



Fakulta zemědělská
a technologická
Faculty of Agriculture
and Technology

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH FAKULTA ZEMĚDĚLSKÁ A TECHNOLOGICKÁ

Katedra biologických disciplín

Diplomová práce

Možnosti pohlavního a nepohlavního rozmnožování kriticky ohroženého
žabníčku vzplývavého (*Luronium natans*) v ex-situ podmínkách

Autorka práce: Bc. Hodková Michaela

Vedoucí práce: doc. RNDr. Navrátil Josef, Ph.D.

Konzultant práce: Mgr. Navrátilová Jana, Ph.D.

České Budějovice
2022

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Zemědělská fakulta

Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Michaela HODKOVÁ**
Osobní číslo: **Z20451**
Studijní program: **N4101 Zemědělské inženýrství**
Studijní obor: **Agroekologie – Péče o krajinu**
Téma práce: **Možnosti pohlavního a nepohlavního rozmnožování kriticky ohroženého žabníčku vzplývavého (*Luronium natans*) v ex-situ podmínkách**
Zadávající katedra: **Katedra biologických disciplin**

Zásady pro vypracování

Cílem diplomové práce je posouzení možnosti získání nových rostlin žabníčku vzplývavého (*Luronium natans*) ze semen a vegetativní cestou. Posouzeny budou způsoby uchování a způsoby výsevu pro klíčení rostlin ze semen v experimentálních podmínkách a možnosti vegetativního rozmnožování z lodyh. Semena i rostliny budou poskytnuty z genové banky Sbírký vodních a mokřadních rostlin BÚ AV ČR, v.v.i., Třeboň a práce bude vypracována ve spolupráci s ústavem. Primární data k naplnění cílů práce budou tedy získána vlastním experimentem a tato data budou statisticky vyhodnocena.

Obsah práce:

Rešeršní zpracování biologie a ekologie žabníčku vzplývavého (*Luronium natans*).

Metodika experimentů.

Výsledky experimentů s přehledem zjištěných výsledků a jejich vyhodnocení.

Rozsah pracovní zprávy: **40**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Chmara, R., Rekowski, E. (2020): Nowe stanowiska *Luronium natans* (Alismataceae) w Polsce. *Fragmenta Floristica et Geobotanica Polonica*, 27(2), pp. 727-731.

Cox, K., Leyssen, A., Mergeay, J., Ronse, A., Packet, J., Denys, L. (2014): Genetic assessment of *Luronium natans* in lower Belgium. Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek.

Nielsen, U., Riis, T., Brix, H. (2006): The effect of weed cutting on *Luronium natans*. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 16, pp. 409-417.

Nielsen, U., Riis, T., Brix, H. (2006): The importance of vegetative and sexual dispersal of *Luronium natans*. *Aquatic Botany*, 84, pp. 165-170.

Romero, M., Rubinos, M., Ramil-Rego, P. (2004): *Luronium natans*, a rare species in the Iberian Peninsula. *Belgian Journal of Botany*, 137, pp. 85-90.

Vedoucí diplomové práce: **doc. RNDr. Josef Navrátil, Ph.D.**
Katedra biologických disciplin

Konzultant diplomové práce: **Mgr. Jana Navrátilová, Ph.D.**
Katedra biologických disciplin

Datum zadání diplomové práce: **26. března 2021**

Termín odevzdání diplomové práce: **15. dubna 2022**

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA**
studijní oddělení
Studentůská 1808, 370 05 České Budějovice


doc. RNDr. Petr Bartoš, Ph.D.
děkan


doc. Mgr. Michal Berec, Ph.D.
vedoucí katedry

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem autorem této kvalifikační práce a že jsem ji vypracovala pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu použitých zdrojů.

V Českých Budějovicích dne

.....
Podpis

Abstrakt

Tato diplomová práce se zabývá problematikou pohlavního a nepohlavního rozmnožování kriticky ohroženého žabníčku vzplývavého (*Luronium natans*) v ex-situ podmínkách. Začátek práce je věnován popisu druhu, jeho rozšíření v České republice, popisu možností rozmnožování (vegetativní či generativní cestou) a také jeho ochraně. Následující část práce se zabývá vlastním experimentem, který je zaměřen na uchování semen a pěstování rostlin v souvislosti s přezimováním v exteriéru. Takto získaná data jsou následně podrobena analýze a jsou na jejich základě učiněny závěry.

Klíčová slova: *Luronium natans* (žabníček vzplývavý), ekologie druhu, adaptace vodních a mokřadních druhů, vegetativní rozmnožování, generativní rozmnožování, rozmnožování v ex-situ podmínkách, ohrožení druhu, ochrana druhu

Abstract

This diploma thesis focuses on the issue of sexual and asexual reproduction of a critically endangered floating water-plantain (*Luronium natans*) in ex-situ conditions. The first part of the work offers description of the species, as well as its distribution in the Czech Republic, description of the possible ways of reproduction (vegetative, generative) and its protection. The next part of the work presents our own experiment which is focused on seed conservation and cultivation of plants overwintered in exterior. In the final part of the work, we analyse the data to draw relevant conclusions.

Keywords: *Luronium natans* (floating water-plantain), ecology of the species, adaptation of aquatic and wetland species, vegetative reproduction, generative reproduction, reproduction in ex-site conditions, endangerment of the species, species protection

Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat vedoucímu své diplomové práce doc. RNDr. Josefovi Navrátilovi, Ph.D. a také své konzultantce Mgr. Janě Navrátilové, Ph. D. Děkuji jim za cenné rady a podněty, které mi pomohly k vypracování diplomové práce a za pomoc při statistickém vyhodnocení výsledků. Dále bych chtěla poděkovat Sbírci vodních a mokřadních rostlin Botanického ústavu AV ČR, v.v.i v Třeboni za možnost provést experiment v jejich prostorech.

Obsah

| | |
|---|----|
| Úvod..... | 9 |
| 1 Literární rešerše..... | 10 |
| 1.1 Zařazení do systému | 10 |
| 1.2 Popis čeledě <i>Alismataceae</i> | 10 |
| 1.3 Morfologie a další informace o biologii druhu <i>Luronium natans</i> | 11 |
| 1.4 Fyziologické adaptace vodních a mokřadních druhů | 12 |
| 1.5 Rozšíření a ekologie | 13 |
| 1.6 Vegetace s výskytem <i>Luronium natans</i> | 15 |
| 1.7 Rozšíření v České republice | 17 |
| 1.8 Rozšíření ve světě..... | 17 |
| 1.9 Problematika pohlavního a nepohlavního rozmnožování druhu | 18 |
| 1.10 Rozmnožování <i>Alismataceae</i> a <i>Luronium natans</i> v ex-situ podmínkách | 19 |
| 1.11 Problematika ohrožení druhu..... | 21 |
| 1.12 Ochrana..... | 24 |
| 2 Cíle práce | 26 |
| 3 Materiál a metodika..... | 27 |
| 3.1 Rostlinný materiál | 27 |
| 3.2 Experiment 1: Vliv skladování semen na klíčivost (A1) | 27 |
| 3.3 Experiment 2: Zkouška dormance (A2) | 29 |
| 3.4 Experiment 3: Následné pěstování rostlin vypěstovaných ze semen (A3).. | 30 |
| 3.5 Experiment 4: Přezimování rostlin vypěstovaných ze semen (A4)..... | 30 |
| 3.6 Experiment 5: Vegetativní rozmnožování (B1) | 30 |
| 3.7 Experiment 6: Přezimování rostlin vypěstovaných z růžic (B2)..... | 31 |
| 4 Výsledky | 32 |

| | | |
|-------|---|----|
| 4.1 | Vyhodnocení experimentu 1: Vliv skladování semen na klíčivost (A1) (A1) | 32 |
| 4.2 | Vyhodnocení experimentu 2: Zkouška dormance (A2) | 34 |
| 4.3 | Vyhodnocení experimentu 3: Následné pěstování rostlin vypěstovaných ze semen (A3) | 36 |
| 4.4 | Výsledky experimentu 4: Přezimování rostlin vypěstovaných ze semen (A4) | 37 |
| 4.5 | Vyhodnocení experimentu 5: Vegetativní rozmnožování (B1) | 37 |
| 4.5.1 | Výsledky – růžice | 37 |
| 4.5.2 | Výsledky – květy | 39 |
| 4.5.3 | Výsledky – listy | 39 |
| 4.6 | Výsledky experimentu 6: Přezimování rostlin vypěstovaných z růžic (B2) | 40 |
| 5 | Diskuse | 41 |
| 6 | Závěr | 43 |
| 7 | Seznam použité literatury | 45 |
| 7.1 | Citace publikací vědeckých | 45 |
| 7.2 | Citace webových zdrojů | 49 |
| 8 | Přílohy | 51 |
| | Seznam obrázků | 53 |
| | Seznam tabulek | 54 |
| | Seznam grafů | 55 |

Úvod

Luronium natans (žabníček vzplývavý) je vodní rostlina se vzácným výskytem v České republice. Zároveň se jedná o druh kriticky ohrožený a na svých zbývajících lokalitách může snadno vyhynout. Z tohoto důvodu je vhodné tento druh uchovat v genofondových bankách a poskytnout mu specifické nároky na uchování semen i náležitě pěstební podmínky.

V této diplomové práci bude prostřednictvím experimentu hledán a posuzován nejvhodnější způsob uchování semen a také vhodné podmínky pro pěstování i přezimování rostlin, jelikož se jedná o druh víceletý. Tyto podmínky uchování a pěstování mohou být problematické, protože se jedná o druh málo prozkoumaný. Z důvodu úbytku populací je i přesto nutné mu poskytnout ochranu.

Experiment bude probíhat v prostorech Sbírký vodních a mokřadních rostlin Botanického ústavu AV ČR, v.v.i v Třeboni. Podmínky, jež ovlivňují klíčivost semen, budou vybrány s ohledem na problematiku uchování životaschopnosti (neboli se zachováním schopnosti klíčení) a zároveň bude hledán nejvhodnější způsob uchování s ohledem na ušetření finančních prostředků a práce. U klíčivosti semen bude posuzován vliv teploty uskladnění (semena zamrazená, chlazená, ponechána při pokojové teplotě), vliv vlhkosti (sušená, nesušená), vliv prostředí (bez přístupu nebo s přístupem kyslíku) a také vliv ošetření semene (bez ošetření, mechanické narušení, vystavení kyselině giberelové). U následné části pokusu věnované pěstování rostlin se podmínky zúží jen na vliv prostředí – rostliny pěstované ponořeně nebo vynořeně nad hladinou. Poslední část je zaměřena na způsob přezimování rostlin, kde se opět posuzuje jen prostředí (ponořené či vynořené).

1 Literární rešerše

1.1 Zařazení do systému

Luronium natans (L.) Rafinesque neboli žabníček vzplývavý se řadí do říše rostlin (*Plantae*), konkrétně rostlin krytosemenných (*Magnoliophyta*), třídy jednoděložných (*Liliopsida*), řádu žabníkotvarých (*Alismatales*), čeledi žabníkovité (*Alismataceae*) a rodu žabníček (*Luronium*) (Dvořák, 13/11/2021).

