sci.* 165: 1089–1105.

Kendall D. G. (1977): The diffusion of shape. – *Adv. Appl. Probab.* 9: 428–430.

Kincaid D. T. & Schneider R. B. (1983): Quantification of leaf shape with a microcomputer and Fourier transform. – *Can. J. Bot.* 61: 2333–2342.

Klein L. L. & Svoboda H. T. (2017): Comprehensive methods for leaf geometric morphometric analyses. – *Bio-protocol* 7: e2269.

Konečná M. (2018): Variabilita ve velikostech genomu a průduchů taxonů rodu orsej (*Ficaria*) v Evropě [bakalářská práce]. – Katedra ekologie a ŽP PřF UP, Olomouc.

Konečná M. (2021): Reproductive biology in the genus *Ficaria*: reproductive modes, pollen viability and size, and experimental homoploid hybridization between selected taxa [diplomová práce]. – Katedra botaniky PřF UP, Olomouc.

Koutecký P., Prančl J., Košnar J., Koutecká E., Hanzlíčková J., Lučanová M., Nejedlá M. & Kaplan Z. (2022): Waking up from a taxonomist's nightmare: emerging structure of *Ranunculus* section *Batrachium* (Ranunculaceae) in central Europe based on molecular data and genome sizes. – *Bot. J. Linn. Soc.* 198: 417–437.

Křisa B. (1988): 10. *Ficaria* Guett. – orsej. – In: Hejný S. & Slavík B. (eds), *Květena České socialistické republiky* 1, p. 456–458, Academia, Praha.

Kuhl F. P. & Giardina C. R. (1982): Elliptic Fourier features of a closed contour. – *Comput. graph. image process.* 18: 236–258.

Kuligowska K., Lütken H., Christensen B. & Müller R. (2015): Quantitative and qualitative characterization of novel features of *Kalanchoë* interspecific hybrids. – *Euphytica* 205: 927–940.

- Laegaard S. (2001): Validation of *Ranunculus ficaria* L. ssp. *fertilis* Clapham ex Laegaard (Ranunculaceae). – Nord. J. Bot. 20: 525–526.
- Lehnebach C. A., Cano A., Monsalve C., McLenachan P., Hörandl E. & Lockhart P. (2007): Phylogenetic relationships of the monotypic Peruvian genus *Laccopetalum* (Ranunculaceae). – Pl. Syst. Evol. 264: 109–116.
- Liu Y., Li Y., Song J., Zhang R., Yan Y., Wang Y. & Du F. K. (2018): Geometric morphometric analyses of leaf shapes in two sympatric Chinese oaks: *Quercus dentata* Thunberg and *Quercus aliena* Blume (Fagaceae). – Ann. For. Sci. 75: 90.
- López-Sampson A. & Page T. (2018): Elliptical Fourier descriptors of leaf outlines: a tool to discriminate among *Aquilaria* species (Thymelaeaceae). – Silvae Genet. 67: 89–92.
- Majetic C. J., Fetters A. M., Beck O. M., Stachnik E. F. & Beam K. M. (2017): *Petunia* floral trait plasticity in response to soil nitrogen content and subsequent impacts on insect visitation. – Flora 232: 183–193.
- Mangiafico S. (2022): rcompanion: Functions to Support Extension Education Program Evaluation. R package version 2.4.16. – URL: <https://CRAN.R-project.org/package=rcompanion>.
- Mansouri H. & Bagheri M. (2017): Induction of polyploidy and its effect on *Cannabis sativa* L. – In: Chandra S., Lata H. & ElSohly M. (eds), *Cannabis sativa* L.-Botany and Biotechnology, p. 365–383, Springer, Cham, Switzerland.
- Marchant C. & Brighton C. (1974): Cytological diversity and triploid frequency in a complex population of *Ranunculus ficaria* L. – Ann. Bot. 38: 7–15.
- Marsden-Jones E. M. (1935): *Ranunculus ficaria* Linn.: life-history and pollination. – J. Linn. Soc. Bot. 50: 39–55.
- Marsden-Jones E. M. & Turrill W. B. (1952): Studies on *Ranunculus ficaria*. – J. Genet. 50: 522–534.
- Masters J. A. & Emery S. M. (2015): Leaf litter depth has only a small influence on *Ranunculus ficaria* (Ranunculaceae) biomass and reproduction. – Am. Midl. Nat. 173: 30–37.
- Masters J. & Emery S. (2016): Do multiple mechanisms drive the dominance of an invasive plant (*Ranunculus ficaria*, Ranunculaceae) along an urban stream? – J. Torrey Bot. Soc. 143: 359–366.
- McLellan T. (2000): Geographic variation and plasticity of leaf shape and size in *Begonia dregei* and *B. homonyma* (Begoniaceae). – Bot. J. Linn. Soc. 132: 79–95.
- Metcalf C. (1936): An interpretation of the morphology of the single cotyledon of *Ranunculus ficaria* based on embryology and seedling anatomy. – Ann. Bot. 50: 103–120.

- Metcalf C. (1938): The morphology and mode of development of the axillary tubercles and root tubers of *Ranunculus ficaria*. – Ann. Bot. 2: 145–157.
- Mitteroecker P. & Gunz P. (2009): Advances in geometric morphometrics. – Evol. Biol. 36: 235–247.
- Navas M. L. & Garnier E. (2002): Plasticity of whole plant and leaf traits in *Rubia peregrina* in response to light, nutrient and water availability. – Acta Oecol. 23: 375–383.
- Nicoletti F., Barberis G., Casazza G., De Benedetti L., De Maria G. & Minuto L. (2014): Species distinction within *Campanula* sect. *Heterophylla* in the SW Alps: molecular, morphological and chemotaxonomic evidences. – Plant Biosyst. 148: 1138–1147.
- Nicholson G. G. (1981): The use of chloroplast numbers in guard cells as a means of distinguishing the chromosome races of *Ranunculus ficaria* L. – Ann. Bot. 48: 909–913.
- Nicholson G. G. (1983): Studies on the distribution and relationship between the chromosome races of *Ranunculus ficaria* L. in S.E. Yorkshire. – Watsonia 14: 321–328.
- Ogle D. H., Doll J. C., Wheeler P. A. & Dinno A. (2022): FSA: Fisheries Stock Analysis. R package version 0.9.3. – URL: <https://github.com/fishR-Core-Team/FSA>.
- Ovchinnikov P. N. (1937): *Ficaria*. – In: Komarov V. L. & Shishkin B. K. (eds), Flora of the U.S.S.R. Vol. VII.: Ranales and Rhoadales, p. 257–260, Izdatel'stvo Akademii Nauk SSSR, Moskva/Leningrad.
- Papeš D. & Trinajstić I. (1981): In: Löve Á. (ed.): Chromosome number reports LXX. – Taxon 30: 68–80.
- Paun O., Lehnebach C., Johansson J. T., Lockhart P. & Hörandl E. (2005): Phylogenetic relationships and biogeography of *Ranunculus* and allied genera (Ranunculaceae) in the Mediterranean region and in the European Alpine system. – Taxon 54: 911–930.
- Pessoa E. M., Cordeiro J. M. P., Felix L. P., Almeida E. M., Costa L., Nepomuceno Á., Souza G., Chase M. W., Alves M. & van den Berg C. (2021): Too many species: morphometrics, molecular phylogenetics and genome structure of a Brazilian species complex in *Epidendrum* (Laeliinae; Orchidaceae) reveal fewer species than previously thought. – Bot. J. Linn. Soc. 195: 161–188.
- Picotte J. J., Rhode J. M. & Cruzan M. B. (2009): Leaf morphological responses to variation in water availability for plants in the *Piriqueta caroliniana* complex. – Plant Ecol. 200: 267–275.
- Piedra-Malagón E. M., Albarrán-Lara A. L., Rull J., Piñero D. & Sosa V. (2016): Using multiple sources of characters to delimit species in the genus *Crataegus* (Rosaceae): the case of the *Crataegus rosei* complex. – Syst. Biodivers. 14: 244–260.
- Pogan E. & Wcisło H. (1974): Studies in *Ranunculus ficaria* L. II. Further karyological studies. – Acta. Biol. Crac. Ser. Bot. 27: 165–173.

- Pogan E. & Wcisło H. (1981a): Studies in *Ranunculus ficaria* L. IV. Cyto-embryological studies. – Acta. Biol. Crac. Ser. Bot. 23: 37–57.
- Pogan E. & Wcisło H. (1981b): Studies in *Ranunculus ficaria* L. V. Cytoembryological analysis of *Ranunculus ficaria* L. subsp. *calthifolius* (Rchb.) Arc. with B–chromosomes. – Acta Biol. Crac. Ser. Bot. 23: 83–97.
- Popelka O., Sochor M. & Duchoslav M. (2019a): Reciprocal hybridization between diploid *Ficaria calthifolia* and tetraploid *Ficaria verna* subsp. *verna*: evidence from experimental crossing, genome size and molecular markers – Bot. J. Linn. Soc. 189: 293–310.
- Popelka O., Trávníček B., Šiková P., Jandová M. & Duchoslav M. (2019b): Natural hybridization between diploid *Ficaria calthifolia* and tetraploid *Ficaria verna* subsp. *verna* in central Europe: evidence from morphology, ecology and life-history traits. – Preslia 91: 179–212.
- Post A. R., Krings A., Wall W. A. & Neal J. C. (2009): Introduced lesser celandine (*Ranunculus ficaria*, Ranunculaceae) and its putative subspecies in the United States: A morphometric analysis. – J. Bot. Res. Inst. Texas 3: 193–209.
- QGIS Development Team (2022): QGIS 3.28.1-Firenze. – URL: <https://www.qgis.org>.
- Ramsey J. & Schemske D. W. (2002): Neopolyploidy in flowering plants. – Annu. Rev. Ecol. Syst. 33: 589–639.
- Rejlová L., Böhmová A., Chumová Z., Hořčicová Š., Josefiová J., Schmidt P. A., Trávníček P., Urfus T., Vít P. & Chrtek J. (2021): Disparity between morphology and genetics in *Urtica dioica* (Urticaceae). – Bot. J. Linn. Soc. 195: 606–621.
- Rieseberg L. H., Ellstrand N. C. & Arnold M. (1993): What can molecular and morphological markers tell us about plant hybridization? – Crit. Rev. Plant Sci. 12: 213–241.
- Robinson D., Hayes A. & Couch S. (2022): broom: Convert Statistical Objects into Tidy Tibbles. R package version 1.0.0. – URL: <https://CRAN.R-project.org/package=broom>.
- Rohlf F. J. & Archie J. W. (1984): A comparison of Fourier methods for the description of wing shape in mosquitoes (Diptera: Culicidae). – Syst. Zool. 33: 302–317.
- Rohlf F. J. & Marcus L. F. (1993): A revolution in morphometrics. – Trends Ecol. Evol. 8: 129–132.
- Rohlf F. J. & Slice D. (1990): Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. – Syst. Zool. 39: 40–59.
- Scott R. J., Spielman M., Bailey J. & Dickinson H. G. (1998): Parent-of-origin effects on seed development in *Arabidopsis thaliana*. – Development 125: 3329–3341.
- Sell P. D. (1994): *Ranunculus ficaria* L. sensu lato. – Watsonia 20: 41–50.

- Shipunov A. B. & Bateman R. M. (2005): Geometric morphometrics as a tool for understanding *Dactylorhiza* (Orchidaceae) diversity in European Russia. – *Biol. J. Linn. Soc.* 85: 1–12.
- Schwarzbach A. E., Donovan L. A. & Rieseberg L. H. (2001): Transgressive character expression in a hybrid sunflower species. – *Am. J. Bot.* 88: 270–277.
- Siegel A. F. & Benson R. H. (1982): A robust comparison of biological shapes. – *Biometrics* 38: 341–350.
- Slice D. E. (2005): *Modern morphometrics in physical anthropology*. – Kluwer Academic / Plenum Publishers, New York.
- Soares M. L. C., Mayo S. J., Gribel R. & Kirkup D. (2011): Elliptic Fourier analysis of leaf outlines in five species of *Heteropsis* (Araceae) from the Reserva Florestal Adolpho Ducke, Manaus, Amazonas, Brazil. – *Kew Bull.* 66: 463–470.
- Soó R. & Borhidi A. (1966): Über einige Formenkreise der ungarischen und karpatischen Flora IV. *Ficaria*. – *Ann. Univ. Sci. Budapest Rolando Eötvös, Sect. Biol.* 8: 297–300.
- Stace C. A. (2010): *New flora of the British Isles*, Ed. 2. – Cambridge University Press, Cambridge.
- Stebbins G. L. (1950): *Variation and evolution in plants*. – Columbia University Press, New York.
- Stebbins G. L. (1971): *Chromosomal evolution in higher plants*. – Edward Arnold Ltd, London.
- Šiková P. (2014): *Mezidruhová hybridizace v rodu Ficaria v prostoru střední Evropy*. [diplomová práce]. – Katedra botaniky PřF UP, Olomouc.
- Taylor K. & Markham B. (1978): *Ranunculus ficaria* L. (*Ficaria verna* Huds.; *F. Ranunculoides* Moench). – *J. Ecol.* 66: 1011–1031.
- ter Braak C. J. F. & Šmilauer P. (2012): *CANOCO reference manual and user's guide: software for ordination (version 5.0)*. – Microcomputer Power, Ithaca.
- Thompson D. W. (1917): *On growth and form*. – Cambridge University Press, Cambridge.
- Tröhler A. (1976): Zytotaxonomische Untersuchungen an *Ranunculus ficaria* L. – *Mitt. Naturforsch. Ges. Bern* 33: 21–28.
- Tsukaya H. (2005): Leaf shape: genetic controls and environmental factors. – *Int. J. Dev. Biol.* 49: 547–555.
- Tutin T. G. & Cook C. D. K. (1993): *Ranunculus*. – In: Tutin T. G., Burges N. A., Chater A. O., Edmondson J. R., Heywood V. H., Moore D. M., Valentine D. H., Walters S. M. &

Webb D. A. (eds), *Flora Europaea* Vol. 1: Psilotaceae to Platanaceae. Ed. 2, p. 269–286, Cambridge University Press, Cambridge.