1.2 Popis čeledě *Alismataceae*

Čeď *Alismataceae*, neboli žabníkovité, se vyznačuje rostlinami vytrvalými, někdy i jednoletými, adaptované na vodní či bažinné prostředí. Listy vyrůstají v přízemní růžici a mají několik typů: (1) submerzní neboli ponořené listy jsou krátké, páskovité, s nerozlišeným řapíkem a čepelí, se souběžnou žilnatinou; (2) natantní neboli plovoucí listy již lze diferenciovat na čepel a řapík, tvar je vejčitý až oválný, žilnatina je síťnatá, listy mají voskovitou pokožku a jsou tužší; (3) emerzní neboli vynořené listy mají dlouhý řapík, přičemž u rodu *Luronium* je tento typ listu u rostlin nacházejících se mimo vodní prostředí, zatímco u rodů *Alisma* (žabník) a *Sagittaria* (šípatka) se list vyvine dlouhým růstem z listu plovoucího. Oddenek mají žabníkovité krátký a hlízovitý. Vrcholičnaté květenství se vyznačuje vrcholičnatou přeslenitou latou (stopkaté květy jsou v paždí listenů) či okolíkem. Květy jsou u rodu *Sagittaria* jednopohlavné a u rodů *Alisma* a *Luronium* oboupohlavné, jsou pravidelné s květními obaly ve dvou 3četných kruzích. Květ je rozlišen na kalich a korunu, přičemž vytrvávající kališní lístky jsou zelené a opadavé korunní lístky jsou bílé či růžové. Tyčinek je v květu obvykle 6 (vzácněji více) a gyneceum je mnohočetné apokarpní se svrchními semeníky uspořádanými do kruhu (vzácněji jsou na bázi spojené). V každém semeníku bývá jedno obrácené vajíčko. Plodem je nažka opatřená pórovitým perikarpem, který plodu dodává schopnost plovat, čímž se snadno hydrochoricky¹ rozšiřuje, a semena jsou bez endospermu. Opylení bývá většinou entomogamické (opylení hmyzem), občas i autogamické (samosprašné) (Štěpánková, 2010).

¹ Šíření semen či plodů pomocí vody, často se vyskytuje u vodních či bažinných rostlin

1.3 Morfologie a další informace o biologii druhu *Luronium natans*

Tento vzácný vodní makrofytní druh je tzv. obojživelný a může mít dvě odlišné růstové formy (Greulich, 2001). První z těchto forem se roste ve stojaté vodě, přičemž daní jedinci zakořeňují ve dně a na vodní hladině má plovoucí listy, kulatého, eliptického až vejčitého tvaru o délce až 4 cm a šířce až 1,5 cm, které jsou nesený až 70 cm dlouhými řapíky (záleží na výšce vodní hladiny). Tyto plovoucí listy a jsou kožovité, na svrchní straně mají tmavší zelenou barvu a na spodní straně jsou světlejší. Avšak ve vodním sloupci tvoří krátké (10–20 cm), zašpičatělé, čárkovité listy tvořící růžice a kvete jen výjimečně. Rozmnožuje se tedy téměř výhradně vegetativně pomocí odtržených růžic. Tyto růžice (též ramety) jsou geneticky shodné s matečnou rostlinou a jedná se tedy o klony. Během sezóny se může vytvořit 10 až 20 růžic, které bývají na krátkých stoncích (cca 10 cm). Růžice však mohou vyrůstat i z jiných růžic², přičemž nejvzdálenější růžice se mohou nacházet i 2 m daleko od matečné rostliny (Štěpánková, 2010; Chytrý, 2011). Tenké části stonků mezi růžicemi se nazývají stolony (Chmara, 2020 cit. Szmeja, 2014). Tyto stolony mají bílou až nazelenalou barvu, jsou 1 mm široké a až 1 m dlouhé. Mohou volně ležet na substrátu, ale také mohou substrátem prorůstat. Postupem času se stolony uvolňují a tím uvolňují i růžice (Lansdown, 2003).

Pokud ovšem klesne vodní hladina či úplně zmizí, stává se žabníček více terestrickou rostlinou a výrazně se morfologicky odlišuje. Čárkovité listy zmizí, plovoucí listy se zkrátí a jsou silnější, jelikož je již nenadnáší vodní sloupec. Kvete hojněji než předchozí „vodní“ forma, ale zároveň tvoří i dceřiné růžice (Chytrý, 2011).

Žabníček má oddenky přímé, tenké, krátké a po vytvoření růžice hynou. Lodyhu mají vzplývavou a, jak již bylo zmíněno výše, na uzlinách vytváří dceřiné růžice, které mají listy páskovité či prodloužené plovoucí. Květenství jsou rozvolněná, vzplývavá a často tvořená jednotlivými dlouze stopkatými květy, které vyrůstají z uzlin lodyh společně s listy a kořeny. Květy plovou na hladině, mírně nad hladinu vyčnívají a někdy bývají i ponořené. Délka květní stopky se pohybuje v rozmezí 4 až 15 cm dlouhá. Dále jsou květy oboupohlavné se třemi kališními zelenými lístky (3–4 mm dlouhé) a třemi bílými, na bázi žlutými, opadavými korunními lístky o délce 8–10 mm.

² Jedná se o tzv. polykormon, což je růstová forma rostlin s několika oddělenými nadzemními částmi, které ale ve skutečnosti vyrůstají z jediného podzemního systému (kořen, oddenek, hlíza...). Vzhled nadzemních částí může sice působit jako populace několika rostlin, ale ve skutečnosti jde o jednoho geneticky identického jedince (dbpedia.org, listopad 2021).

Tyčinek bývá 6, někdy i více, a gyneceum je apokarpní, které je složeno z 6–12 pestíků v kruhu. Po odkvětu se stopka zakrucuje, čímž stahuje květ pod hladinu. Období kvetení nastává v měsících červen až srpen. Plodem žabníčku je nažka, která dozrává pod vodou. Má eliptický, ze stran zmáčkнутý tvar s 12–15 podélnými žebry a na vrcholu má krátký zobánek. Nažky je hnědá a měří 1,5–2,5 mm (Štěpánková, 2010).

1.4 Fyziologické adaptace vodních a mokřadních druhů

Aby vodní a mokřadní rostliny lépe odolávaly prostředí se zvýšeným množstvím vody (často se může jednat o celoroční zatopení celých rostlin nebo alespoň kořenů), se musely v průběhu vývoje adaptovat. Vodní prostředí a zatopená půda jsou charakteristické pomalým pohybem plynů a jejich rozdílnou rozpustností (nízká rozpustnost kyslíku ve vodě; přičemž platí, že čím studenější voda, tím lepší rozpustnost³; rozpustnost oxidu uhličitého je lepší). Tudiž jsou koncentrace plynů ve vzduchu a pod vodní hladinou rozdílné. Koncentrace plynů ve vodě je také rozdílná v průběhu dne a noci na rozdíl od stálých koncentrací ve vzduchu (Hejný, 2000).

Vodní a mokřadní rostliny obvykle dosahují menšího vzrůstu, mají vyvinuté malé vodní kanály, rozšířené tkáně parenchymu a omezenou lignifikaci (stonky ani listy nejsou nijak zvlášť odolné vůči mechanickému narušení), aby lépe odolávaly poškozením způsobených anoxií (zamokření; nedostatek vzduchu v prostředí), mrazem či suchem. Zmíněný parenchym je pletivo, díky kterému rostlina fotosyntetizuje (jsou zde uloženy chloroplasty nazývající se fotosyntetický chlorenchym), ukládá zásobní látky⁴ (škrob) a také jsou zde obsaženy vzduchové prostory zajišťující provzdušňování (transport kyslíku do ponořených částí rostliny) a vztlak (Doležal, 2021).

Přítomnost aerenchymatických prostorů (v pletivu) ve stoncích slouží ve vodním sloupci jako mechanická podpora pro dlouhé pružné stonky (Doležal, 2021 cit. Sculthorpe, 1967). Ovšem tyto prostory slouží i k provzdušňování, kdy kyslík přechází z jiných částí rostliny až ke kořenům, skrz které prochází a oxiduje okolí kořene. Tudiž si mokřadní rostliny upravují své bezprostřední okolí (Hejný, 2000).

³ Při teplotě 1 °C je ve vodě obsaženo 14 mg kyslíku na litr, zatímco při teplotě 30 °C klesne obsah rozpuštěného kyslíku na 7,4 mg (Hejný, 2000).

⁴ Nejvíce zásobních látek je v pletivech (nejčastěji v podzemních orgánech – kořenech) obsaženo na podzim a nejméně na jaře, kdy se aktivují pro růst na začátku sezóny (Hejný, 2000).

Rychlost fotosyntézy vodních a mokřadních rostlin závisí na intenzitě světla. Ponořené rostliny začínají fotosyntetizovat již při velmi nízkých hodnotách světla (1 W.m^{-2}) a s narůstajícím světlem se rychlost fotosyntézy zvyšuje. Při hodnotách okolo 100 W.m^{-2} se rychlost děje ustálí a již se nezvyšuje. U vynořených rostlin (př. rákosiny – světlomilné) fotosyntéza nastává při vyšších hodnotách než 1 W.m^{-2} a rychlost se neomezeně zvyšuje s intenzitou světla (Hejný, 2000).

1.5 Rozšíření a ekologie

Dříve se žabníček vyskytoval převážně v horských oblastech, ale ve 20. století se rozšířil i do nížinných oblastí prostřednictvím propojovacího systému vodních toků (Willby, 1993). Nyní roste ve vodách stojatých, často mělkých (do 60 až 70 cm) a jedná se tudíž o rybníky, jezera, okrajové části rašelinišť, bývalé zatopené těžební oblasti⁵, tůňky, mrtvá ramena řek, příkopy, kanály, pomalu tekoucí vody apod. (Štěpánková, 2010). Žabníček se obvykle vyskytuje v nadmořské výšce od 400 do 1900 m n. m.⁶ (Romero, 2004).

Vyskytuje se také v narušených či umělých biotopech, které jsou narušovány člověkem (např. plavební kanály) (Willby, 1993; Nielsen, 2006 b) či povodněmi (Barrat-Segretain, 1999). Rostliny rostoucí na stanovištích s častými narušeními mají zvýšenou regenerační⁷ a kolonizační⁸ schopnost oproti rostlinám na stanovištích, které jsou málokdy narušené. Barrat-Segretain (1998; 1999) uvádí, že regenerační schopnost *Luronium natans* je u pupenů (vrcholových částí), celých rostlin, nadzemních částí, podzemních částí i fragmentů internodií velmi vysoká, přičemž 80-100 % těchto částí zregeneruje. Avšak u samostatných internodií je procento podstatně nižší (0-80 %). Je zřejmé, že vegetativní fragmenty *Luronium natans* mají výrazně vyšší regenerační schopnost než tu kolonizační. Avšak nutno podotknout, že novým rostlinám ze zregenerovaných částí nevyrostlou kořeny a plavou na vodní hladině, přičemž kořeny rostlinám začnou růst až na podzim. To podporuje i Nielsen

⁵ Těžební oblasti zahrnující lomy, pískovny apod. jsou obvykle založeny na principu těžby do hloubky. Z toho důvodu je pro makrofyta obtížné tyto oblasti osídlit z důvodu přílišné hloubky. Proto jsou osídleny pouze okrajové části s nižší hloubkou vody (Hejný, 2000).

⁶ Tímto znakem se dá *Luronium natans* odlišit od velmi podobné *Baldellia alpestris*, která se však vyskytuje v nadmořské výšce cca 380–440 m n. m. (Romero, 2004).

⁷ Regenerace je obnovení růstu v životaschopných částech rostliny nebo produkce propagulí (jako jsou např. turiony či pupeny) (Barrat-Segretain, 1999).