Uhlířová J. (2019): Morfologická variabilita polyploidního komplexu orseje jarního (*Ficaria verna*) v Evropě [bakalářská práce]. – Katedra botaniky PřF UP, Olomouc.

Urbanová P. & Králík M. (2009): Kvantitativní popis tvaru pomocí metod geometrické morfometrie. – In: Malina J. & Svoboda J. (eds), *Čas lovců: Aktualizované dějiny paleolitu. Panoráma antropologie: biologické – sociální – kulturní*, p. 277–289, Nadace Universitas v Brně, Akademické nakladatelství CERM, Brno.

Vamosi J. C., Goring S. J., Kennedy B. F., Mayberry R. J., Moray C. M., Neame L. A., Tunbridge N. D. & Elle E. (2007): Pollination, floral display, and the ecological correlates of polyploidy. – *Functional Ecosystems and Communities* 1: 1–9.

Vázquez F. M. (2016): Aproximación al conocimiento del género *Ficaria* Huds., (Ranunculaceae) en Extremadura, España. – *Folia Botanica Extremadurensis* 9: 15–23.

Veldkamp J. F. (2015): De nomenclatuur van Speenkruiden (*Ficaria verna* Huds. s.l., Ranunculaceae). – *Gorteria* 37: 84–116.

Veselá E. (1969): Beitrag zur Taxonomie der Art *Ficaria verna* Huds. – *Preslia* 41: 313–322.

Villellas J., Ehrlén J., Crone E. E., Csörgő A. M., Garcia M. B., Laine A. L., Roach D. A., Salguero-Gómez R., Wardle G. M., Childs D. Z. et al. (2021): Phenotypic plasticity masks range-wide genetic differentiation for vegetative but not reproductive traits in a short-lived plant. – *Ecol. Lett.* 24: 2378–2393.

Viscosi V. & Cardini A. (2011): Leaf morphology, taxonomy and geometric morphometrics: a simplified protocol for beginners. – *PLOS one* 6: e25630.

Viscosi V., Lepais O., Gerber S. & Fortini P. (2009): Leaf morphological analyses in four European oak species (*Quercus*) and their hybrids: A comparison of traditional and geometric morphometric methods. – *Plant Biosyst.* 143: 564–574.

Wang H., Liu P. L., Li J., Yang H., Li Q. & Chang Z. Y. (2021): Why more leaflets? The role of natural selection in shaping the spatial pattern of leaf-shape variation in *Oxytropis diversifolia* (Fabaceae) and two close relatives. – *Front. Plant Sci.* 12: 681962.

Wcisło H. & Pogan E. (1981): Cytoembryological aspects of reduced seed setting in *Ranunculus ficaria* L. subsp. *bulbifer* (Marsden-Jones) Lawalrée. – *Acta Soc. Bot. Pol.* 50: 253–255.

Webb C. J., Sykes W. R., Garnock-Jones P. J. & Brownsey P. J. (1995): Checklist of dicotyledons, gymnosperms, and pteridophytes naturalised or casual in New Zealand: Additional records 1988–1993. – *New Zealand J. Bot.* 33: 151–182.

- White R. J., Prentice H. C. & Verwijst T. (1988): Automated image acquisition and morphometric description. – *Can. J. Bot.* 66: 450–459.
- Wickham H. (2016): *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York. – URL: <https://ggplot2.tidyverse.org>.
- Wickham H., François R., Henry L. & Müller K. (2022): *dplyr: A Grammar of Data Manipulation*. R package version 1.0.9. – URL: <https://CRAN.R-project.org/package=dplyr>.
- Xu F., Guo W., Xu W. & Wang R. (2008): Habitat effects on leaf morphological plasticity in *Quercus acutissima*. – *Acta Biol. Crac. Ser. Bot.* 50: 19–26.
- Yoshioka Y., Iwata H., Ohsawa R. & Ninomiya S. (2004): Analysis of petal shape variation of *Primula sieboldii* by elliptic Fourier descriptors and principal component analysis. – *Ann. Bot.* 94: 657–664.
- Zelditch M. L., Swiderski D. L. & Sheets H. D. (2012): *Geometric morphometrics for biologists: a primer*, Ed. 2. – Elsevier, Amsterdam.
- Zonneveld B. J. M. (2015): De verschillende genomgewichten van Europese *Ficaria* Huds. (Ranunculaceae) duiden op acht soorten. (Genome sizes of European *Ficaria* Huds. (Ranunculaceae) indicate eight separate species). – *Gorteria* 37: 118–139.

9 Přílohy

Příloha 1: Přehled lokalit studovaných populací zapěstovaných na experimentálním pozemku PřF UP v Olomouci. FC – *Ficaria verna* subsp. *calthifolia*, FCH – *F. v.* subsp. *chrysocephala*, FFE – *F. v.* subsp. *fertilis*, FFI – *F. v.* subsp. *ficariiformis*, FFO – *F. v.* subsp. *ficarioides*, FS – *F. ×sellii*, FV – *F. v.* subsp. *verna*.

Populace	Taxon	Ploidie	Stát	Obec	GPS	Nadm. výška (m)	Popis lokality
9_02	FC, FV	2x, 4x	CZ	Rakvice	48°50'32.900"N, 16°49'13.700"E	160	protipovodňový val zarostlý křovinami u polní cesty poblíž vodní plochy Jezero
10_01	FV	4x	CZ	Zbraň	50°8'26.540"N, 15°21'58.369"E	231	vlhká louka
10_05	FC	2x	CZ	Kadaň	50°21'51.000"N, 13°14'40.000"E	509	cesta na náhorní plošně nad severní strání
11_01	FC, FS, FV	2x, 3x, 4x	CZ	Plumlov	49°27'17.000"N, 17°1'19.000"E	280	okraj vlhkých křovin u potůčku
12_03	FFE	2x	GB	Newtonhill	57°2'12.000"N, 2°8'49.000"W	47	okraj města
12_04	FV	4x	GB	Newtonhill	57°1'57.000"N, 2°8'55.000"W	59	centrum města
12_09	FC	2x	CZ	Nový Bydžov	50°13'54.000"N, 15°25'45.000"E	245	okraj lesa
12_10	FC	2x	CZ	Lužec	50°12'45.000"N, 15°24'58.000"E	230	mezofilní trávník
12_16	FC	2x	CZ	Horky u Milotic	48°56'37.000"N, 17°8'5.000"E	225	
12_17	FC, FS, FV	2x, 3x, 4x	CZ	Dobelice	49°1'1.000"N, 16°16'19.000"E	256	akátina
14_01	FC	2x	HU	Tizsahas	46°49'52.000"N, 20°5'31.000"E	90	suchý trávník u cesty
14_03	FC	2x	SK	Nitra	48°17'55.000"N, 18°5'28.000"E	500	
14_05	FV	4x	SK	Kozárovce	48°18'33.000"N, 18°31'34.000"E	300	
15_03	FV	4x	SK	Nitra	48°20'42.7"N, 18°05'36.9"E	328	Zobor, za léčebnou

15_04	FC, FS, FV	2x, 3x, 4x	SK	Svätý Jur	48°14'15.6"N, 17°12'10.8"E	145	u kapličky
15_05	FV	4x	DE	Halle	51°29'36.240"N, 11°56'45.096"E	82	
15_08	FV	4x	RS	Bačevci	44°08'59.73"N, 19°54'42.28"E	417	lesík podél potoka (olše) a remízek s lískou obecnou, stanoviště stinné
15_09	FV	4x	RS	Zlatibor	43°43'33.111"N, 19°42'13.013"E	1000	sekaný trávník, stanoviště polostinné
15_10	FV	4x	RS	Nova Varoš	43°27'903"N, 019°43'974"E	710	olšina na břehu řeky (náplav), stanoviště stinné až polostinné
15_17	FC	2x	ME	Vladni	42°20'262"N, 019°17'516"E	30	suchá louka na patě xerothermni stráně
15_18	FV	4x	ME	Bukovik	42°12'675"N, 019°00'254"E	628	lesík
15_19	FC	2x	ME	Cetinje	42°23'742"N, 018°50'528"E	1466	Lovćen, skalnatá vápencová stráň, stanoviště slunné
15_22	FC	2x	BA	Neum	42°54'43.260"N, 17°37'41.940"E	27	okraj luční cesty a křovin, stanoviště polostinné a slunné
15_23	FV	4x	HR	Murvica	44°09'141"N, 015°20'134"E	63	břeh příkopu s vodou lemovaný křovinami, stanoviště stinné
15_24	FV	2x, 3x, 4x	HR	Zagraj	45°33'33.63"N, 015°36'35.96"E	116	okraj dubového lesa a křovin, stanoviště polostinné
15_26	FV	4x	HU	Pápa	47°20'02"N, 17°28'13"E	145	trávníky v městském parku, Várkert
15_31	FV	4x	PL	Nowy Żmigród	49°36'42"N, 21°31'54"E	285	trávník na hřbitově
15_37	FC	2x	CZ	Hradčany	50°09'450"N, 15°17'743"E	243	starý zarostlý sad až okraj ovsíkové louky
15_42	FC	2x	BG	Vlahi	41°44'25.7"N, 23°13'40.2"E	520	mláží tvořené habrovcem na okraji hřbitova
16_01	FV	4x	DE	Ammerndorf	49°25'01"N, 10°51'15"E	300	vlhké břehy stružky
16_03	FV	4x	DE	Altenbamberg	49°47'39.000"N, 7°49'18.000"E	210	okraj vlhké lesní cesty u potoka Grasbach
16_06	FC	2x	HR	Paklenica – Jurline	44°19'12.78"N, 15°29'20.14"E	625	podrost nízké doubravy s dřínou

16_08	FV	3x	CH	Brione	46°17'18.649"N, 8°47'49.904"E	705	
16_10	FV	4x	FI	Meriehamn	60°2'48"N, 19°58'28"E	5	louka
16_12	FV	4x	SI	Gaberje	45°49'57"N, 13°52'29"E	150	mezofilní louka
16_19	FV	4x	DE	Eberbach	49°29'27.384"N, 9°2'31.776"E	163	písčité ostrůvek a břehy pod jezem malé říčky, stanoviště slunné
16_20	FV	4x	DE	Heidelberg	49°20'57.6"N, 8°37'46.1"E	118	smíšený listnatý les, stanoviště stinné
16_22	FV	4x	FR	Saint-Bernard	47°39'38.232"N, 7°13'3.072"E	270	vlhká pastvina, stanoviště slunné
16_23	FV	4x	FR	Aibre	47°33'1.224"N, 6°41'37.572"E	350	travnatý okraj silnice a přilehlá louka, stanoviště slunné
16_24	FV	4x	FR	Chaufontanie	47°20'20.904"N, 6°9'29.808"E	290	travnatý okraj mezi parkovištěm a lesíkem, stanoviště polostinné
16_27	FFE	2x	FR	Chuzelles	45°35'35.304"N, 4°51'25.128"E	260	habřina na svahu, stanoviště stinné
16_30	FFE, FV	2x, 4x	FR	Mercuriol	45°5'40.236"N, 4°53'36.996"E	266	travnatý okraj silnice mezi lesíkem a silnicí, stanoviště polostinné
16_31	FV	4x	FR	Châteauneuf-du-Rhône	44°28'56.604"N, 4°42'56.880"E	87	vlhký travnatý okraj křoví ve strouze, stanoviště polostinné
16_32	FV	4x	FR	Lapalud	44°18'40.428"N, 4°41'3.840"E	45	vlhká rákosina, stanoviště slunné
16_37	FFE, FV	2x, 4x	FR	Gassin	43°13'28.776"N, 6°34'17.184"E	28	strmý břeh potoka lemovaného olšemi, stanoviště stinné
16_38	FV	4x	FR	Draguignam	43°32'54.060"N, 6°34'22.944"E	157	periodické koryto potoka v křovinách a přilehlém trávníku, písčitá půda
16_39	FFI	4x	FR	Saint-Laurent-du-Var	43°41'34.620"N, 7°11'6.144"E	25	vlhký příkop se stojící vodou, stanoviště slunné
16_40	FFI	4x	FR	Carros	43°46'29.064"N, 7°12'57.780"E	70	vlhké kanály podél silnice, stanoviště slunné
16_44	FV	4x	IT	Lesegno	44°24'55.872"N, 7°57'46.080"E	350	lužní les podél říčky, stanoviště stinné
16_45	FV	4x	IT	Varazze	44°23'5.244"N, 8°33'16.776"E	75	listnatý les při potoku, stanoviště stinné

16_47	FV	4x	IT	Mocones	44°24'43.344"N, 9°13'24.168"E	95	štěrkopísčitý náplav v lesíku podél potoka, stanoviště stinné
16_49	FV	4x	IT	Baverino Castello	44°12'12.132"N, 9°48'17.568"E	65	travnatý svah nad silnicí u vinice, stanoviště slunné
16_50	FFI	4x	IT	Massa	43°58'58.584"N, 10°8'14.352"E	0	olšo-topolový lesík ve vlhké sníženině, stanoviště stinné
16_56	FV	4x	IT	San Michele Al Tagliamento	45°46'10.776"N, 12°59'7.728"E	2	vlhký příkop při silnici, stanoviště slunné
16_59	FFI	4x, 5x	SI	Izola	45°32'24.432"N, 13°40'54.912"E	9	vlhký příkop u vinice, stanoviště slunné
16_66	FV	4x	AT	Deutschlandsberg	46°48'51.948"N, 15°14'0.060"E	346	lužní les při vlhké strouze
16_67	FV	4x	AT	Schillingsdorf	47°6'11.340"N, 15°33'50.328"E	519	olšový lesík ve svahu při vlhké strouze na okraji bučiny, stanoviště stinné
16_71	FV	4x	DE	Weilheim in Oberbayern	47°50'21"N, 11°11'43"E	620	křoviny okolo potoka
16_75	FC	2x	SK	Kamenín	47°52'46"N, 18°38'35"E	120	okraj silnice a přilehlá akátina
16_79	FV	4x	IT	Villanova Mondovi	44°20'42.7"N, 07°48'05.9"E	553	
16_82	FV	4x	CZ	Valeč	50°9'59.509"N, 13°13'49.082"E	590	příkopy podél silnice a přiléhající intenzivní pastvina skotu
16_86	FV	4x	CZ	Kaplice	48°44'17.478"N, 14°30'34.346"E	535	
16_88	FV	4x	RO	Cisnădie	45°40'12.7"N, 24°07'24.6"E	941	
16_89	FV	4x	FI	Salo	60°23'41.892"N, 23°4'31.082"E	16	jílovitá louka na východním břehu řeky
16_92	FV	4x	PL	Brzeźnica	49°58'03.8"N, 19°36'16.4"E	240	příkop při okraji listnatého lesa
16_93	FV	4x	SE	Kågeröd	55°59'47.983"N, 13°5'23.491"E	50	listnatý les
16_94	FV	4x	DK	Gentofte	55°45'0.000"N, 12°32'0.000"E	20	okolí pěšiny mezi Fiskebakken a východním břehem Gentofte So
16_95	FV	4x	PL	Radojewo	52°29'44.2"N, 16°57'19.7"E	113	mezofilní listnatý les na svahu, hlinitopísčitý substrát

16_97	FV	4x	LT	Kretkampis	55°2'9.000"N, 23°31'15.000"E	40	vegetace svazu Alnion incanae, podél potoka
16_99	FV	4x	LT	Vilnius	54°41'45.000"N, 25°18'25.000"E	120	městský park
17_01	FV	4x	DE	Bonn	50°42'39.776"N, 7°8'48.355"E	52	Freizeitpark Rheinaue, les
17_03	FV	4x	PL	Žmigród	51°28'50.135"N, 16°54'51.437"E	100	
17_08	FV	4x	GB	Bradford	53°50'10.462"N, 1°48'17.312"W	90	olšový les
17_12	FV	4x	LU	Noertzange	49°30'04.3"N, 6°03'14.2"E	278	břeh regulovaného potoka zarostlý stromy
17_15	FV	4x	FR	Saint-Aignan	49°38'46.5"N, 4°49'26.8"E	170	vlhká louka, podél potoka
17_19	FV	4x	BE	De Kolonie	51°15'50.8"N, 5°21'44.7"E	38	smíšený listnatý les (třešeň, lípa, olše), stanoviště stinné
17_22	FV	4x	NL	Egmond aan Zee	52°36'45.569"N, 4°37'30.832"E	10	vlhká deprese v dunách zarostlá stromy
17_24	FV	4x	NL	Wageningen	51°57'52.6"N, 5°41'15.1"E	20	smíšený listnatý les na svahu arboreta, stanoviště stinné
17_30	FV	4x	DE	Innenstadt-Weststadt	52°15'59.9"N, 8°00'35.2"E	74	trávník mezi chodníkem a křovinami ve městě, stanoviště polostinné
17_32	FV	4x	DE	Emmerthal	52°03'17.7"N, 9°22'03.9"E	73	smíšený listnatý lesík, stanoviště stinné
17_33	FV	4x	DE	Volpriehausen	51°39'34.8"N, 9°45'24.5"E		vlhké křoviny při louce
17_41	FC	2x	AT	Pyhra	48°35'34.5"N, 16°22'54.0"E	300	mez u silnice pod akátinou na okraji obce
17_45	FFI	4x	IT	Genzano di Roma	41°40'28.970"N, 12°43'48.424"E	255	
17_46	FV	4x	FR	Torcy	50°29'7.622"N, 2°1'19.224"E	100	
17_50	FS, FV	3x, 4x	HR	Gradec Pokupski	45°33'10"N, 15°51'28"E	105	
17_54	FV	4x	FR	La Perche	46°38'45.208"N, 2°34'27.600"E	175	zahrada v obci

17_55	FV	4x	DE	Konstanz	47°40'43"N, 09°09'36"E	400	
17_56	FFE	2x	FR	Lamothe	45°18'52.092"N, 3°25'32.343"E	450	
17_57	FFE	2x	FR	Le Pont de Lamothe	45°18'14.769"N, 3°24'18.070"E	420	
17_62	FCH	4x	GR	Topolia	35°25'41.993"N, 23°41'10.043"E	250	
17_64	FCH	5x	GR	Omalos	35°20'37.978"N, 23°54'16.325"E	1050	
17_69	FFE	2x	GB	Preston, Bamber Bridge	53°43'10.4"N, 2°39'35.3"W	50	hřbitov u kostela St. Saviour's
17_70	FV	4x	GB	Preston, Bamber Bridge	53°43'10.4"N, 2°39'35.3"W	50	hřbitov u kostela St. Saviour's
17_71	FFE	2x	FR	Maumusson	47°29'7.715"N, 1°6'46.315"W	50	rybník La Fontaine Aux Merles
17_73A	FFI	5x	HR	Vizinada	45°20'02.2"N, 13°45'34.5"E	255	vlhký příkop podél polní cesty
17_77	FC	2x	RS	Basaid	45°38'13.0"N, 20°24'2.6"E	84	trávník podél silnice a trávník zarůstající trnkami
17_80	FC	4x	RS	Strezovce	42°16'30.0"N, 21°44'35.0"E	507	travnatý svah s roztroušenými duby
17_80A	FV	4x	RS	Strezovce	42°16'32.7"N, 21°44'38.4"E	500	křoviny podél potoka, stanoviště stinné
17_81	FV	4x	MK	Katlanovo	41°52'54.9"N, 21°41'18.0"E	230	křoviny podél příkopu mezi poli
17_83	FFI	4x	GR	Lefkadia	40°39'51.4"N, 22°08'02.2"E	61	lužní les podél říčky, stanoviště stinné
17_84A	FFI	5x	GR	Neokesaria	40°15'43.5"N, 22°25'48.9"E	60	křoviny při úpatí svahu a při okraji pastviny, stanoviště stinné
17_85B	FC	4x, 5x	GR	Kato Milia	40°14'10.304"N, 22°19'43.294"E	190	řidký pastevní les podél potoka
17_90	FV	6x	GR	Karpenisi	38°56'16.923"N, 21°51'34.416"E	1507	vlhký trávník u napajedla a podél potůčku nad horní hranicí lesa
17_91	FV	6x	GR	Karpenisi	38°56'29.062"N, 21°45'30.176"E	1423	vlhký trávník při kraji smrkového lesa s jalovci

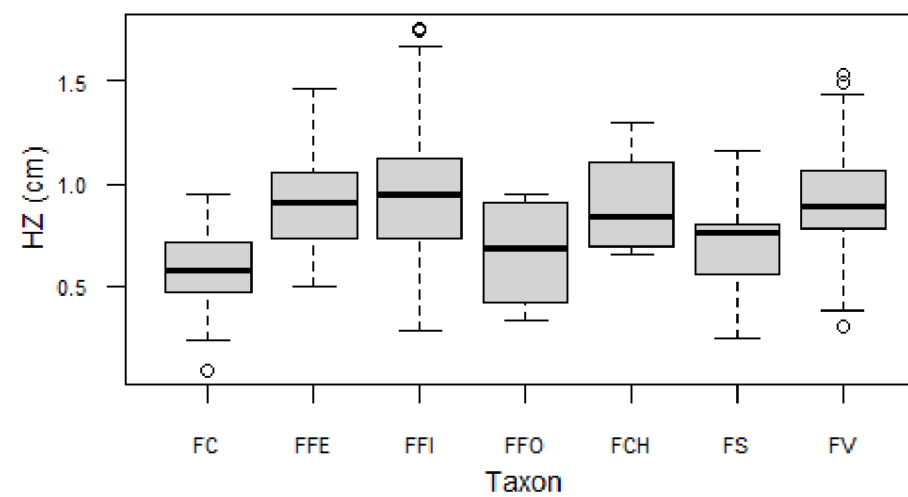
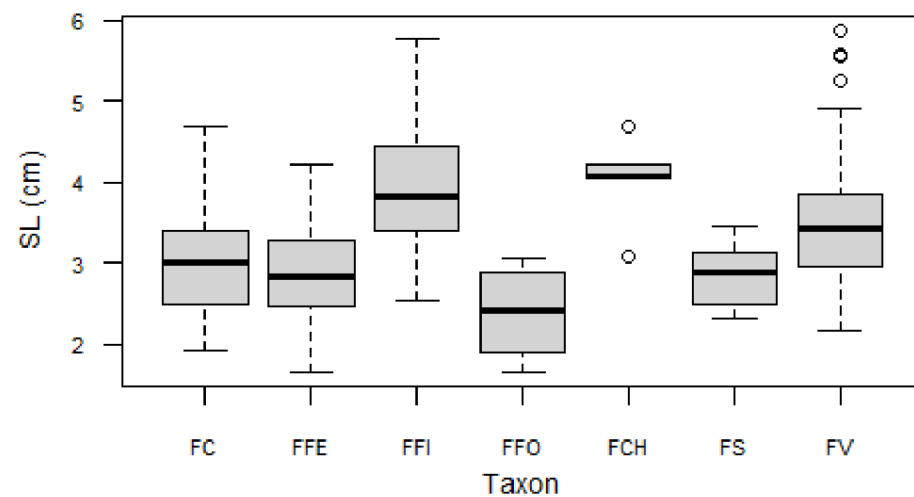
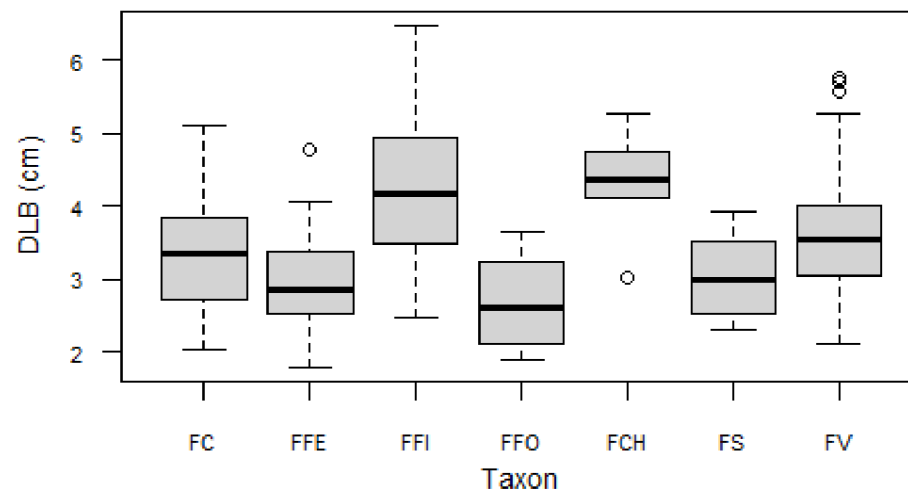
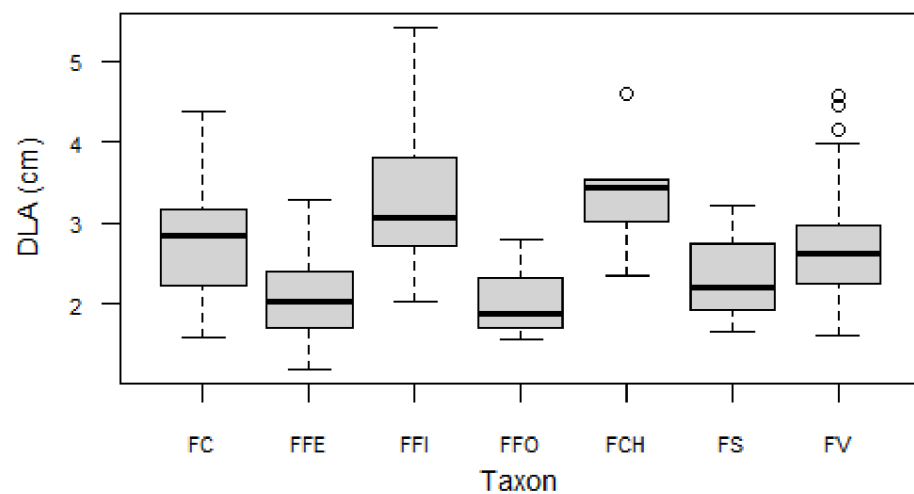
17_93	FFO	2x	GR	Kato Lousi	38°0'15.733"N, 22°11'46.393"E	1720	kamenitá vlhká místa u lyžařského střediska, stanoviště slunné
17_95	FFO	2x	GR	Kato Lousi	38°0'1'01.3"N, 22°12'58.3"E	1725	vlhká alpská louka, stanoviště slunné
17_98	FV	4x	GR	Stathmos Afidnon	38°10'38.712"N, 23°51'47.736"E	248	listnatý les podél vádí a louka s roztroušenými stromy
17_99	FV	2x, 4x, 5x	GR	Pyrgetos	39°54'26.100"N, 22°37'6.960"E	23	hlinitý břeh nad cestou v lese (lužní les), stanoviště stinné
17_100	FV	5x	GR	Neos Panteleimonas	40°0'23.364"N, 22°35'53.160"E	100	hlinitý břeh cesty na okraji křovin pod hradní zdí, stanoviště polostinné
17_101	FV	4x	MK	Demir Kapija	41°23'54.852"N, 22°18'38.628"E	8	lesík podél vádí, stanoviště polostinné
17_105	FV	4x	RO	Stoenesti	44°07'32.1"N, 24°30'27.7"E	74	lužní les, stanoviště stinné
17_106	FV	4x	RO	Bujoreni	44°06'52.7"N, 25°37'46.1"E	82	vlhká doubrava, stanoviště stinné
17_108	FFI	4x	BG	Provadia	43°08'51.5"N, 27°27'23.6"E	36	habřina na svahu
17_109	FFI	5x	BG	Venets	42°38'55.6"N, 26°51'27.2"E	195	listnatý les při potoku, stanoviště stinné
17_110	FFI	4x	BG	Chukarovo	42°09'38.9"N, 26°21'12.3"E	154	habrový les, podél říčky, stanoviště stinné
17_111	FV	4x	BG	Nadejden	41°53'49.2"N, 25°57'27.7"E	65	smíšený listnatý les, podél vyšlapané cesty
17_112	FV	4x	BG	Plovdiv	42°09'21.5"N, 24°45'55.3"E	160	ostrov ve městě – lužní les, podél pěšiny, stanoviště stinné
17_113	FV	4x	BG	Ustina	42°02'51.9"N, 24°31'38.6"E	246	trávník pod stromy podél silnice, stanoviště polostinné
17_114	FV	4x	BG	Petarch	42°49'55.637"N, 23°7'59.390"E	550	lužní les, stanoviště stinné
17_117	FV	5x	RS	Vrelo	43°22'19.920"N, 22°3'5.067"E	440	travnatá cesta a lesík podél potoka
17_118	FV	4x	RO	Svatá Helena	44°40'41.777"N, 21°42'43.383"E	310	listnatý les při okraji obce
17_119	FFE	2x	GB	North Dell	58°28'41.652"N, 6°18'25.941"W	20	při pobřeží, ostrov Lewis