⁸ Kolonizace je vývoj kořenů a usazení rostlin v sedimentu (Barrat-Segretain, 1999).

(2006), který uvádí, že *Luronium natans* na podzim zakládá kořeny s velkou pravděpodobností (52 %), ale jen do hloubky 4 cm. Z toho lze usuzovat, že nové lokality osidlují až na podzim, kdy kořeny proniknou až ke dnu nebo zakoření na mělkých březích vodních ploch a toků.

Díky silné regenerační schopnosti jako adaptační strategií⁹ je *Luronium natans* poměrně odolný vůči poruchovým událostem (Barrat-Segretain, 1998). I na základě tohoto znaku lze *Luronium* označit za C-S-R či S-R stratéga¹⁰ (Greulich, 1999). Dlouhodobý výskyt *Luronium* závisí na procesech, které omezují biomasu jiných populací ve společenstvu (Greulich, 2000).

Porosty jsou často limitovány zvýšeným obsahem živin v substrátu či ve vodě¹¹, protože obvykle rostou na stanovištích chudých na živiny (oligotrofní prostředí). Kvůli tomu žabníček roste poměrně pomalu^{12, 13}, není adaptován na zvýšení příjmu živin a není ani tolik konkurenceschopný jako jiné rostliny (např. rákosiny) (Štěpánková, 2010; Chytrý, 2011). Optimální hodnoty rozpuštěného organického uhlíku ve vodě jsou do 6,0 mg.dm⁻³ a rozpuštěného fosforu do 30,0 ug.dm⁻³. Pokud jsou tyto hodnoty vyšší, růst je silně redukován a hustota populace může klesnout až o 80-90 % (Bazydlo, 2004 a). Navíc jsou jedinci druhu menší a disponují negativními změnami v alokaci biomasy (při optimálních hodnotách je alokace biomasy: 46-54 % v listech, 22-31 % v kořenech a 20-27 % v oddenku) (Bazydlo, 2004 b). Toto tvrzení podporuje Greulich (2001), totiž že alokace biomasy v listech je rozdílná při různém obsahu živin

⁹ Tuto adaptační strategii lze nazvat jako „strategie vždy připravenosti“ (anglicky „*always-ready strategy*“) (Barrat-Segretain, 1999).

¹⁰ Životní strategie rostlin se dají rozdělit na: (1) S-strategie – „stres snášející stratég“ mající odolnost vůči stresovým podmínkám, které zároveň druh vyžaduje, má pomalý růst, pomalý metabolismus, převažuje vegetativní rozmnožování a má nízké odchylky od průměrného vzhledu; (2) C-strategie – „konkurenční stratég“ vyskytující se v podmínkách s nízkým stresem a nízkým narušováním biomasy, vyznačuje se vysokou konkurenceschopností, vysokou výškou rostlin, velkými asimilačními listy, schopností větvení či dlouhověkostí; a (3) R-strategie – „ruderalní těž rumištní stratég“, který je dobře adaptován na časté narušování prostředí (Wikipedia, 3/12/2021).

¹¹ Rostliny ke svému vývoji potřebují živiny, které rostliny přijímají kořeny ze sedimentu, v menší míře z vody. Díky tomu mají kořenící rostliny výhodu oproti rostlinám bez kořenů či řasám, které získávají živiny jen z vody (Hejný, 2000).

¹² V živinami obohacených vodách jsou na rostlinách obvykle nárosty řas, bakterií i drobných živočichů. Tyto nárosty, též perifyton, brání průniku světla a tudíž zastíňují rostlinu (zejména její asimilační části – listy), zároveň řasy z prostředí odebírají oxid uhličitý, jež je třeba k fotosyntéze (Hejný, 2000).

¹³ Dalším faktorem přispívajícím k pomalému růstu žabníčku je i nízký fotosyntetický výkon emerzních (ponořených) listů. Oproti nim mají lepší fotosyntetický výkon listy vzdušné (u „terestrické“ formy) a nejlepší výkon listy plovoucí (Hylgaard, 2011).

ve vodním prostředí: při vyšší úrovni živin v prostředí je alokace biomasy soustředována do plovoucích listů, zatímco při nízkých hodnotách živin je nejvíce biomasy v listových růžicích. Díky této morfologické plasticitě listů se může žabníček vyskytovat ve velkém rozsahu stanovišť.

Mimo specifické obsahy živin v prostředí žabníček vyžaduje i kyselé substráty (optimální hodnoty cca okolo pH 5-7) (Bazydlo, 2004 a; Bazydlo, 2004 b), které se často stávají zásaditějšími kvůli hnojení a vápnění v zemědělství či při rybníčním hospodaření (chov ryb či vodní drůbeže) (Chytrý, 2011). Obsah vápníku by měl být tedy velmi malý a to přibližně 1-2 mg.l⁻¹ (Szańkowski, 2001; Chmara, 2020), avšak jsou pozorovány i lokality s porosty žabníčku s vyšším obsahem vápníku okolo 40 mg.l⁻¹ (Chmara, 2020) i 60 mg.l⁻¹ (Chytrý, 2011 by Willby & Eaton, 1993). Szańkowski (2001) také uvádí, že pro žabníček jsou vhodné koncentrace rozpuštěného sodíku (Na⁺) v rozmezí 5,5-6,5 mg.l⁻¹.

Jak již bylo zmíněno výše, žabníček roste ve vodách, které mají hloubku maximálně 70 cm. Čím hlouběji se rostlina nachází, tím je porost hustší, větší a snáze se rozmnožuje vegetativním způsobem. A naopak, čím mělčeji žabníček roste, tím jsou porosty řidší a převažuje rozmnožování generativní (Bazydlo, 2004 a). Szmeja (2005) uvádí, že pouze 35,2 ± 9,4 % kvetoucích stonků produkuje plody, přičemž rostlina, která roste na minerálním substrátu, lépe kvete, než rostlina, která roste na organickém substrátu. Koncentrace fosforu a rozpuštěného organického uhlíku ani intenzita světla neovlivňují množství stonků nesoucí květy. Populace žabníčku bývají krátkodobé a jejich velikost silně kolísá v závislosti výskytu kvetení (Ronse, 2015).

1.6 Vegetace s výskytem *Luronium natans*

Výsledné složení společenstva populací různých druhů je dáno působením přirozených faktorů – výška vodního sloupce, světlo, substrát a živiny; a hospodářskou aktivitou člověka. Pro mokřadní společenstvo je rozhodujícím faktorem kolísání vodní hladiny (rozdílný přítok vody, manipulace vodní hladiny na rybnících apod.) (Hejný, 2000).

Luronium natans lze jako makrofytní druh zařadit do třídy vegetace rostoucí v oligotrofní¹⁴, mezotrofní¹⁵ někdy i v dystrofních¹⁶ vodách (vegetace *Littorelletea uniflorae*). Kromě žabníčku v tomto společenstvu roste např. bahnička (*Eleocharis*), šídlatka (*Isoetes*), pobřežnice (*Littorella*) či míčovka (*Pilulargia*). Také všechny tyto druhy jsou obojživelné (Chytrý, 2011).

Jak již bylo zmíněno, je tento druh obojživelný a tak samozřejmě spadá i do skupiny vegetace obojživelných rostlin v mělkých oligotrofních a mezotrofních vodách (vegetace *Eleocharition acicularis*). Tato společenstva se vyznačují rostlinami, které jsou nízké, tvoří semena či výtrusy a obvykle to jsou vytrvalé rostliny mající trávovitý vzhled. Mezi ně patří takové rostliny, které podle převahy tvoří určitá typická společenstva: bahnička jehlovitá (*Eleocharis acicularis*) – obojživelné trávníky bahničky jehlovité (*Limosello aquaticae-Eleocharitetum aciculari*); sítina cibulkatá (*Juncus bulbosus*) – vegetace pobřeží mělkých vod se sítinou cibulkatou (*Ranunculo-Juncetum bulbosi*); pobřežnice jednokvětá (*Littorella uniflora*) – obojživelná vegetace s pobřežnicí jednokvětou (*Eleocharito-Littorellum uniflorae*); míčovka kulonosá (*Pilularia globulifera*) – obojživelná vegetace s míčovkou kulonosou (*Pilularietum globuliferae*); a ovšem i žabníček vzplývavý (*Luronium natans*) – vegetace mělkých vod s žabníčkem vzplývavým (*Luronietum natans*) (Chytrý, 2011).

Vegetace mělkých vod s žabníčkem vzplývavým je často tvořena pouze tímto druhem a je jedná se tudíž o jednodruhový porost. Někdy bývá doplněna i lakušníkem vodním (*Ranunculus aquatilis*), lakušníkem vzplývavým (*Ranunculus peltatus*), hvězdošem háčkatým (*Callitriche hamulata*), sítinou cibulkatou (*Juncus bulbosus*) či rdestem vzplývavým (*Potamogeton natans*) (Chytrý, 2011).

¹⁴ Oligotrofní = málo živin, voda čistá s vysokou průhledností, pomalý růst rostlin (Hejný, 2000).

¹⁵ Mezotrofní = střední obsah živin, průhlednost cca 2 m, vodní vegetace často obsahuje druhy s plovoucími listy, biomasa rovnoměrně rozložená ve vodním sloupci (Hejný, 2000).

¹⁶ Dystrofní = vysoký obsah živin, průhlednost vody nízká, biomasa se rozkládá především u hladiny, která způsobuje zastínění, s vyššími hodnotami živin klesá počet druhů, avšak jejich biomasa narůstá (Hejný, 2000).

1.7 Rozšíření v České republice

V České republice se žabníček vzplývavý vyskytuje již jen na dvou lokalitách v Labských pískovcích. A to v Královomlýnském rybníce (severozápad od obce Maxičky) a v lesní požární nádrži (jihozápad od Dolného Žlebu) (Štěpánková, 2010; Chytrý, 2011). Nicméně některé zdroje (např. Lansdown, 2003; Powo 7/3/2022) uvádějí, že *Luronium natans* je v České republice vyhynulý.

Po r. 2001 byl žabníček vysazen i do jiných nádrží v Labských pískovcích, kde má však nízké šance na přežití, a do několika vodních nádrží na Třeboňsku, kde stále roste (Chytrý, 2011) – konkrétně u obcí Branná, Cep, Majdalena, Suchdol nad Lužnicí¹⁷ (Pladius.cz, 27/11/2021). Dříve se žabníček nejspíše přirozeně vyskytoval právě na Třeboňsku u obce Stráž nad Nežárkou¹⁸ (Chytrý, 2011; Pladius.cz, 27/11/2021).

1.8 Rozšíření ve světě

Luronium natans je endemický druh Evropy. Vyskytuje se ve Španělsku, Francii, Německu, Dánsku, Polsku až po Litvu. Mezi další těžiště výskytu patří i Švédsko, Norsko či Britské ostrovy (Štěpánková, 2010; discoverlife.org, prosinec 2021; linnaeus.nrm.se, 2/12/2021).

V celém areálu rozšíření panuje trend klesání populací. Během doby průzkumů lokalit s *Luronium natans* se lokality značně zmenšily nebo i zanikly – došlo totiž ke ztrátám klíčových lokalit, které byly pro druh optimální a nyní se druh nalézá v populacích s roztroušeným výskytem. Nejhojněji se dříve *Luronium natans* vyskytoval ve Spojeném království Velké Británie a Severního Irska a ve Francii. Bohužel bylo za posledních 100 let ztraceno více než 50 % lokalit v těchto státech. Avšak i nadále jsou objevovány nové lokality s výskytem *Luronium natans* (Lansdown, 2003).

¹⁷ Datovány v r. 2012 L. Adamcem

¹⁸ Datovány v letech 1935-1938 K. Prokešem

1.9 Problematika pohlavního a nepohlavního rozmnožování druhu

Žabníček je druhem obojživelným a pokud je rostlina ve ‚formě‘ vodní rostliny, rozmnožuje se převážně vegetativně. A to díky značné životaschopnosti odlomených částí rostliny (např. jednotlivých růžic), kdy poměrně snadno zakořeňuje. Avšak, když žabníček roste mimo vodní prostředí (či ve velmi mělkých vodách), rozmnožuje se především generativně (Bazydlo, 2004 a).

Zdá se, že u *Luronium natans* převažuje vegetativní rozmnožování díky vysoké schopnosti klonality. To je zajištěno, jak již bylo zmíněno, díky tvorbě klonů v podobě dceřiných růžic, tzv. ramet. Po oddělení od mateční rostliny se tyto růžice šíří zejména vodním proudem (v rámci vodního útvaru) (Cox, 2014), ale i vodním ptactvem (zachycení rostliny na nohách ptactva) na delší vzdálenosti (Kay et al., 1999). Tímto způsobem mohou populace žabníčku snadno rozšiřovat mimo svůj areál výskytu (zejména mimo vodní útvar). Je tedy zcela zásadní, aby se *Luronium* rozmnožoval vegetativně, a bylo tím zajištěno rozrůstání populace (jelikož zde nejsou další jedinci druhu *Luronium*) (Cox, 2016).

Cox (2016) dále uvádí, že stupeň klonální reprodukce je vysoký, ale genetická diverzita nízká. To je způsobeno především tím, že populace žabníčku jsou malé a tudíž dochází ke generativnímu rozmnožování jen v malém množství. Aby byla zajištěna vysoká genetická variabilita je zapotřebí, aby jedna populace žabníčku obsahovala alespoň 1000 jedinců a zároveň je důležité, aby celá populace nebyla založena jednou či několika málo rostlinami (tudíž je nezbytné více odlišných matečních rostlin). Je tedy zřejmé, že existuje korelace mezi genetickou variabilitou a velikostí populace.

Pokud roste *Luronium natans* ve vodním prostředí, často se nachází v umělých kanálech či příkopech, kde se vyskytuje pravidelné fyzické narušování člověkem (např. lodní doprava). Zdá se, že počty narušení korelují s velikostí populací. Toto tvrzení podporuje Nielsen (2006 b). Při řezání makrofyt čtyřikrát za rok bylo zjištěno, že biomasa *Luronium natans* byla nejvyšší (nejvyšší pokryvnost), ale zároveň frekvence kvetení byla velmi nízká. Nízká květoschopnost má za následek značné snížení generativní reprodukce, což způsobuje nižší genetickou rozmanitost druhu, která by mohla vést k zániku druhu. Pokud se *Luronium* narušil řezáním jen dvakrát za rok, populace byly hojné a zároveň vykazovaly dobré generativní rozmnožování (kvetení).

Rozmnožování kvetením (generativně) je pro *Luronium natans* důležité, protože semena mají poměrně vysokou produkci i vysokou klíčivost (51-60 %) (Nielsen, 2006 a). Avšak problémem je, že v tutéž dobu kvete jen málo rostlin – většinou (v 80 %) kvete jen 0,5–5 % celkového počtu rostlin – a opylování je tedy značně omezeno (Cox, 2016). Lansdown (2003) uvádí (avšak tento jeho názor zatím nebyl potvrzen), že semena by mohla mít dormanci až 15 let, takže by mohla v prostředí sloužit jako semenná banka, přičemž by semena vzešla až v období příznivých podmínek.

Květy *Luronium natans* jsou přizpůsobené jak pro samoopylení, tak i pro hmyzosprašnost. Jedincům druhu rostoucím na obnaženém bahně či ve vodním prostředí do hloubky 60 cm, kdy květy vystoupají nad hladinu, se květy otevírají pouze na jeden den, jsou posléze hojně navštěvovány hmyzem a produkce semen je nejhojnější. V případě, kdy se rostliny nacházejí ve větší hloubce než 60 cm, květy nedosáhnou vodní hladiny, neotevřou se a opylení probíhá uvnitř zavřeného květu díky samosprašnosti (tzv. kleistogamii). Malé nažky o velikosti 1–2 mm nemají žádné plovací útvary, které by zajišťovaly šíření vodou. Proto se nažky po uvolnění z květu často potopí (Kay, 1999).

1.10 Rozmnožování *Alismataceae* a *Luronium natans* v ex-situ podmínkách

Pro rozmnožování generativním způsobem je nutné získání semen, která je vhodné sbírat z matečné rostliny dříve než semena zcela dozrají a opadnou (v tomto případě sběru opadaných semen je nutné určit, zda se opravdu jedná o daný druh, aby nedošlo k pomíchání semen s jiným druhem). Po sběru se semena nejčastěji suší, aby byla vhodná pro delší skladování (mokrá či vlhká semena jsou totiž náchylná k plísním) (Baskin et Baskin, 1999: 5-8), nebo je možné je uskladnit v nádobce s vodou v ledničce při nízkých teplotách (aby se zamezilo samovolnému vyklíčení) (Prausová, 2015).

Luronium natans má semena dormantní, tedy taková, která musí přečkat klidové období (zimu, kdy je málo světla i vody) a začnou klíčit teprve až když nastanou vhodné podmínky (určité množství vody, pH vody, teplota či světlo). Pro zlepšení klíčivosti je možné semenům mechanicky poškodit osemení (Baskin et Baskin, 1998:27). Semena si musejí projít tzv. studenou stratifikací (období s poklesem teplot), aby začala klíčit (Prausová, 2015) a tudíž se jedná o semena s fyziologickou dormancí (aby semena s fyziologickou dormancí mohla klíčit musejí překonat stratifikaci)

(Baskin et Baskin, 1999: 29-42). Např. u druhu *Alisma gramineum* (žabník trávolistý) je klíčivost zvýšena díky chladné a vlhké stratifikaci (Hroudová, 2004).

Na klíčení má vliv i výška vodní hladiny, respektive, v jaké hloubce semena klíčí. Xiao (2010) zjistil, že u jiných vodních druhů (u druhu *Myriophyllum spicatum* a *Potamogeton malaianus*) je procento vyklíčených semen nejvyšší při hloubce 0 cm (na vlhkém podkladu) a s větší hloubkou je toto procento snižováno (u *M. spicatum* 71,3 % vyklíčených semen při hloubce 0 cm, zatímco u hloubky 2 cm je množství vyklíčených semen pouze 2,5 %). U *Alismataceae* je nejvhodnější mělká voda (4 cm) při teplotě 25 °C ve dne a 10 °C v noci (Moravcová, 2001).

Hroudová (2004) zabývající druhem *Alisma gramineum* (žabník trávolistý), uvádí (by Wayda, 1997), že vodní formy *A. gramineum* produkují více semen než formy suchozemské. Vzhledem k ekologickým i morfologickým podobnostem je tento trend (i další, níže uvedené trendy) u *Luronium natans* možný, ale zatím to není ověřeno. Hroudová a Zákavský (Hroudová, 2004 by Hroudová a Zákavský 1998) dále uvádějí, že u druhu *A. gramineum* sazenice a rostliny ve vlhkém bahně či mělké vodě během zimy obvykle odumírají. Avšak v hloubce 35–90 cm vegetativní části těchto jedinců přežívají lépe (což později potvrzuje Moravcová, 2001). Navíc u *A. gramineum* je klíčivost vyšší, pokud klíčí ve tmě (Hroudová, 2004).

Pro dosažení lepších výsledků s klíčovými semeny, je možné semena chemicky ošetřit a klíčení podpořit. Při ošetření semen bělidlem (prostředkem obsahujícím 0,05% Triton X-100 s následným opláchnutím) po skladování za studena a inkubaci při teplotě 20–30 °C vyklíčilo 94–100 % semen druhu *Alisma gramineum*. Použití bělidla zlepšuje klíčivost i u jiných vodních rostlin – např. *Schoenoplectus acutus* (Wagner, 2017). V opačném případě, kdy by se požadovalo snížení (inhibice) klíčivosti (např. při skladování semen) by se semena mohla ošetřovat ovocnými extrakty *Miconia ligustroides*. Tento výzkum provedl Silveira (2013) u inhibice klíčení semen hlávkového salátu, kdy při použití 50% koncentrace extraktu bylo klíčení zcela potlačeno. Mimo chemického ošetření, které podpoří klíčení, je možné semena ošetřit i desinfekčním prostředkem, aby se zabránilo nárůstu plísní či bakterií (Wagner, 2017).

Semena klíčí z mikropylárního konce semene, kde je osemení nejtenčí. Po vyklíčení je rostlinka ukotvena dočasnými hypokotylními kořínky, které se tvoří krátce pro vzejití hypokotylu. Krátce poté se vytvoří primární kořen (v případě, že je

přítomen) následovaný adventivními kořeny, které se tvoří zároveň s plumulárními listy (Kaul, 1978).

U *Alismataceae* Kaul (1985) zjistil, že letničky (jednoleté rostliny) vytvářejí květy s plody dříve než trvalky (víceleté rostliny). Jednoleté rostliny produkují větší množství semen, která jsou znatelně menší a jejich životaschopnost se časem snižuje pomaleji nežli u druhů víceletých (jednoleté druhy si tedy lépe udržují životaschopnost semen). Jednoleté druhy tudíž vytvářejí každoročně populace rozdílné velikosti (v závislosti na optimálních podmínkách pro tvorbu semen), zatímco druhy víceleté mají stabilnější populace.

1.11 Problematika ohrožení druhu

Jak již bylo zmíněno výše, optimum hodnoty pH se pohybuje mezi 5 a 7. Zmenšování populací je způsobeno i příliš kyselou vodou o hodnotě pH <5 (a zřejmě i zásaditou, bazickou, vodou nad hodnotu pH 8). Toto je hlavní environmentální faktor způsobující vymírání populací. V menší míře je to způsobeno i zvýšeným obsahem rozpuštěného organického uhlíku (<6,0 mg.dm⁻³) a rozpuštěného fosforu ve vodě (<30,0 ug. dm⁻³) (Bazydlo, 2004 b). Toto tvrzení podporuje i Kozłowski (2009), jež říká, že eutrofizace¹⁹ má výrazný negativní vliv na mnohé vodní rostliny včetně čeledi *Alismataceae*. Rostliny, které rostou na eutrofních substrátech, jsou menší, méněolistěné, jejich biomasa odpovídá polovině průměrných hodnot, mají méně květů s menšími počty plodů (pouze 15 %) oproti rostlinám pocházejícím z mezotrofních (neeutrofních) substrátů. Proto je při ochraně druhů nutné brát ohledy na stupeň trofie vody, jež dlouhodobě snižuje šanci existence populací v nynějších lokalitách, ale zároveň i na nových lokalitách vhodných k reintrodukcii.

Jelikož jsou populace žabníčku vzplývavého ohrožovány rybničním hospodařením, nejčastěji chovem vodní drůbeže, je třeba brát ohledy na management rybníků. Ponechání rybníka bez vody během léta (tzv. letnění) či zimy²⁰ by pro mnoho druhů znamenalo ohrožení kvůli přílišnému suchu či silným mrazům, které by vedly

¹⁹ Zvýšený obsah živin ve vodním prostředí (především dusíkaté a fosforové látky) v důsledku lidské činnosti (Kočí, 2000). Toto obohacování živinami je nejčastěji způsobované hnojením a splachy z polí (meliorizace), odtoky z čistíren odpadních vod, odtoky znečištěných komunálních vod (Hejný, 2000).