17_120	FFE	2x	GB	Eorodal	58°28'22.730"N, 6°13'3.150"W	50	Sgiogarstaigh, údolí při pobřeží, ostrov Lewis
17_124	FV	4x	BE	Lustin	50°22'08.1"N, 04°54'13.7"E	190	příkop silnice Chemin d'Hestroy
17_125	FV	4x	UA	Khlibodarivka	46°23'40.320"N, 33°48'43.200"E	26	
18_03	FFE	2x	FR	Angers	47°28'49.6"N, 0°36'25.8"W	50	trávník v areálu Agrocampus Ouest v západní části města
18_04	FFE	2x	GB	Rottingdean	50°48'18.446"N, 0°3'47.376"W	35	pastvina
18_05	FFE	2x	GB	East Dean	50°45'29.812"N, 0°12'31.025"E	50	pastvina blízko středu obce
18_07	FC, FS	2x, 3x	DE	Fichtenberg	51°24'3.000"N, 13°14'55.300"E	100	svah náspu polní cesty mezi obcí a Labem
18_10	FV	4x	AT	Innsbruck-Thaur	47°18'05.4"N, 11°28'03.4"E	790	listnatý les okolo St. Romedikapelle
18_12	FV	4x	UA	Svaliavka	48°40'31.9"N, 22°48'38.4"E	280	příkop silnice z obce do Poroshkovo
18_14	FC	2x	HU	Parád	47°55'32.000"N, 20°3'28.000"E	223	silniční příkop v centru obce
18_19	FC	2x	BA	Šuica	43°49'9.780"N, 17°10'13.740"E	1090	les
18_22	FV	4x	UA	Myhiia	48°00'31.6"N, 30°59'11.8"E	77	národní park Bugski Guard
18_24	FV	4x	UA	Arkhangelske	47°27'15.3"N, 33°24'09.2"E	50	les
19_01	FV	4x	RO	Bârzava	46°06'29.05"N, 21°57'02.80"E	150	lesní lem
19_03	FV	4x	RO	Greci	45°10'19.467"N, 28°16'38.562"E	117	řídke křoviny v údolí potoka
19_07	FC	2x	PL	Koniusza	50°11'26.200"N, 20°12'57.700"E	340	transekt od příkopu u silnice u kostela v obci po okraj lesa asi 500 m SZ od kostela v obci, podél cyklostezky
19_10	FFI	4x	PT	Sangueiro	39°57'04.6"N, 8°34'55.8"W	110	břeh potoka
19_11	FFI	4x	PT	Pombal-Vale	339°53'47.6"N, 8°34'16.8"W	190	lesík

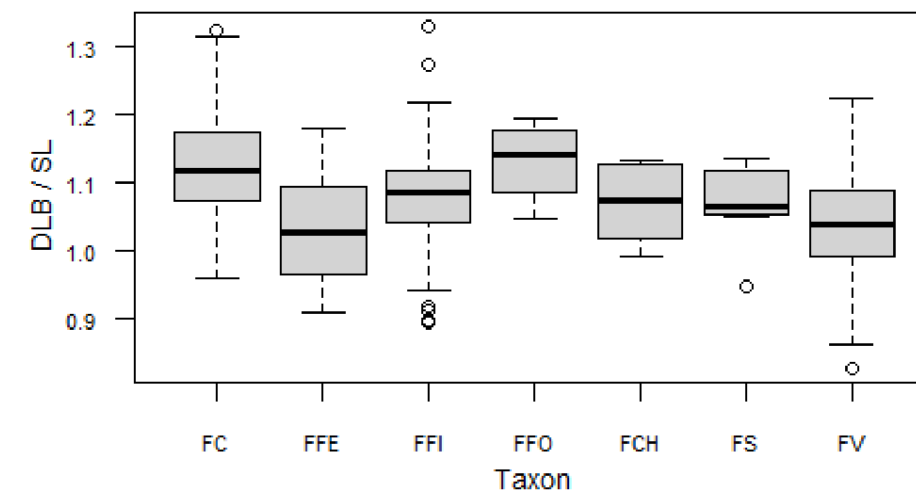
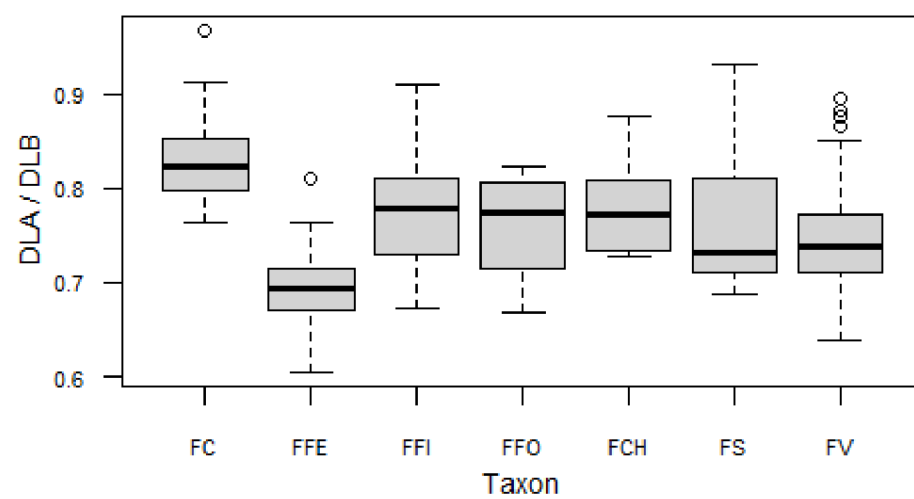
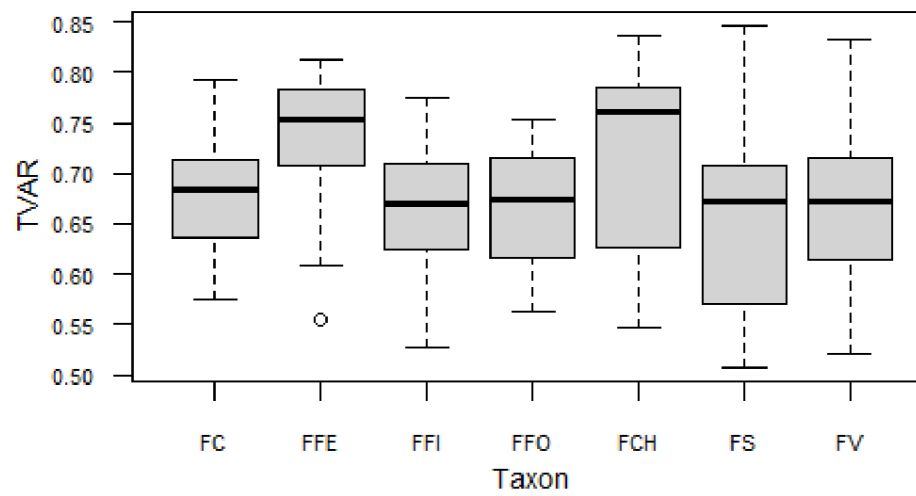
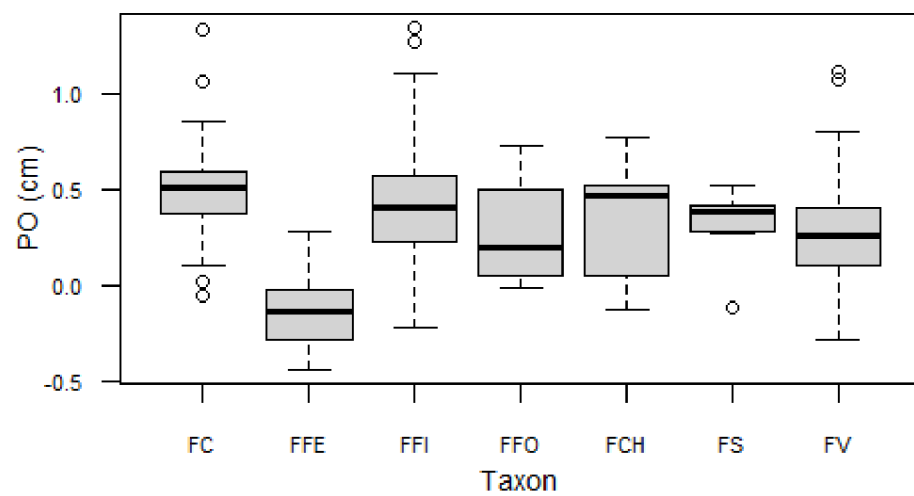
19_12	FFI	4x	PT	Castelo	39°53'19.5"N, 8°33'44.4"W	230	travní porost podél polní cesty
19_15	FV	4x	HR	Podgarič	45°38'25.000"N, 16°45'45.000"E	200	křoviny v blízkosti potoka
19_18	FV	4x	IT	Majano	46°12'2.100"N, 13°4'56.300"E	160	příkop silnice a okraj remízku při silnici
19_26	FFI	4x, 5x	IT	Serravale a Po	45°4'31.996"N, 11°6'42.225"E	19	trávník na úpatí protipovodňového valu
19_30	FFI, FV	5x, 4x	IT	Calvatone	45°7'22.950"N, 10°26'39.947"E	27	aluviální louka, okraj zavodňovacích kanálů a sešlapávaná cestička pod silnicí poblíž hřbitova
19_34	FV	4x	DE	Urloffen	48°33'38.000"N, 7°56'40.000"E	150	křoviny u potoka, vlhké stanoviště
19_35	FV	4x	GB	Whalley	53°49'14.0"N, 2°24'46.2"W	50	Whalley Abbey – plošina nad ruinami opatství a řekou Calder
19_36	FFE	2x	GB	Pendleton	53°51'5.837"N, 2°22'6.172"W	140	hřbitov
19_38	FV	4x	HR	Baške Oštarije	44°32'19.194"N, 15°9'40.860"E	971	Stupačinovo, bukový les a přilehlá pastvina/louka
19_41	FV	4x	RU	Moscow	55°39'54.317"N, 37°40'2.244"E	150	městský park Kolomenskoe
19_47	FCH	5x	GR	Epanochori (Kréta)	35°19'35.600"N, 23°50'20.664"E	590	úzká niva potoka, vlhké stanoviště stíněné vrbami
19_50	FV	4x	DK	Moensted	56°27'20.000"N, 9°9'56.000"E	50	křoviny podél potoka
19_51	FV	4x	DK	Katbjerg	56°38'50.478"N, 9°54'17.780"E	10	vlhké křoviny podél louky/pastviny blízko fjordu Mariager Fjord
19_54	FV	4x	NO	Gråbakkan	63°19'27.0"N, 10°02'25.1"E	135	příkop silnice ve středu obce
19_55	FC	2x	GE	Kojori	41°39'27.06"N, 44°42'6.52"E	1333	zahrádka v obci
19_56	FV	2x	RU	Serpukhov	54°54'21.5"N, 37°25'58.2"E	150	Ulitsa Lermónova, zahrada
19_57	FV	4x	NO	Oslo	59°55'3.414"N, 10°46'17.886"E	50	botanická zahrada v centru města
19_58	FV	4x	DK	Ronde	56°17'55.892"N, 10°29'59.680"E	79	Karlsø, park

19_59	FV	4x	DK	Ronde	56°16'57.929"N, 10°28'50.304"E	1	Grevens Skanse, trávnik, podél mořského pobřeží
19_60	FV	4x	DK	Ebeltoft	56°13'34.957"N, 10°34'27.869"E	50	remíz kolem cesty u osady Strandkaer
19_61	FV	4x	RU	Serpukhov	54°55'19.988"N, 37°23'7.433"E	120	travní porost v nivě řeky
20_02	FFE	2x	ES	Regoufe	42°48'06.8"N, 8°36'00.1"W	210	listnatý les
20_04	FV	4x	BG	Sliven	42°42'38.33"N, 26°18'26.49"E	550	okraj lesa

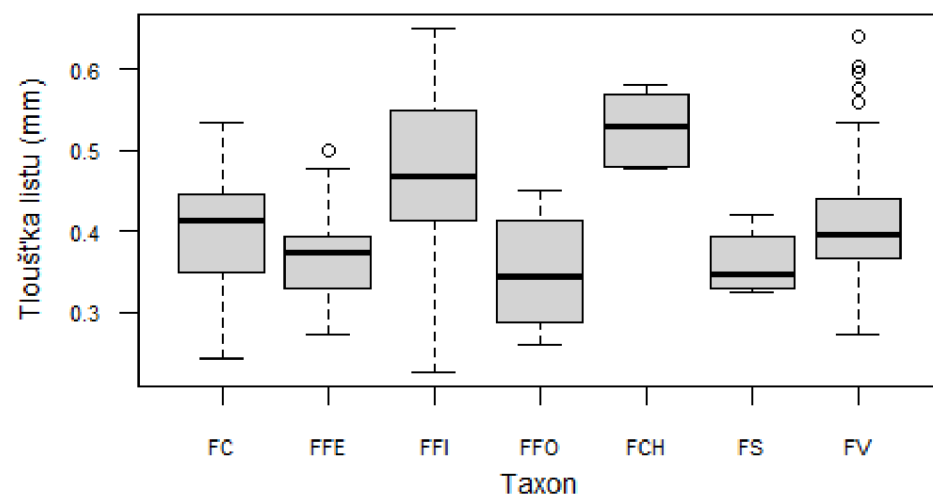
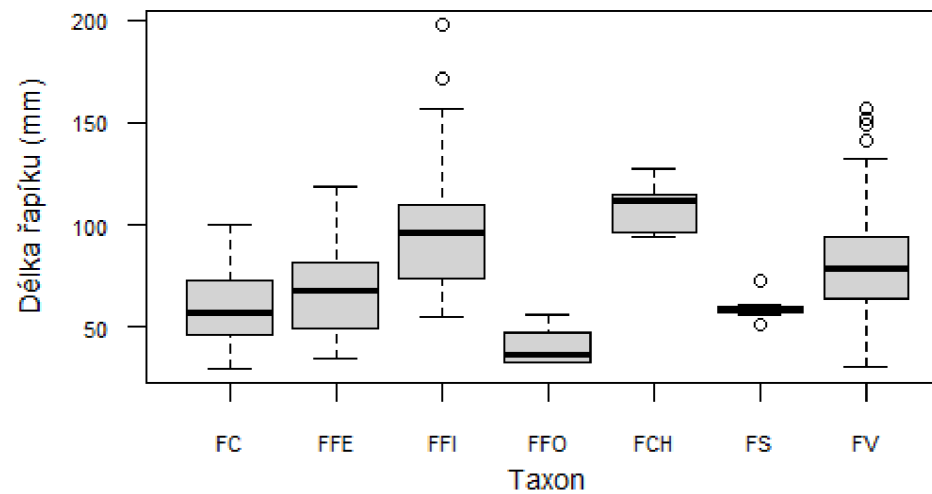
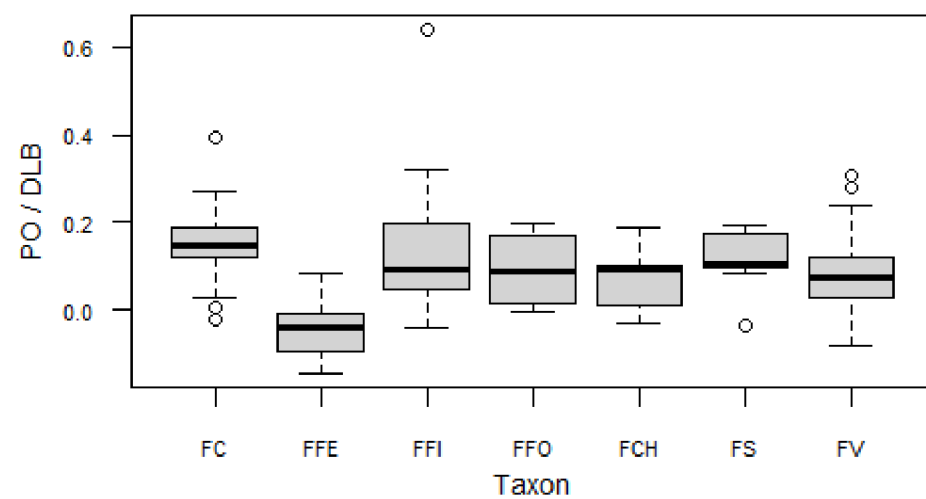
Příloha 2: Krabičkové diagramy znázorňující variabilitu ve znacích hodnocených na odebraných listech. Zkratky morfologických znaků jsou vysvětleny v tabulce 9 a na obrázku 2. FC – *Ficaria verna* subsp. *calthifolia*, FFE – *F. v.* subsp. *fertilis*, FFI – *F. v.* subsp. *ficariiformis*, FFO – *F. v.* subsp. *ficarioides*, FCH – *F. v.* subsp. *chrysocephala*, FS – *F. ×sellii*, FV – *F. v.* subsp. *verna*.



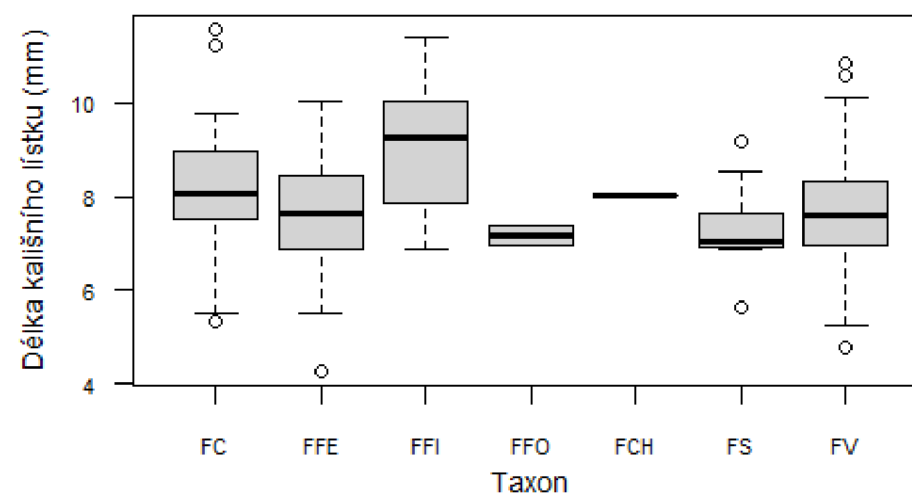
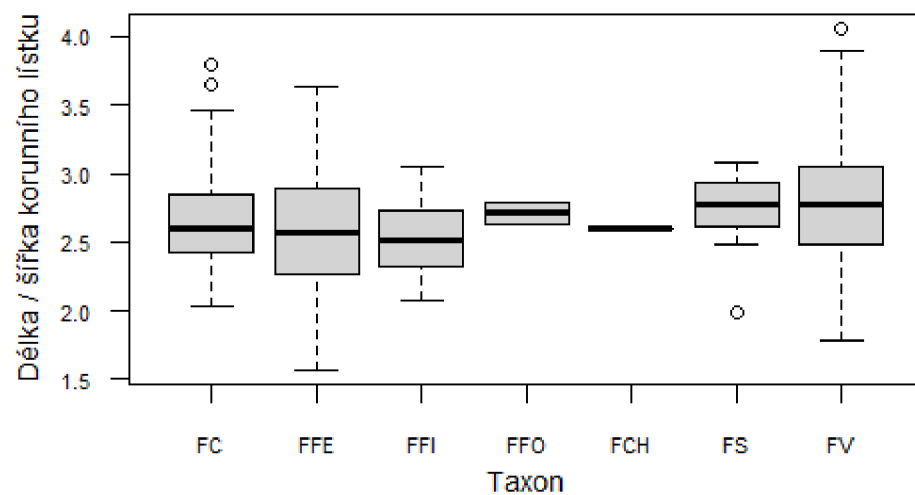
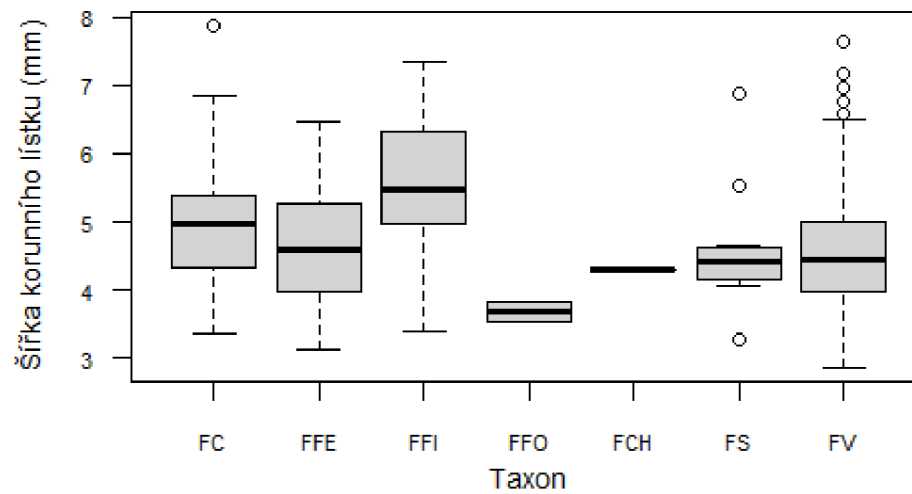
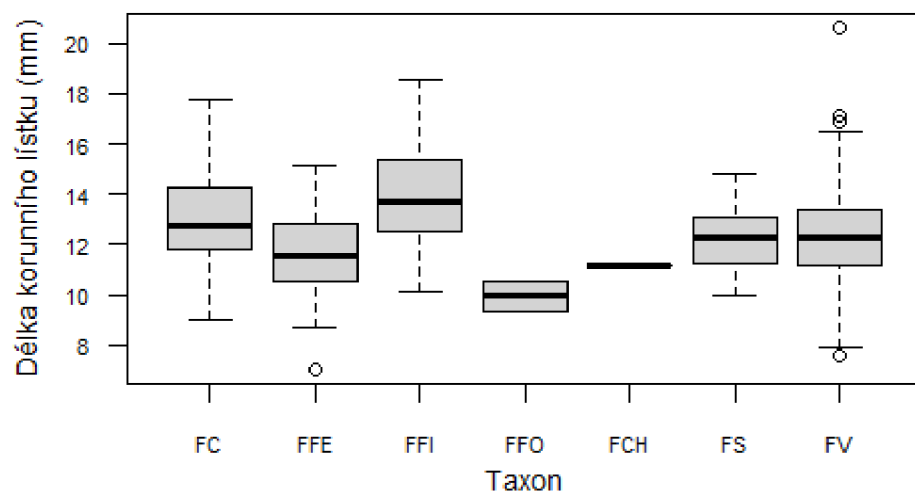
Příloha 2 – pokračování.