²⁰ Zimování či letnění má pozitivní dopad na rozvoj specifických společenstev rostlin (Hejný, 2000).

k devastaci. Toto ohrožení se nemusí nutně týkat jen rybníků, ale i kanálů či jiných oblastí (Chytrý, 2011). Tyto manipulace s vodní hladinou přispívají k potlačení kolonizace a tím ke zpomalení procesu sukcese (Lansdown, 2003). I Hroudová (2004) podporuje názor, že ponechání obnaženého dna přispívá ke stabilizaci populací (ovšem u podobného druhu – *Alisma gramineum*), protože dlouhodobé období s vysokou výškou hladiny populace oslabuje a může vést i k vysoké mortalitě rostlin. Tato velká hloubka vody negativně ovlivňuje užitek rostlin – v důsledku zpomalení růstu kvůli nižším teplotám, dodání více energie pro dlouhivý růst listů (pro dosažení vodní hladiny) vlivem toho, že rychlost asimilace je snížena kvůli zákalu vody (méně světla), květy nejsou opyleny a probíhá pouze autogamie (samosprašnost v uzavřeném květu) či nekvetou vůbec a také je snížena životaschopnost dceřiných růžic.

Nielsen (2006 b) jako řešení k silným a dlouhodobě se vyskytujícím populacím *Luronium* navrhuje narušování (sekání) lokalit jednou či dvakrát ročně. A to z toho důvodu, aby populace nebyly překonávány jinými konkurenčně silnějšími druhy a zároveň, aby se zajistila produkce květů a semen. Pokud by narušování bylo častější (při častějším narušování není schopné *Luronium* produkovat dostatečný počet květů), je vhodné ponechat lokalitu určitou dobu bez narušení a to právě kvůli dostatečnému času pro tvorbu květů. Moss (Lansdown, 2003 cit. Moss, 1995) uvádí, že je nevhodné přílišné sekání a odstraňování biomasy na pobřeží, jelikož je tím ohrožena populace perlooček, které v těchto vegetacích hledají úkryt, navzdory tomu, že odstraňování vegetace by přispělo ke snížení eutrofizace a potlačení hustě zapojených porostů vodní vegetace.

Mezi výše zmíněný management rybníků lze zařadit v rybářské praxi i vápnění, k němuž se používá vápno, vápenec, chlorované vápno a nehašené vápno. Vápnění je vhodné pouze v případech, kdy je pH vody nízké a je použito ke zlepšení úživnosti rybníků (pokud je pH vysoké, tak se vápenec nerozpustí, sedimentuje na dně a nemá kladný výsledek na úživnost). Pro tyto případy, kdy je pH nízké, je vhodné použití vápna a vápence (Hejný, 2000).

Kromě vápnění lze rybníční hospodaření ovlivnit i hnojením, pro které se nejčastěji používá chlévská mrva nebo průmyslová minerální hnojiva. V případě hnojení dusíkatými hnojivy lze očekávat rozvoj okřehků (*Lemna*) či zblochanu vodního (*Glyceria maxima*), který způsobuje zmenšování rákosin. Na obnažených dnech se v důsledku hnojení rozvíjí plevelné druhy – např. ježatka kuří noha (*Echinochloa-crus galli*) či merlík sivý (*Chenopodium glaucum*). Dříve se ke hnojení

používala i močovina, která prostředí dodávala živiny, ale také při jejím rozkladu vznikaly toxické látky způsobující odumírání kořenových špiček, zánik pupenů či tvorbu tylóz²¹ uvnitř rostlinných cév, což mělo za následek degradaci mnoha makrofytních druhů. Jako hnojiva je možné použití i hnoje, kompostu, ale i krmiva pro ryby. Zmíněná chlévská mrva měla vliv na rozvoj rudérálních a synantropních druhů kvůli obsazení semen v hnojivu – např. jetel rolní (*Trifolium arvense*), děhel ladní (*Chrysaspis campestris*), chundelka metlice (*Apera spica-venti*) či vikev chlupatá (*Vicia hirsuta*) (Hejný, 2000).

Mimo konkurenčně silnějšími druhy, je *Luronium natans* ohrožen i kolonizací a rozšiřováním nepůvodních druhů. K těm lze podle Lansdowna (2003) zařadit např. rozchodník bahenní (*Crassula helmsii*) nebo penízovku plovoucí (*Hydrocotyle ranunculoides*), což jsou vodní rostliny.

Populace jsou taktéž omezovány vlivem nedostatku světla ve vodách i kvůli působení vln. Avšak působení vln zabraňuje přirozené sukcesi stanoviště, které by mohlo být zarůstáno silnějšími druhy (Lansdown, 2003). I proto je zřejmé, že se *Luronium* na podobných plochách, jako jsou plavební kanály (lehká lodní doprava způsobující vlny) (Willby, 1993; Nielsen, 2006 b) či lokality narušované povodněmi (Barrat-Segretain, 1999), daří. Ovšem při časté lodní dopravě či rekreačních plavbách se sedimenty ze dna rozvíří a tvoří tak značný zákal vody, který pro *Luronium* taktéž není příliš vhodný (Powó 7/3/2022).

Pokud se populace rozmnožují převážně vegetativní formou pomocí dceřiných růžic, které jsou geneticky shodné s matečnou rostlinou, může tím docházet k inbreedingové (též inbrední)²² depresi. V tomto případě to může vést, kvůli nevratné akumulaci škodlivých látek, až k mutacím organismů, ale také k neschopnosti se přizpůsobit biotickým i abiotickým změnám či zvýšené virové zátěži. Tudíž dochází ke značnému ohrožení těchto geneticky identických populací (Lansdown, 2003).

V čistých a neznečištěných vodách u dna je zde obsažen rozpuštěný kyslík a sedimentují zde části rostlin, které se nerozkládají a. Avšak vody stále častěji obsahují (vědomě či nevědomě) dodávané látky, mezi které patří dusičnany, fosfor,

²¹ Tylóza je výrůstek uvnitř rostlinných cév, který zasahuje do vodivých xylémových buněk a zamezuje průchodu vody (Stevenson, 7/3/2022).

²² Inbreeding = příbuzenská plemenitba

snadno rozložitelné organické látky a bakterie. V tomto případě u dna probíhají rozkladné procesy, spotřebovává se rozpuštěný kyslík a tvoří se anaerobní sediment černé barvy, ve kterém se kořenům rostlin nedaří. Z tohoto černého sedimentu se uvolňuje fosfor, který využívají ke svému růstu řasy a bohaté společenstvo makrofyt je postupně nahrazováno druhy, které jsou schopny tolerovat anaerobní sedimenty (rdest, rdesno či růžkatec). Během sezóny je navíc snižována koncentrace anorganického dusíku a na konci sezóny již dochází k jeho nedostatku. Nakonec, kdy je přítomen fosfor uvolňující se ze sedimentu a nedostatek dusíku, dochází ke značnému rozvoji mnoha druhů sinic, které způsobují zákal vody a zabraňují i dalšímu vývoji makrofyt. Avšak sinice lze omezovat díky alelopatii (rostliny vylučují látky, které zabraňují vývoji jiných druhů), jež byla prokázána u druhu růžkatec (Hejný, 2000).

Mezi další důvody zmenšujících se populací *Luronium natans* lze přiřadit i odvodňování, zarůstání lokalit jinými druhy (Kay, 1999) či zazemňování²³. Aby se zabránilo vymírání populací *Luronium natans*, je třeba uměle vytvořit nové populace na nových územích, např. nové kolonie na nově vytvořených mokřadech (Lansdown, 2013).

1.12 Ochrana

Aby ochrana druhu byla co nejefektivnější, je třeba *Luronium natans* rozpoznat, aby mu mohla být poskytnuta náležitá ochrana. V období, kdy *Luronium* nekvete je snadné ho zaměnit za druhy *Alisma plantago-aquatica* (žabník jitrocelovitý), *Echinodorus ranunculoides* či *Plantago major* (jitrocel větší), jelikož má *Luronium* proměnlivý tvar listů (Powo, 7/3/2022). Mimo rozpoznání druhu je také třeba vědět, jak semena uchovat a proto je potřeba i znát, jak semena klíčit. Po důkladném prozkoumání těchto faktorů bude posléze v budoucnu snadnější, aby tyto informace byly využity programy množení na podporu ochrany rostlin (Rodríguez-Arévalo, 2017). Avšak *Luronium natans* nemá žádné hospodářské využití (Pladias.cz, 27/11/2021) a tudíž se mu nevěnuje tolik pozornosti jako jiným druhům.

Z důvodu snižování počtů populací je *Luronium natans* předmětem zájmu ochrany. Podle Mezinárodního svazu ochrany přírody (IUCN) je tento druh označen

²³ Přírozený proces vodních nádrží, kdy dochází k zarůstání makrofyty, ale i keří a stromy (např. olše). Tento proces „stárnutí“ je možné oddalovat vypouštěním, zimováním i letněním. Naopak je urychlován splachy z polí (Hejný, 2000).

jako kategorie LC (Least Concern), tedy málo dotčený taxon (Lansdown – IUCN, 2013). Ovšem tato informace se zdá být neaktualizovaná, jelikož v později vydaných publikacích (např. Grulich, 2017) či veřejně přístupných internetových stránkách, je tento druh označen podle IUCN jako CR (Critically Endangered), tedy kriticky ohrožený druh. Ovšem v Červeném seznamu ohrožených druhů České republiky (národní kategorie ohrožení) je tento druh uveden podle IUCN jako C1b - kriticky ohrožený druh, vzácný a ustupující (Grulich, 2017; Pladias 3/3/2022). Mimo to je v České republice také uveden ve Vyhlášce č. 395/1992 Sb., zákona České národní rady č. 114/1992 Sb., o ochraně přírody a krajiny (příloha II a III) jako druh silně ohrožený (SO).

Uveden je také ve Směrnici Rady č. 92/43/EHS, o ochraně přírodních stanovišť, volně žijících živočichů a planě rostoucích rostlin (tvz. Směrnice o stanovištích), konkrétně v příloze II (vybrané druhy pro ČR – druhy živočichů a rostlin v zájmu společenství, jejichž ochrana vyžaduje vyznačení zvláštní územní ochrany); a příloze IV (vybrané druhy pro ČR – druhy živočichů a rostlin v zájmu společenství, které vyžadují přísnou ochranu). V poslední řadě *Luronium natans* spadá i pod ochraru Bernské úmluvy²⁴, přesněji do přílohy I (Přísně chráněné druhy rostlin) (ISOP, 3/3/2022).

²⁴ Úmluva o ochraně evropských planě rostoucích rostlin, volně žijících živočichů a přírodních stanovišť, jejímž cílem je chránit planě rostoucí rostliny a volně žijící živočichy celoevropského významu i jejich přírodní stanoviště (biotopy), a to zejména ohrožené druhy, stěhovavé druhy a druhy, jejichž ochrana vyžaduje spolupráci na celoevropské úrovni (ISOP, 3/3/2022)

2 Cíle práce

Cíl této diplomové práce byl definován jako: možnosti pohlavního a nepohlavního rozmnožování kriticky ohroženého žabníčku vzplývavého (*Luronium natans*) podle způsobu uchování semen genovou bankou a také dle způsobu přezimování rostlin.

Výsledek práce je významný pro Genofondovou skupinu při Unii botanických zahrad ČR, přičemž práce bude provedena na půdě jednoho ze zakládajících členů Genofondové skupiny – ve Sbírci vodních a mokřadních rostlin Botanického ústavu AV ČR, v.v.i v Třeboni, který bude výsledky aplikovat v metodice uchování již spravovaného genofondu vodních a mokřadních rostlin.

3 Materiál a metodika

3.1 Rostlinný materiál

Luronium natans – IPEN: CZ 0 HBT 2017.03634, populace z Královomlýnského rybníka vysazená v HBT od roku 1999.

Semena byla sbírána během vegetační sezóny z postupně dozrávajících jednotlivých květů. Po sběru byla semena následně skladována ve vodě ve tmě při konstantní teplotě +5 °C. Před uskladněním byla semena očištěna na sítu destilovanou vodou.

Plně dozralá (vyvinutá) semena byla spočítána. Podle celkového počtu semen a požadovaného počtu opakování pro experiment byla semena rozdělena na 10 skupin.

3.2 Experiment 1: Vliv skladování semen na klíčivost (A1)

Pro dlouhodobé skladování semen se v botanických zahradách nejčastěji používaná metoda zahrnující sušení a zmrazení, která je velice nízkonákladová. *Luronium natans* je vodní rostlina, která by po vysušení mohla mít problém s klíčivostí²⁵. Vysušení je pro zamrazení semen nutné²⁶ a taktéž podstatně prodlužuje schopnost klíčivosti semen²⁷. Testovány byly tři typy skladování:

- sušené a skladované v mrazáku při konstantní teplotě -20 °C,
- skladovány ve vodě chlazené v chladničce při konstantní teplotě +5 °C,
- sušené a skladované při pokojové teplotě (21 °C).

²⁵ Semena rostlin lze rozdělit na „ortodoxní“ a „vzdorovitá“ (angl. „recalcitrant“). Zatímco ortodoxní semena lze bezpečně usušit (vhodná hodnota obsažené vody se zredukuje na 12 %), skladovat a následně vyklíčit, tak semena vzdorovitá sušení snášejí špatně (semena musí obsahovat více vody) (Walters, 2020). Všechna semena tak mají určitou prahovou hodnotu obsahu vody, pod kterou se dalším sušením poškozuji (Walters, 2015).

²⁶ Pokud se semena před uskladněním neusuší (proces odstraňování vlhkosti za účelem konzervace), jsou semena poničena v důsledku ledovými krystalky vzniklých zmrazením přebytečné vody v semeni (Walters, 2020)

²⁷ Při procesu skladování je nutné zachovat životaschopnost semen. V semeni se tak molekuly stlačí, dokud nevytvoří „sklo“ (proces tzv. vitifikace, kdy se nevytvoří smrtící ledové krystalky, ale „sklovitý stav“). Tento proces nastává zejména u semen ortodoxních, které mají obsah vody 12 %. V případě, kdy je obsaženo více vody, je možné použít tekutý dusík, aby se hluboce zchladila cytoplazma, a mohl se tak zformovat „skelný stav“. V tomto, druhém případě u semen vzdorovitých, je následné skladování taktéž nutné v tekutém dusíku, aby se zabránilo zahřívání a možné následné tvorbě ledových krystalků. (Walters, 2020)

Dne 30. listopadu 2020 byla semena, která byla v experimentu určená pro sušení, sušena dva dny při konstantní teplotě 25 °C pomocí silikagelu²⁸. Všechna opakování byla vložena do plastových lahvíček (o objemu 75 mm) a polovina z nich byla vložena do mrazničky a skladována při konstantní teplotě -20 °C, druhá polovina lahvíček byla vložena do papírových sáčků a skladována při pokojové teplotě. Nesušená semena byla vložena do plastových lahvíček (75 mm) naplněných destilovanou vodou, které byly následně umístěny do chladničky a skladovány při konstantní teplotě +5 °C.

Po dvoudenním sušení semen následovalo mechanické ošetření semen, kdy byla polovina semen v lahvíčkách i Petriho miskách nařezána. Následně byly všechny lahvíčky naplněny destilovanou vodou a společně s Petriho miskami byly přesunuty do klimatizované místnosti s konstantní teplotou 18 °C, konstantními světelnými podmínkami a konstantním střídavým světelným režimem 12 hodin denně. Vzhledem k tomu, že podmínky v místnosti byly homogenní, nebylo třeba poskytovat speciální rozdělený prostorový návrh týkající se jednotlivých opakování kombinací skladování semen. Byl použit úplný návrh faktoriálu se třemi replikacemi, přičemž každá replikace obsahovala 20 semen.

Semena byla zkontrolována v intervalu jednoho týdne (7 dní) a klíčivost semen byla počítána v době ukončení experimentu (7. června 2021). Klíčivostí je v našem případě brán stav s viditelným kořenem, zezelenáním kotyledonu a okem rozlišitelným epikotylem.

Úplný model vlivu uchování semen je pro přehlednost shrnut zde:

- mrazeno – sušeno – prostředí oxické;
- mrazeno – sušeno – prostředí anoxické;
- chlazeno – sušeno – prostředí oxické;
- chlazeno – sušeno – prostředí anoxické;
- chlazeno – nesušeno – oxické;
- chlazeno – nesušeno – anoxické.

²⁸ Silikagel je vysoce porézní látka, která adsorbuje vodu (vlhkost) a funguje jako vysoušedlo. Základ silikagelu je tvořen oxidem křemičitým, který se vyrábí ze syntetického křemičitanu sodného. Po plném nasycení lze kuličky silikagelu znovupoužít, přičemž musejí být zahřáty na 120 až 130 °C (Wikipedia, 2021).

3.3 Experiment 2: Zkouška dormance (A2)

Podle předchozích studií byla dormance semen rostlin z řádu *Alismatales* (žabníkotvaré), kromě čeledi *Potamogetonaceae* (rdestovité), testována jen zřídka. Bylo zjištěno, že mnoho druhů druhu *Potamogeton* (rdest) má morfofyziologickou dormanci a nejpříbuznější druhy *Luronium* (*Alisma spp.*) vykazují v různých studiích různou formu dormance. Proto jsme se rozhodli otestovat u *Luronium natans* dormanci jak fyziologickou, tak morfologickou. Důležitým faktorem pro klíčivost rostlin vodních stanovišť je anoxické či oxické prostředí. Pro dormanci tedy byly testovány tři dvouúrovňové faktory.

Pro aerobní podmínky byly použity Petriho misky (120 x 20 mm), které byly naplněné sterilizovaným SiO₂ (oxid křemičitý). Semena byla zasetá na písek s filtračním papírem do Petriho misek. Anaerobního prostředí bylo dosaženo naplněním plastových lahviček (75 ml) destilovanou vodou s přimícháním lihu. Fyziologická dormance byla testována použitím kyseliny giberelové v poměru 0,1 g/l. Morfologická dormance byla testována narušením (skarifikací) semen. Byl použit úplný návrh faktoriálu se třemi opakováními, přičemž každé opakování obsahovalo 20 semen.

Petriho misky a lahvičky se semeny byly umístěny do místnosti s kontrolovanými podmínkami – s konstantní teplotou 18 °C, konstantními světelnými podmínkami a konstantním střídavým režimem (12 hodin denně). Vzhledem k tomu, že podmínky v místnosti byly homogenní, nebylo třeba poskytovat speciální rozdělený prostorový návrh týkající se jednotlivých opakování mající stejnou kombinaci skladování semen.

Experiment byl zahájen 30. listopadu 2020 a ukončen 31. ledna 2021. Semena byla kontrolována v týdenním intervalu (7 dní), jejich klíčivost byla zapsána a v době ukončení experimentu vyhodnocena. Klíčivostí je v našem případě brán stav s viditelným kořenem, zezelenáním kotyledonu a okem rozlišitelným epikotylem.

Úplný model klíčivosti, tedy pro experiment A2 (a případně i A1 viz výše), je pro přehlednost shrnut zde:

- klíčení bez zásahu – aerobní;
- klíčení bez zásahu – anaerobní;
- klíčení s kyselinou giberelovou – aerobní;
- klíčení s kyselinou giberelovou – anaerobní;
- klíčení s nařezáním – aerobní;
- klíčení s nařezáním – anaerobní;

-
- klíčení s kyselinou gibberelovou i s nařezáním – aerobní;
 - klíčení s kyselinou gibberelovou i s nařezáním – anaerobní.

3.4 Experiment 3: Následné pěstování rostlin vypěstovaných ze semen (A3)

Vzhledem k tomu, že cílem botanické zahrady je vysadit sazenice za účelem získání generativně množených populací, bylo 24 vybraných sazenic z předchozího experimentu (A2) (stejná velikost a vitalita = s dostatečně vyvinutými kořeny a jedním pravým listem) přemístěno do květináčů o rozměrech 10x10x10x cm se směsí písku, rašeliny a zahradního substrátu (poměr 1:1:1). Z venkovního prostředí je známo, že rostliny prosperují jak ponořené, tak terestrické (suchozemské, vynořené). Otázkou je, co je pro sazenice lepší, a proto jsme dále testovali dopad prostředí výsadby na vitalitu rostlin. Rostliny v květináčích byly vysazeny ve vodní nádrži ve venkovním prostředí – 12 ponořených (povrch půdy v hloubce 10 cm pod hladinou), 12 terestrických (hladina vody 1 cm pod povrchem půdy). Květináče obou typů byly náhodně umístěny v nádrži 7. června 2021. Hladina vody byla udržována ve stejné výšce až do konce růstové sezóny. Prosperita rostlin byla měřena 1. listopadu 2021 počtem listů, počtem květů a počtem nových růžic rostoucích z matečných rostlin.

Všech 12 ponořených rostlin bylo k 1. listopadu 2021 naživu, nicméně 4 z 12 vynořených rostlin zemřely do 1. listopadu 2021.

3.5 Experiment 4: Přezimování rostlin vypěstovaných ze semen (A4)

Vzhledem k tomu, že je *Luronium natans* atlantickým až subatlantickým druhem, mohla by východoevropská zima způsobovat vážné poškození rostlin. Přezimování rostlin je tedy pro množení klíčové. Pro pokus byly použity rostliny z předchozího experimentu. Přes zimu byly rostliny ponechány ve venkovních prostorech v nádržích, přičemž byly vystaveny rozdílnému prostředí – 12 ponořených rostlin a 8 vynořených rostlin.

3.6 Experiment 5: Vegetativní rozmnožování (B1)

Luronium natans se vegetativně rozmnožuje snadno dceřinými růžicemi. Toto byl nejjednodušší způsob šíření i v botanických zahradách – proto byly dceřiné růžice použity pro testování možností vegetativního množení v podmínkách ex-situ.

Stejně jako v našem předchozím experimentu by úspěch vegetativního množení mohl být ovlivněn prostředím, v jakém jsou nové rostliny vysazeny – ponořeny nebo vynořeny. Dalším faktorem je pořadí růžice na stolonu – obvykle je nejsilnější první růžice (je nejstarší na větvi) oproti ostatním růžicím a zejména té poslední (nejmladší).