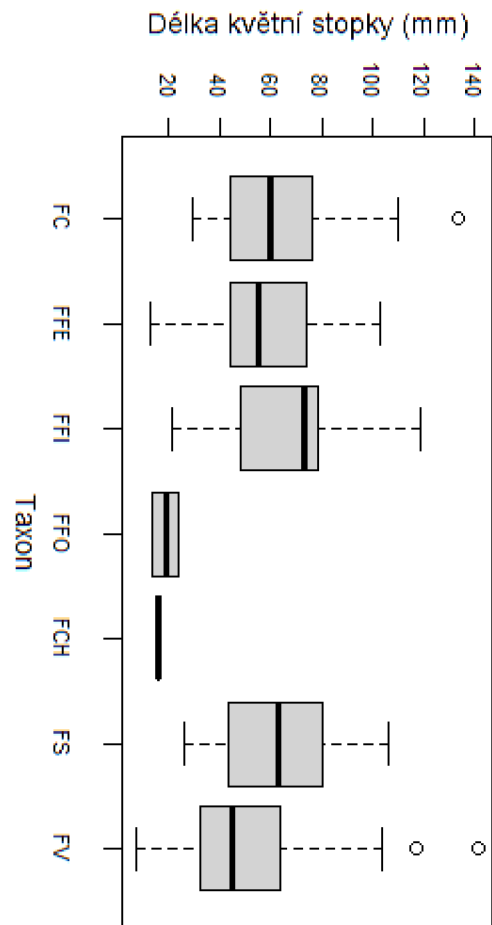
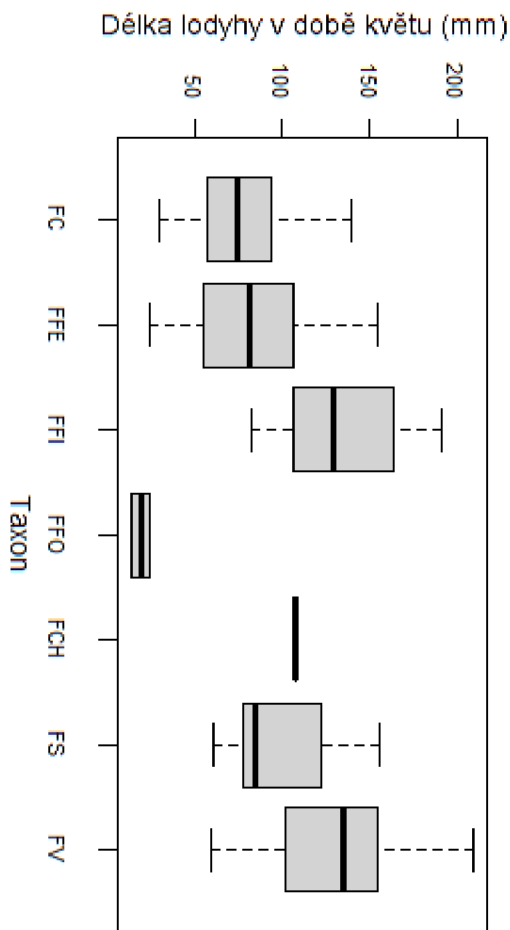
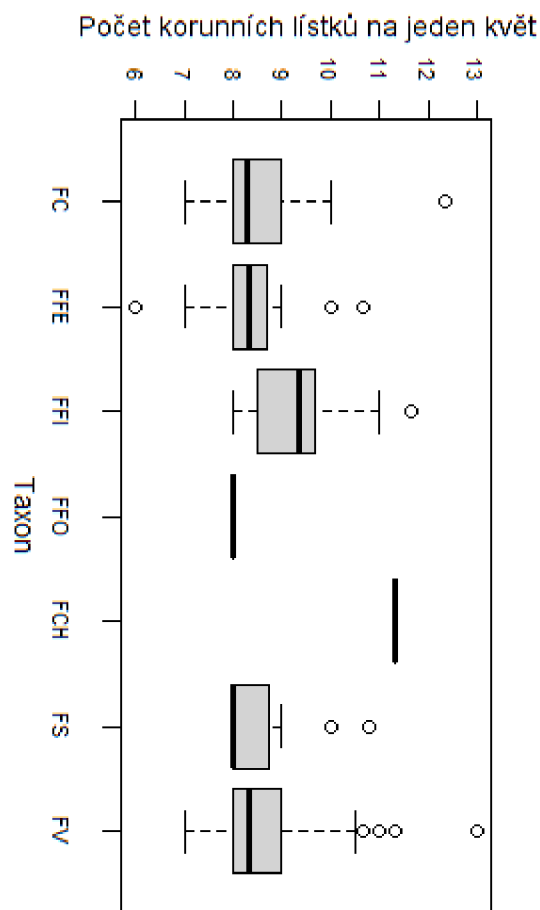
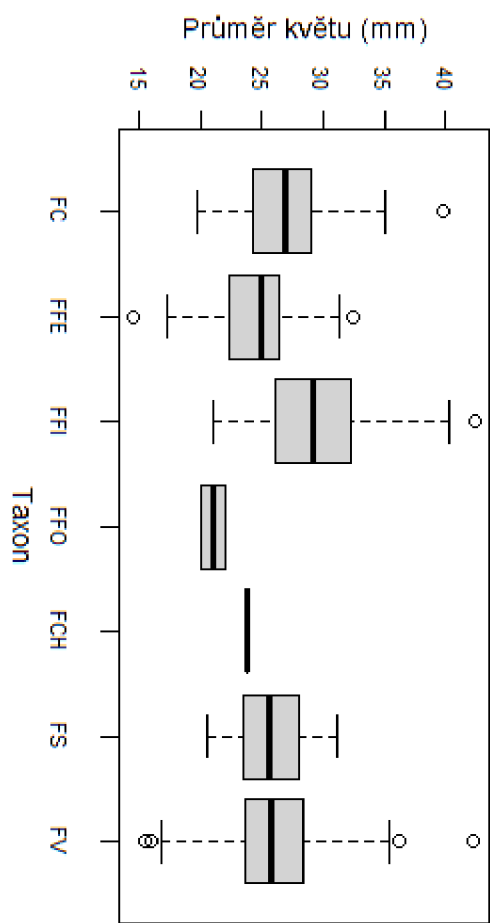
Příloha 2 – pokračování.



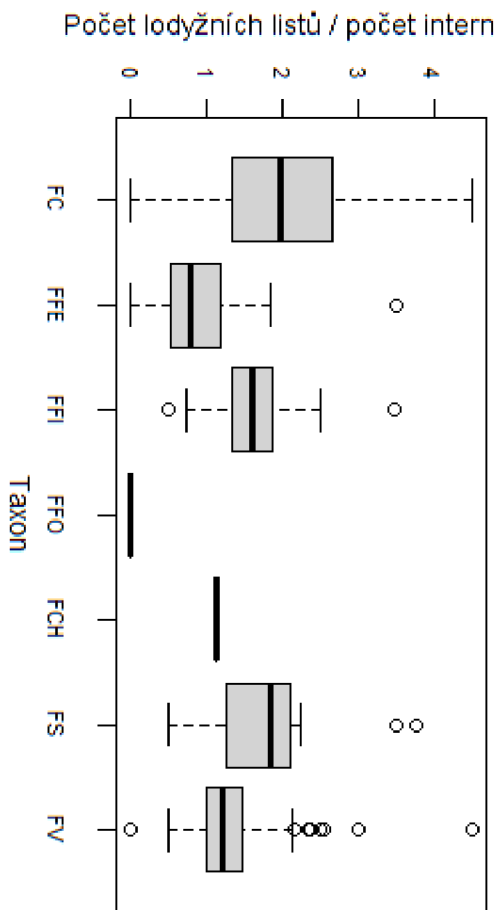
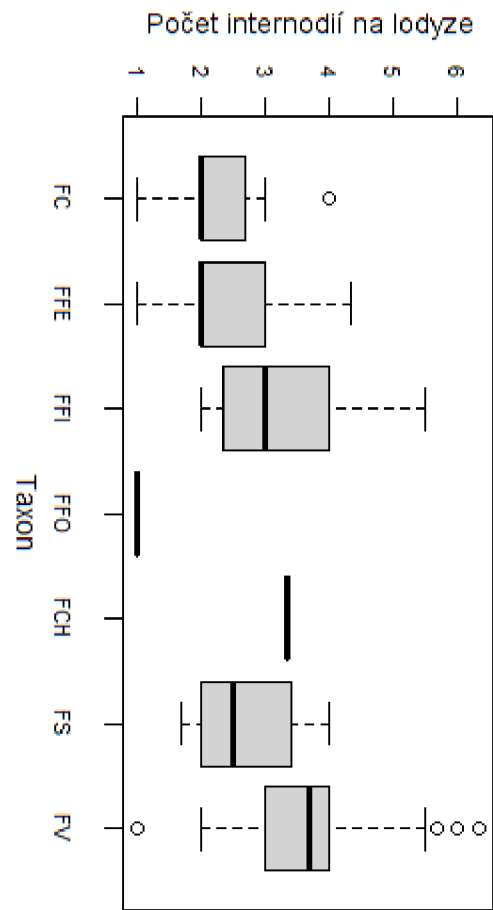
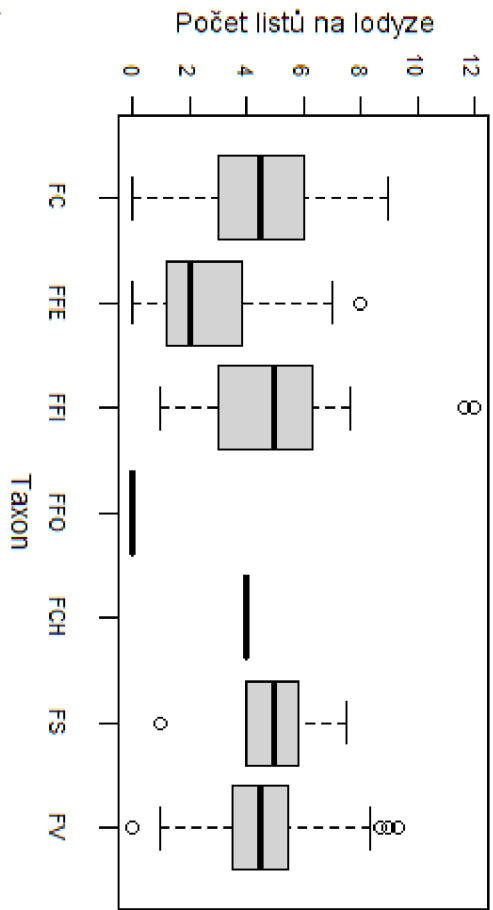
Příloha 3: Krabičkové diagramy znázorňující variabilitu ve znacích hodnocených v době květu. FC – *Ficaria verna* subsp. *calthifolia*, FFE – *F. v.* subsp. *fertilis*, FFI – *F. v.* subsp. *ficariiformis*, FFO – *F. v.* subsp. *ficarioides*, FCH – *F. v.* subsp. *chrysocephala*, FS – *F. ×sellii*, FV – *F. v.* subsp. *verna*.



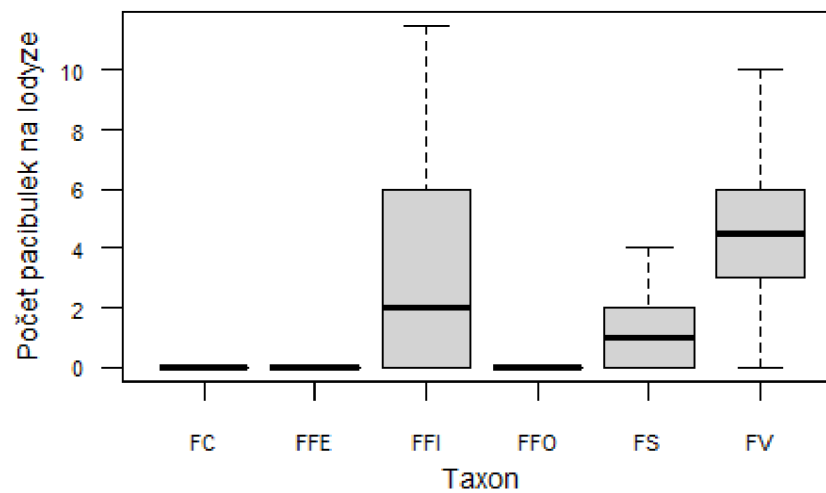
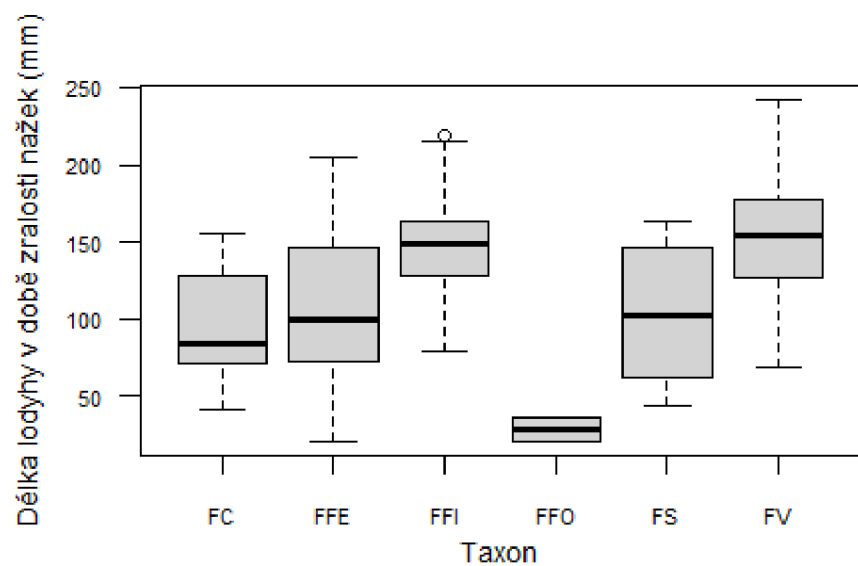
Příloha 3 – pokračování.