Všechny růžice byly odebrány z jedné rostliny (aby byly stejného původu) a všechny růžice se objevily na stolonu z tohoto roku – to bylo zajištěno použitím jedné dochované rostliny z prvního experimentu. Rostliny byly podle dostupného množství růžic této rostliny rozděleny – z celkových 36 rostlin bylo 18 růžic zasazeno jako ponořených (povrch půdy v hloubce 10 cm pod hladinou) a 18 růžic jako vynořených (hladina vody 1 cm pod povrchem půdy). Rostliny byly vysazeny ve stejném substrátu a květináčích jako v předchozím experimentu. Ponořené a vynořené rostliny byly náhodně uspořádány do jedné vodní nádrže. Prosperita rostlin byla měřena stejně jako v předchozím experimentu – tedy počtem listů, počtem květů a počtem nových růžic rostoucích z matečných rostlin.

Růžice byly odebrány, až když bylo k dispozici dostatečné množství vyrostlých růžic, což bylo 28. června 2021. Všechny rostliny přežily až do konce vegetačního období (1. listopadu 2021).

3.7 Experiment 6: Přezimování rostlin vypěstovaných z růžic (B2)

Přezimování bylo testováno i u rostlin množných vegetativně. V případě generativního rozmnožování bylo k dispozici více rostlin a proto se polovina rostlin z každého prostředí vystavila tomu druhému prostředí – 9 ponořených rostlin bylo vynořeno a 9 vynořených rostlin bylo ponořeno ke dni 1. listopadu 2021. Tudíž byly k dispozici čtyři sady rostlin: (a) rostliny pěstované vynořené a přezimované vynořené; (b) rostliny pěstované vynořené a přezimované ponořené; (c) rostliny pěstované ponořené a přezimované ponořené; a (d) rostliny ponořené a přezimované vynořené.

4 Výsledky

4.1 Vyhodnocení experimentu 1: Vliv skladování semen na klíčivost (A1) (A1)

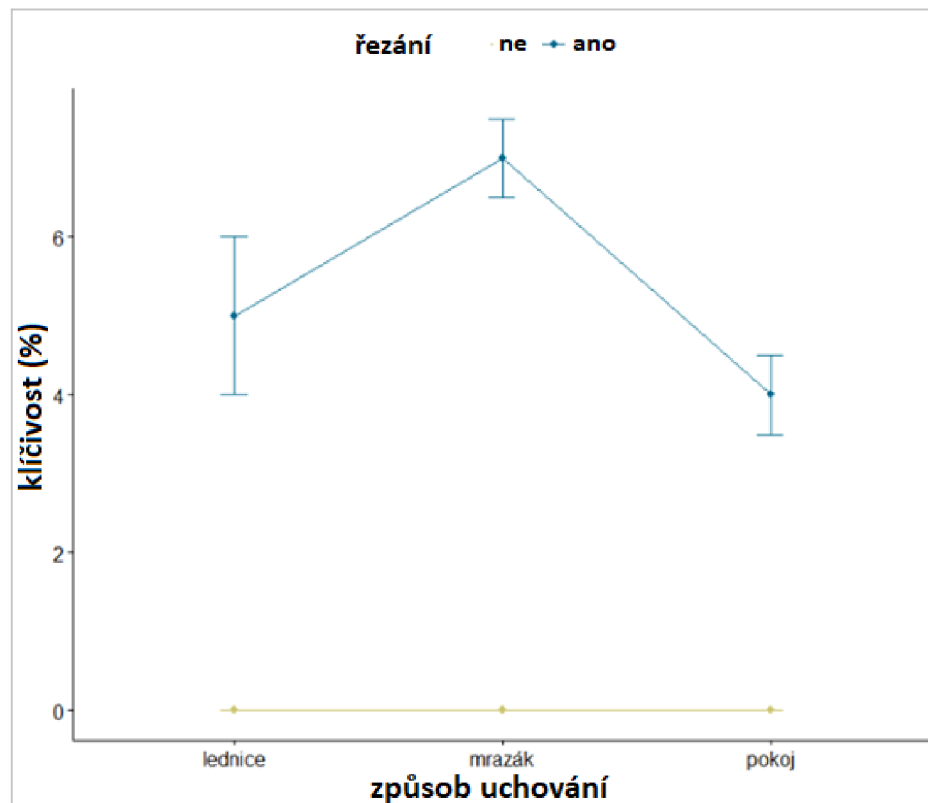
Experiment zahrnoval vyvážený úplný faktoriální design (typ skladování, řezání) se třemi opakováními. Vzhledem k tomu, že byla použita tři opakování s nenormálními distribučními daty, musely být použity jiné strategie než klasické inferenční metody založené na způsobech, jako je faktoriální ANOVA (Field and Wilcox 2017). Proto bylo využito robustní metody založené na chí-kvadrát rozdělení s upravenými stupni volnosti (Mair and Wilcox 2020). Pro statistickou analýzu našich dat byla použita funkce `t2way` z balíčku `WRS2` verze 1.1-3 (Mair et al. 2021) v softwaru R (Torfs and Brauer 2014). Post-hoc testování bylo provedeno funkcí `mcp2atm` ze stejného balíčku.

Tabulka 4.1: Výsledková tabulka experimentu 2 (a)
(value = hodnota statistiky; p.value = hodnota p neboli signifikance)

| | VALUE | P.VALUE |
|-----------------|----------|---------|
| UCHOVÁNÍ | 40.5556 | 0.002 |
| ŘEZÁNÍ | 450.6667 | 0.001 |
| UCHOVÁNÍ:ŘEZÁNÍ | 40.5556 | 0.002 |

Tabulka 4.2: Výsledková tabulka experimentu 2 (b: Post-hoc test)
(psihat = hodnota psihat; ci.lower = spodní mez intervalu spolehlivosti, ci.upper = horní mez intervalu spolehlivosti; p.value = hodnota p)

| | PSIHAT | CI.LOWER | CI.UPPER | P-VALUE |
|-------------------|-----------|-----------|-----------|---------|
| UCHOVÁNÍ1 | -1.66667 | -5.02554 | 1.69221 | 0.11315 |
| UCHOVÁNÍ2 | 1.33333 | -2.02554 | 4.69221 | 0.17342 |
| UCHOVÁNÍ3 | 3.00000 | 1.23695 | 4.76305 | 0.00313 |
| ŘEZÁNÍ1 | -17.33333 | -19.60029 | -15.06638 | 0.00003 |
| UCHOVÁNÍ1:ŘEZÁNÍ1 | 1.66667 | -1.69221 | 5.02554 | 0.11315 |
| UCHOVÁNÍ2:ŘEZÁNÍ1 | -1.33333 | -4.69221 | 2.02554 | 0.17342 |
| UCHOVÁNÍ3:ŘEZÁNÍ1 | -3.00000 | -4.76305 | -1.23695 | 0.00313 |



Graf 4.1: Vliv (1) způsobu uskladnění (uskladnění v lednici, mrazáku, při pokojové teplotě) a (2) narušení (narušeno – nenarušeno) semene na klíčivost.

Semena, která nebyla narušena, nevykazovala žádné známky klíčení a to bez ohledu na způsob uskladnění.

Naopak semena, která narušena byla, měla dobré výsledky v testu klíčivosti. Nejlepší vliv na klíčení mělo uchování sušených semen v mrazáku, kdy vyklíčilo přibližně 70 % semen, přičemž tento způsob je nejvhodnější variantou pro dlouhodobé skladování. Pro uchování semen do dalšího roku (není vhodné pro dlouhodobější skladování) je možné využít uskladnění semen v nesusušeném stavu ve vodě v ledničce. Tato varianta měla klíčivost cca 50 %. Jako nejméně vhodná varianta se ukázala varianta se skladováním sušených semen při pokojové teplotě, jelikož vyklíčilo pouze 40 % semen.

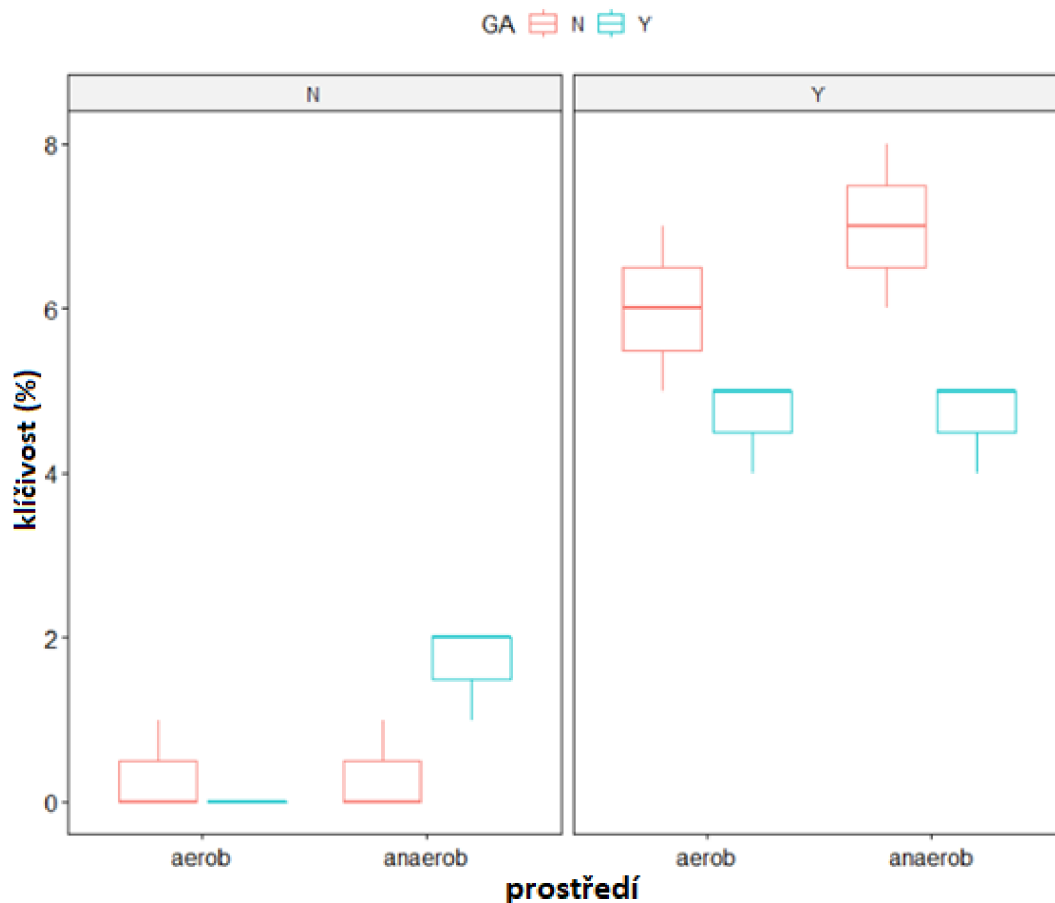
Jak se ukázalo, je značný rozdíl klíčivosti při uchování sušených semen při rozdílných teplotách. Z toho lze usoudit, že pro efektivnější uchování schopnosti klíčení je vhodnější využít uchování sušených semen při nízkých teplotách (-20 °C), nežli uchování při teplotách vysokých (+20 °C).

4.2 Vyhodnocení experimentu 2: Zkouška dormance (A2)

Experiment zahrnoval vyvážený úplný faktoriální design se třemi opakováními. Vzhledem k tomu, že byly použity tři opakování s nenormálními distribučními daty, musely být použity jiné strategie než klasické inferenční metody založené na způsobech, jež využívá faktoriální ANOVA (Field and Wilcox 2017). Proto bylo využito robustní metody založené na chí-kvadrát rozdělení s upravenými stupni volnosti (Mair and Wilcox 2020). Pro statistickou analýzu našich dat byla použita funkce `t3way` z balíčku `WRS2` verze 1.1-3 (Mair et al. 2021) v softwaru R (Torfs and Brauer 2014).