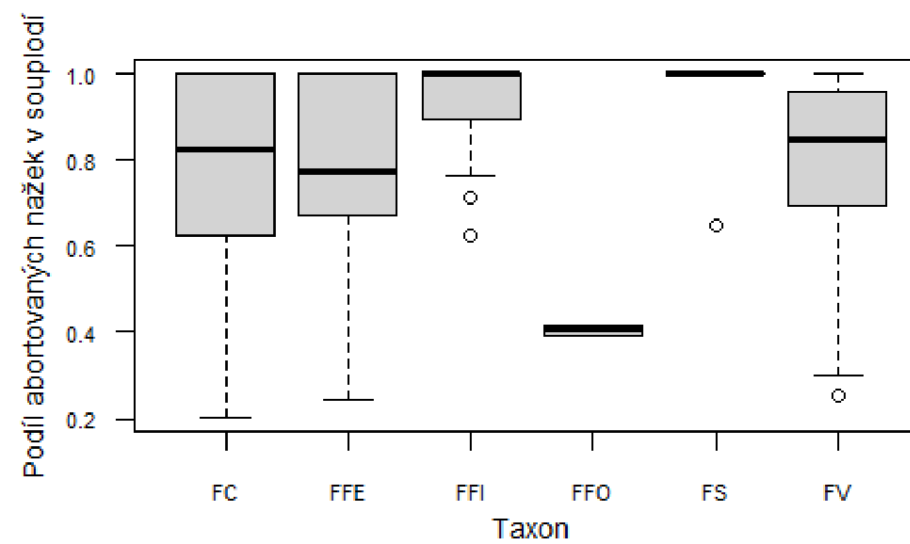
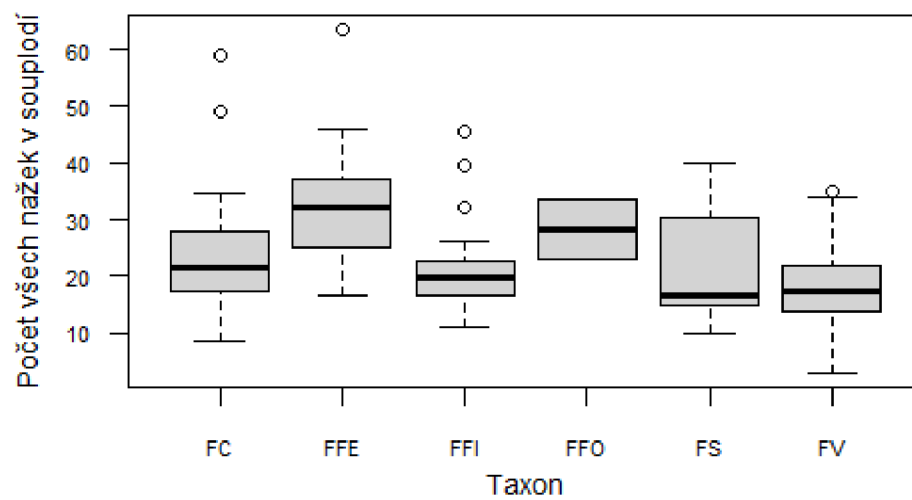
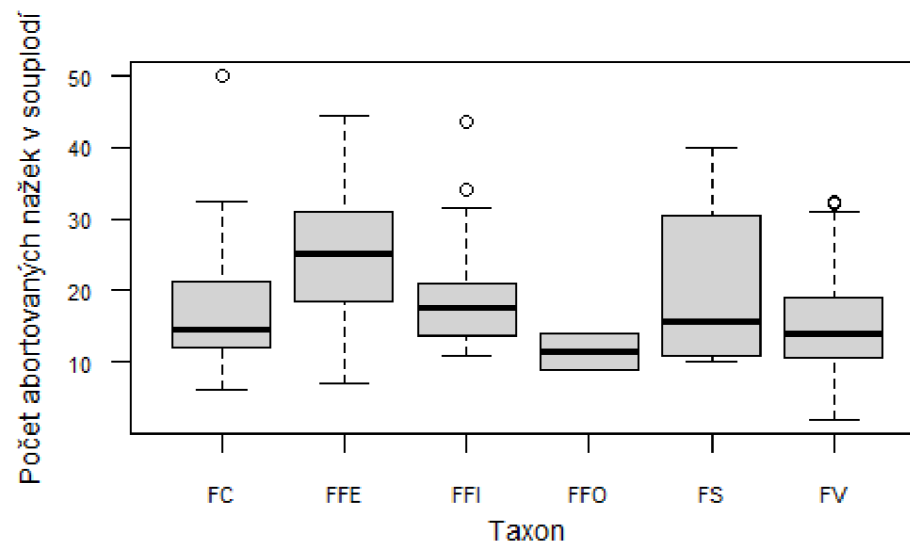
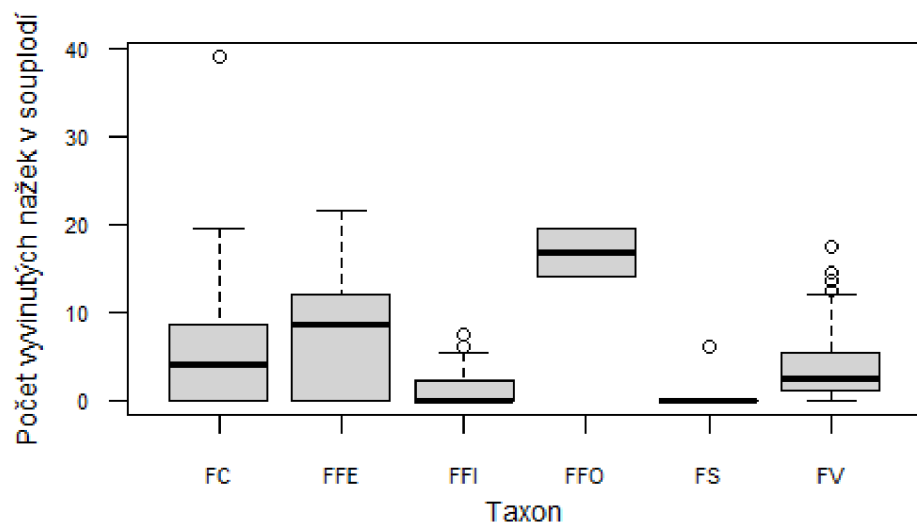
Příloha 3 – pokračování.



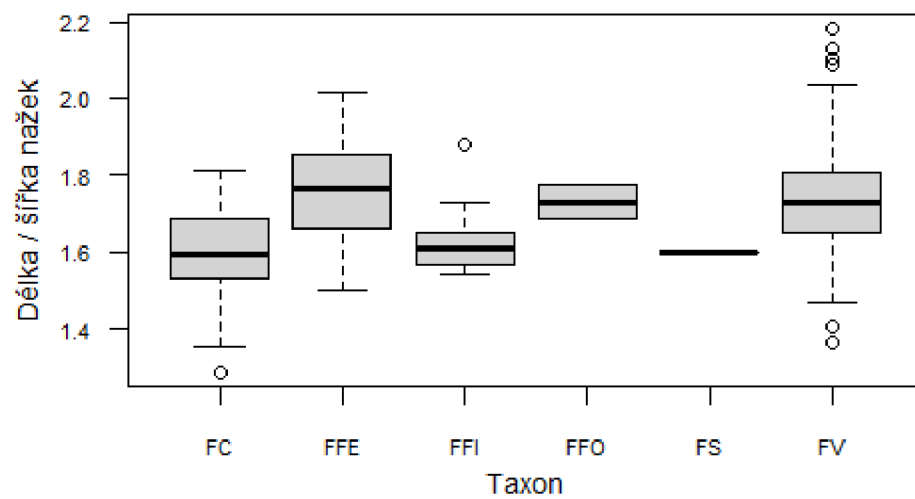
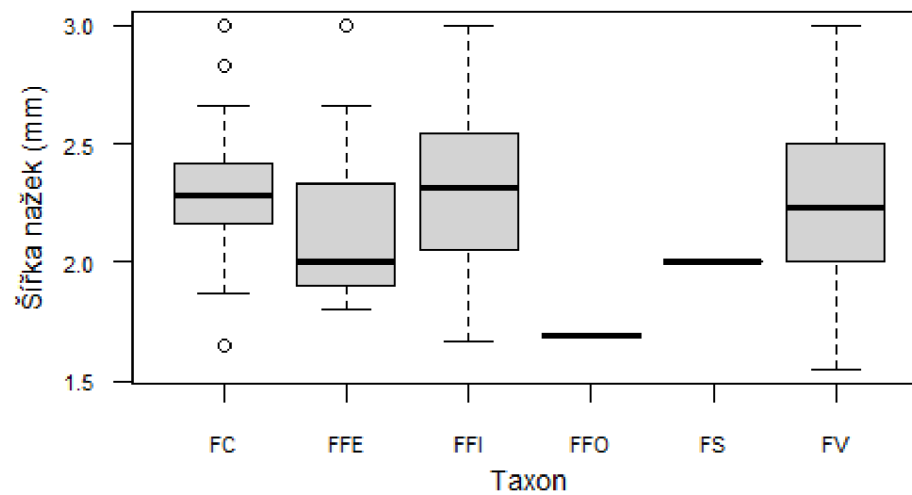
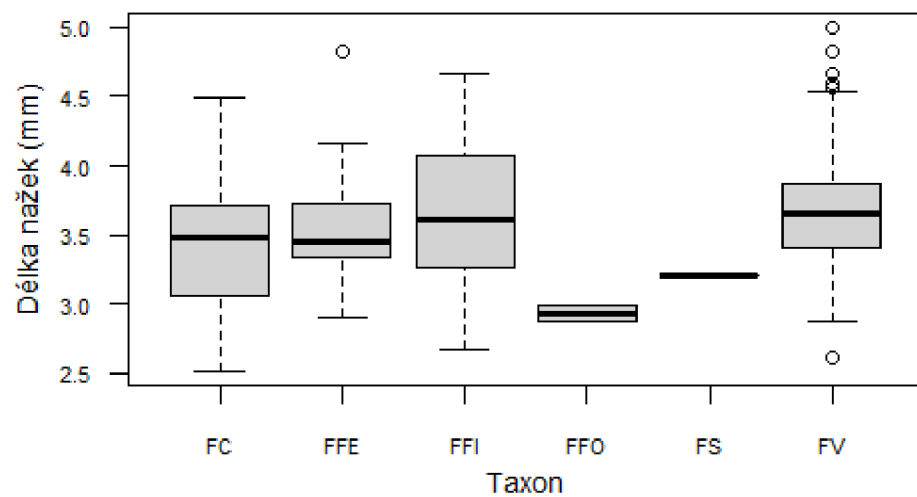
Příloha 4: Krabičkové diagramy znázorňující variabilitu ve znacích hodnocených v době zralosti nažek. FC – *Ficaria verna* subsp. *calthifolia*, FFE – *F. v.* subsp. *fertilis*, FFI – *F. v.* subsp. *ficariiformis*, FFO – *F. v.* subsp. *ficarioides*, FS – *F. ×sellii*, FV – *F. v.* subsp. *verna*.



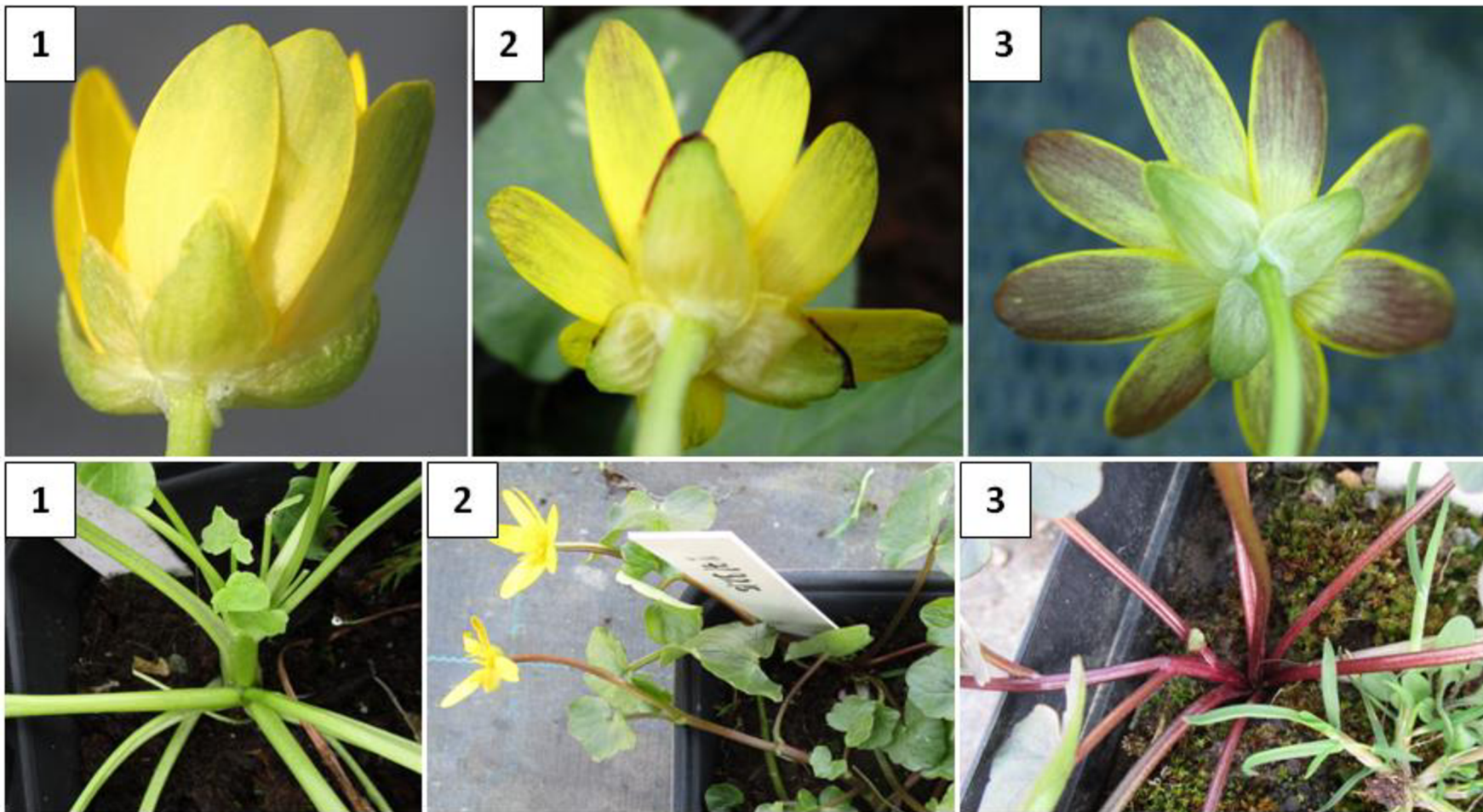
Příloha 5: Krabičkové diagramy znázorňující variabilitu ve znacích hodnocených na nážkách. FC – *Ficaria verna* subsp. *calthifolia*, FFE – *F. v.* subsp. *fertilis*, FFI – *F. v.* subsp. *ficariiformis*, FFO – *F. v.* subsp. *ficarioides*, FS – *F. ×sellii*, FV – *F. v.* subsp. *verna*.



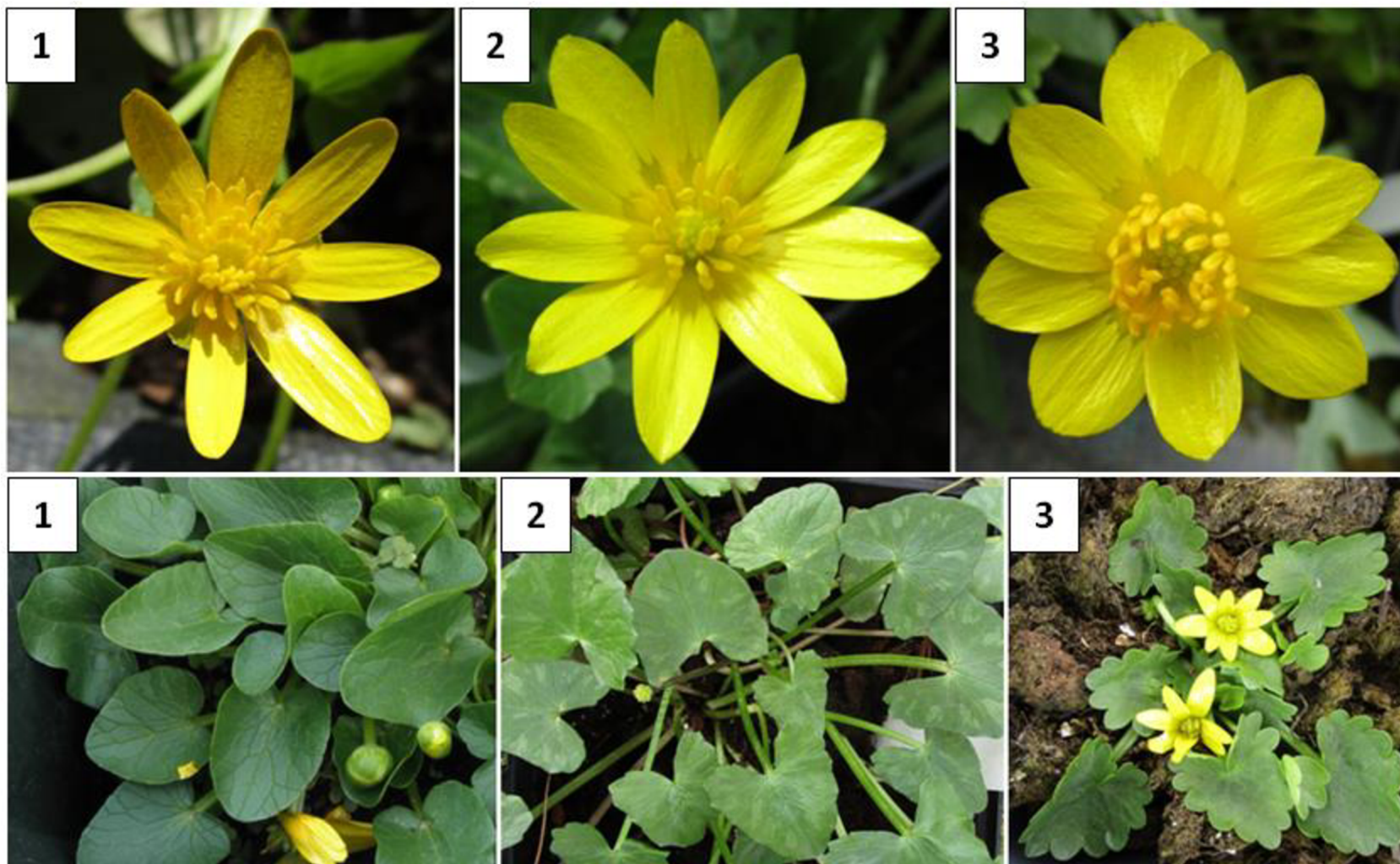
Příloha 5 – pokračování.



Příloha 6: Klasifikace zbarvení korunních lístků anthokyany (nahore) a zbarvení lodyhy a řapíků anthokyany (dole). Zbarvení korunních lístků anthokyany: 1 – abaxiální strana lístků bez zbarvení dořialova (17_109, *ficariiformis* 5x); 2 – abaxiální strana lístků slabě zbarvena dořialova (16_89, *verna* 4x); 3 – abaxiální strana lístků výrazně řialová (17_71, *fertilis* 2x). Zbarvení lodyhy a řapíků anthokyany: 1 – lodyhy a řapíky řialené (15_37, *calthifolia* 2x); 2 – lodyhy a řapíky slabě zbarveny dořialova (17_32, *verna* 4x); 3 – lodyhy a řapíky výrazně řialové (19_56, *verna* 2x). Foto: M. Konečná (1 nahore), M. Duchoslav (3 nahore), J. Uhlířová (ostatní).



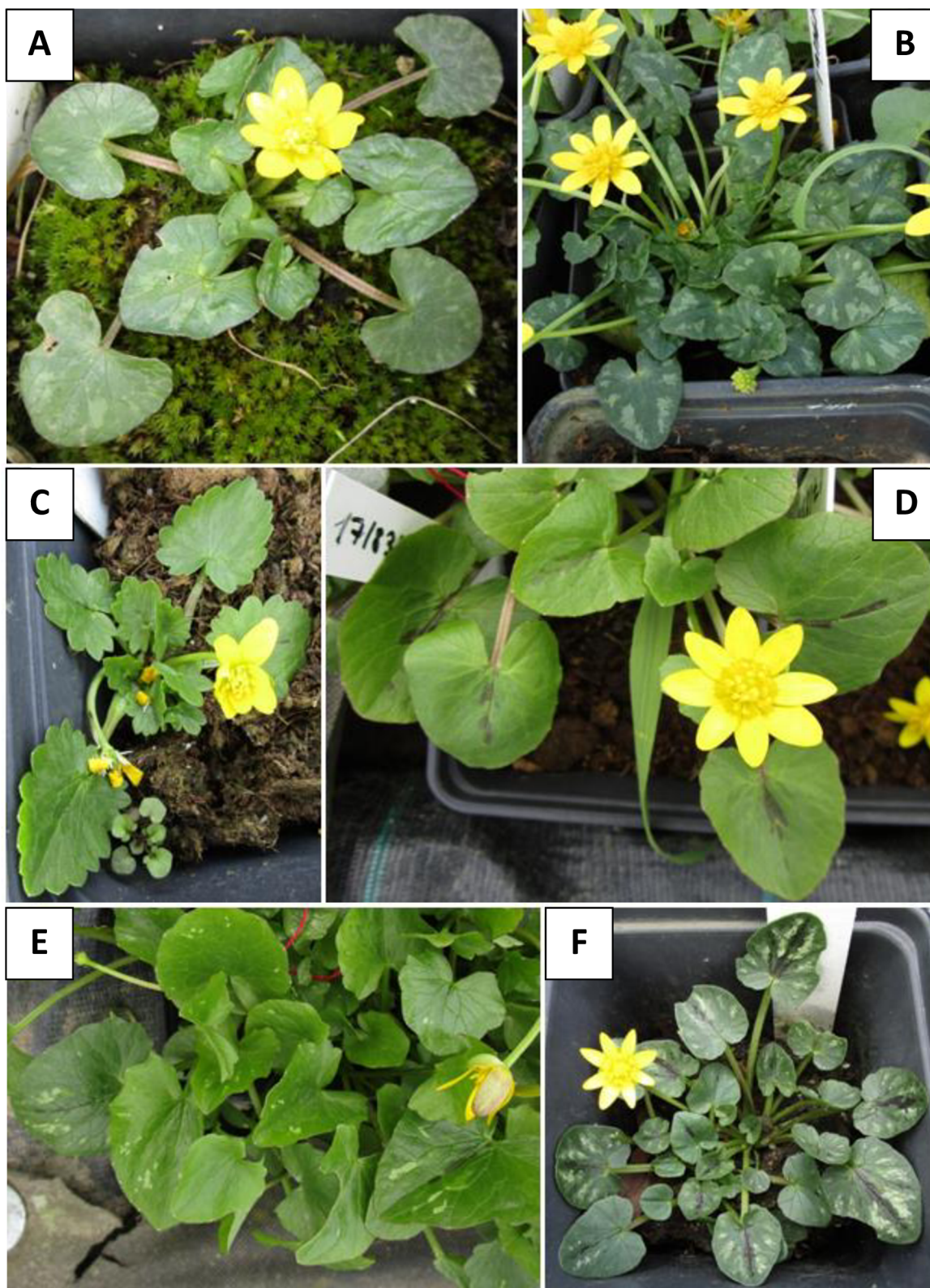
Příloha 7: Klasifikace překrytí korunních lístků (nahore) a okraje listů (dole). Překrytí korunních lístků: 1 – nepřekrývají se (20_02, *fertilis* 2x); 2 – některé se překrývají (15_31, *verna* 4x); 3 – překrývají se (17_100, *verna* 5x). Okraj listů: 1 – celokrajný (15_41, *calthifolia* 2x); 2 – mělce vroubkovaný nebo zubatý (16_30, *fertilis* 2x); 3 – výrazně vroubkovaný nebo zubatý (17_95, *ficarioides* 2x). Foto: J. Uhlířová.



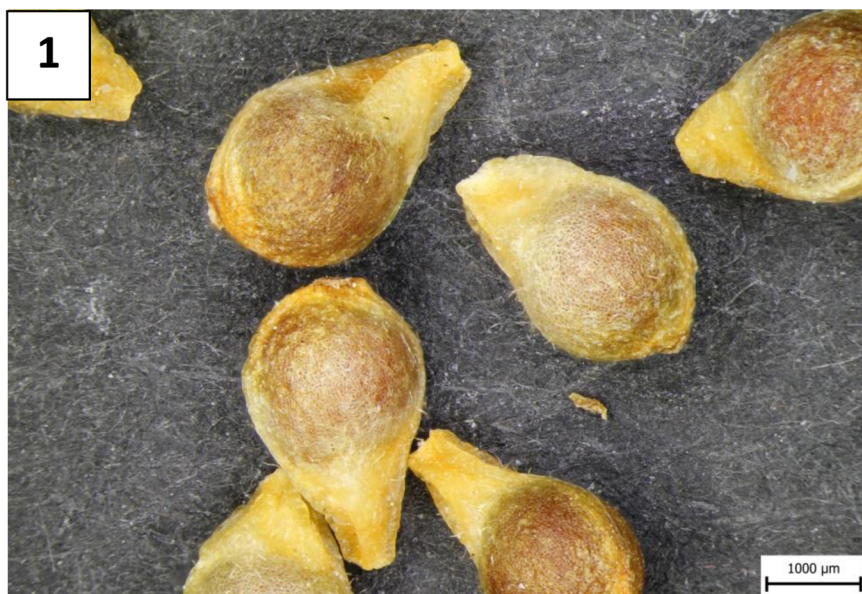
Příloha 8: Klasifikace charakteru růstu. 1 – poléhavá lodyha (20_02, *fertilis* 2x); 2 – vystoupavá lodyha (16_95, *verna* 4x); 3 – vzpřímená lodyha (16_35, *verna* 4x). Foto: J. Uhlířová.



Příloha 9: Klasifikace skvrnitosti listů. A – málo skvrnité listy (kategorie 2 pro znak skvrnitost listů) se světlými skvrnami (kategorie Sv pro znak skvrnitost listů – barva), 18_03, *fertilis* 2x; B – hodně skvrnité listy (kategorie 3 pro znak skvrnitost listů) se světlými skvrnami (kategorie Sv pro znak skvrnitost listů – barva), 19_36, *fertilis* 2x; C – málo skvrnité listy (kategorie 2 pro znak skvrnitost listů) s tmavými skvrnami (kategorie Tm pro znak skvrnitost listů – barva), 17_93, *ficarioides* 2x; D – hodně skvrnité listy (kategorie 3 pro znak skvrnitost listů) s tmavými skvrnami (kategorie Tm pro znak skvrnitost listů – barva), 17_83, *ficariiformis* 5x; E – málo skvrnité listy (kategorie 2 pro znak skvrnitost listů) se světlými i tmavými skvrnami (kategorie TmSv pro znak skvrnitost listů – barva), 17_83, *ficariiformis* 4x; F – hodně skvrnité skvrnité listy (kategorie 3 pro znak skvrnitost listů) se světlými i tmavými skvrnami (kategorie TmSv pro znak skvrnitost listů – barva), 18_19, *calthifolia* 2x. Foto: J. Uhlířová.



Příloha 10: Klasifikace velikosti zobánku (na načkách). 1 – bez zobánku (17_119, *fertilis* 2x); 2 – nevýrazný zobánek (16_40, *ficariiformis* 4x); 3 – nápadný zobánek (16_99, *verna* 4x). Délka úsečky odpovídá 1000 μ m. Foto: J. Uhlířová.



Příloha 11: Klasifikace chlupatosti nažek. 1 – řídce chlupaté (15_37, *calthifolia* 2x); 2 – hustě chlupaté (16_92, *verna* 4x); 3 – velmi hustě chlupaté (17_111, *verna* 4x). Délka úsečky odpovídá 500 μm . Foto: J. Uhlířová.



Příloha 12: Ukázka přeslenu listů na lodyze. A – nezřetelně vyvinutý přeslen (19_11, *ficariiformis* 4x); B – zřetelně vyvinutý přeslen (18_07, *calthifolia* 2x). Foto: M. Duchoslav.



Příloha 13: Studované poddruhy orseje jarního. A – *Ficaria verna* subsp. *calthifolia*; B – *F. v.* subsp. *fertilis*; C – *F. v.* subsp. *ficariiformis*; D – *F. v.* subsp. *ficarioides*; E – *F. v.* subsp. *chrysocephala*; F – *F. v.* subsp. *verna*. Foto: M. Duchoslav (A, C, F), M. Konečná (B, E), O. Popelka (D).