Tabulka 4.3: Výsledková tabulka experimentu 2
(value = hodnota statistiky; p.value = hodnota p neboli signifikance)

| | VALUE | P.VALUE |
|--------------|-------------|---------|
| ENVIR | 5.8181818 | 0.0330 |
| CUT | 327.2727273 | 0.0001 |
| GA | 5.8181818 | 0.0330 |
| ENVIR:CUT | 0.3636364 | 0.5590 |
| ENVIR:GA | 0.3636364 | 0.5590 |
| CUT:GA | 17.8181818 | 0.0010 |
| ENVIR:CUT:GA | 5.8181818 | 0.0330 |



Graf 4.2: Porovnání klíčivost v závislosti na (1) prostředí: s přístupem kyslíku neboli oxické prostředí (aerob) a bez přístupu kyslíku neboli anoxické prostředí (anaerob); (2) porovnání účinnosti použití kyseliny gibberelové: ne (N) a ano (Y); a (3) nařezání semen (porušení oplodí): levý sloupec bez narušení (N) a pravý sloupec s narušením (Y).

Semena *Luronium natans* mají silnou morfologickou dormanci, jelikož narušená semena měla výrazně vyšší klíčivost (viz Graf 1 – pravý sloupec), zatímco semena, která nebyla narušena, klíčila velice málo (viz Graf 1 – levý sloupec).

Použití kyseliny gibberelové na semena mělo vliv na klíčení pouze v případě semen, která nebyla mechanicky narušena. Naopak u semen, která byla vystavena narušení, byl vliv kyseliny gibberelové opačný – semena vykazovala sníženou schopnost klíčení (bez ohledu na vystavené prostředí).

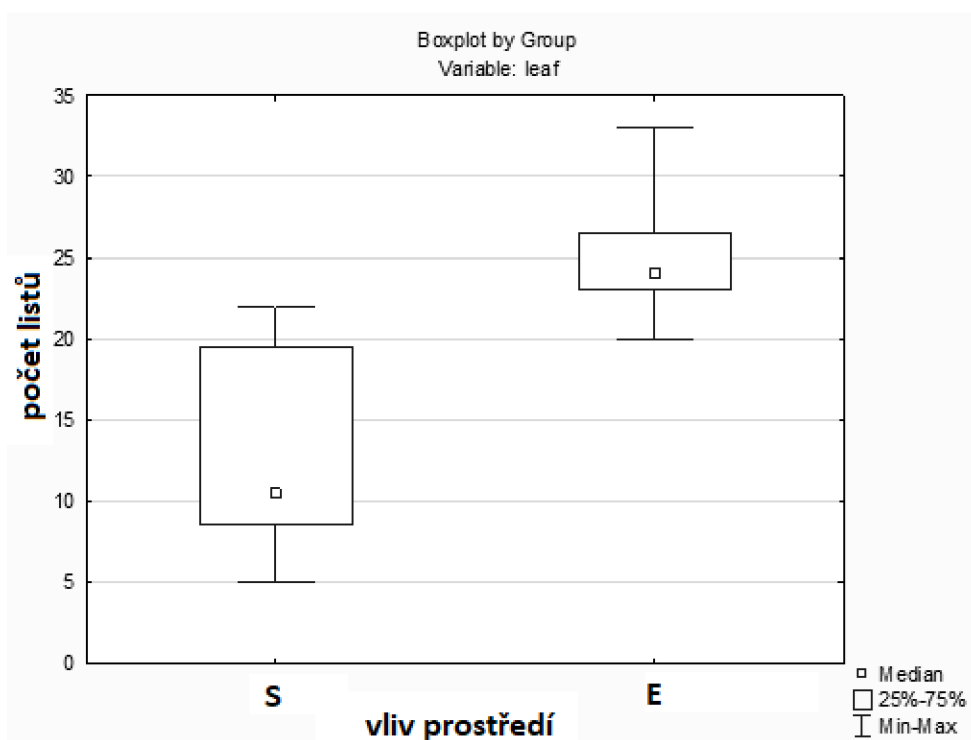
Semena vystavená prostředí bez kyslíku (anoxické prostředí) vykazovala vyšší klíčivost oproti prostředí s přístupem kyslíku.

Pro snadnější rozmnožování *Luronium natans*, je dle těchto výsledků, signifikantním znakem výsledek, že mechanické narušení semene má výrazně vyšší účinnost na klíčení než použití kyseliny gibberelové. Pro organizace pěstující tento druh to navíc znamená snížení nákladů při samotném klíčení.

4.3 Vyhodnocení experimentu 3: Následné pěstování rostlin vypěstovaných ze semen (A3)

Vliv ponoření/vynoření rostliny na její prosperitu byl testován pomocí Mann-Whitneyho testu, protože byly získány nenormální údaje. Stanovení přežití bylo provedeno Fisherovým přesným testem.

Z hodnot odebraných při pěstování ponořených/vynořených rostlin lze vyvodit několik závěrů: (1) pro *Luronium natans* se zdá být vhodnější pěstování ve vodě (fisher $p = 0,0466$), tedy jako ponořenou rostlinu; (2) není prokázán vliv prostředí na počet květů ($U = 47,5$, $p = 1$) ani na počet dceřiných růžic ($U = 43,5$, $p = 0,758$); (3) je značný rozdíl v počtu listů ($U = 2,5$, $p = 0,0005$) – terestrické rostliny mají více listů oproti rostlinám ponořeným.



Graf 4.3: Vliv prostředí (S = submerzní, ponořené; E = emerzní, vynořené) při pěstování rostlin *Luronium natans* na množství listů.

Z pokusu (i z Grafu 4.3) je patrné, že vynořené rostliny mají téměř o 50 % více listů než rostliny ponořené. Tento znak však není důležitý ani pro generativní (květy), ani pro vegetativní (dceřiné růžice) množení. Hodnoty počtu květů a dceřiných růžic se avšak mezi ponořenými a vynořenými rostlinami neliší a není tudíž zásadní, jaké prostředí populace druhu osidluje.

4.4 Výsledky experimentu 4: Přezimování rostlin vypěstovaných ze semen (A4)

Úspěšné přezimování bylo zaznamenáno 24.3.2022. Rostliny, které byly v době přezimování vystaveny vodnímu prostředí (byly ponořené), přežily zimu všechny (100 % úspěšné). Avšak rostliny, které byly přes zimu vynořené, měly nižší úspěšnost přezimování – přežilo 5 rostlin z 8 (62 %), které byly ještě na podzim roku 2021 živé. Experiment byl vyhodnocen i Fisherovým testem: fisher $p = 0,0491$.

4.5 Vyhodnocení experimentu 5: Vegetativní rozmnožování (B1)

Experiment v roce 2021 zahrnoval vyvážený (pořadí růžice – první, střední, poslední; ponořený/vynořený) plný dvoufaktoriální design. Vzhledem k tomu, že byly použity tři opakování s nenormálními distribučními daty, musely být použity jiné strategie než klasické inferenční metody založené na způsobech, jako je faktoriální ANOVA (Field and Wilcox 2017). Proto bylo využito robustní metody založené na chí-kvadrát rozdělení s upravenými stupni volnosti (Mair and Wilcox 2020). Pro statistickou analýzu našich dat byla použita funkce `t2way` z balíčku `WRS2` verze 1.1-3 (Mair et al. 2021) v softwaru R (Torfs and Brauer 2014). Post-hoc testování bylo provedeno funkcí `mcp2atm` ze stejného balíčku. Rozdíly mezi vynořenými a ponořenými rostlinami byly testovány Fisherovým přesným testem.

Výsledky:

Typ 1 = vynořený/ponořený

Typ 2 = hodnota bývalé růžice

4.5.1 Výsledky – růžice

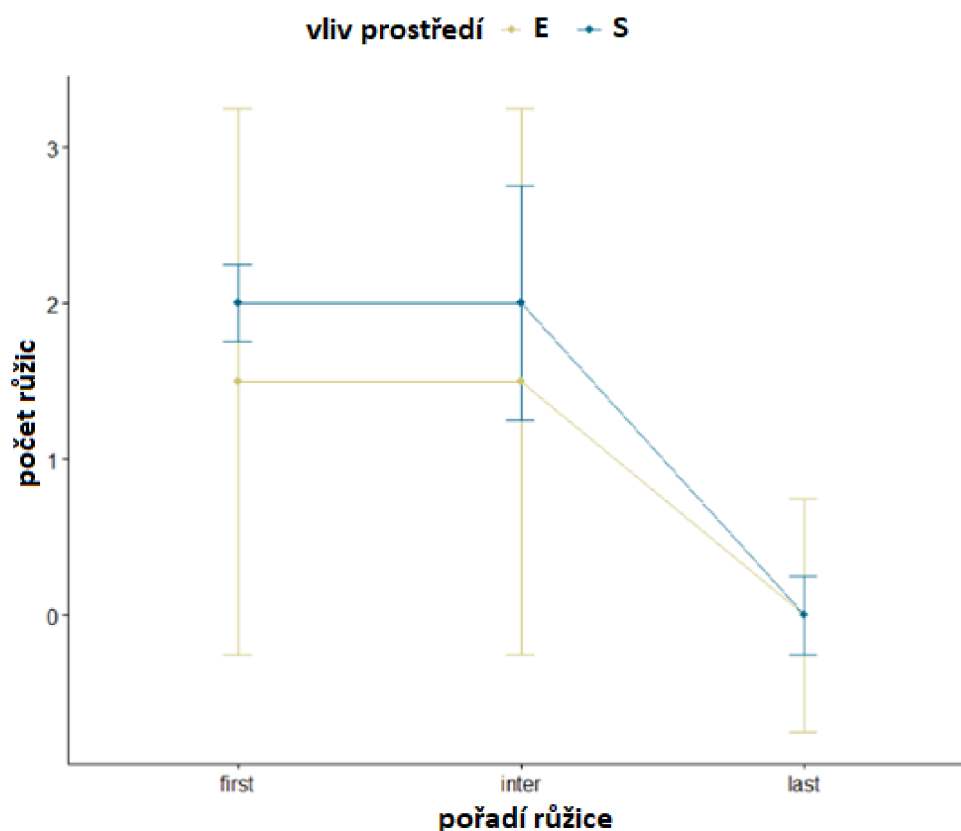
Vliv prostředí (ponoření nebo vynoření) nemá vliv na počet (tvorbu) dceřiných růžic. Avšak růžice odebrané blíže k matečné rostlině měly více vlastních dceřiných růžic, zatímco u nejbližších růžic odebraných z matečné rostliny bylo podstatně méně růžic (– tedy nejlepší schopnost tvorby dceřiných růžic mají odebrané růžice, které jsou nejbližší matečné rostlině).

Tabulka 4.4: Výsledková tabulka experimentu 5 (a)
(value = hodnota statistiky; p.value = hodnota p neboli signifikance)

| | VALUE | P.VALUE |
|-----------|---------|---------|
| TYP1 | 1,0557 | 0,326 |
| TYP2 | 23.6201 | 0.002 |
| TYP1:TYP2 | 0,7254 | 0,725 |

Tabulka 4.5: Výsledková tabulka experimentu 5 (b: Post-hoc test)
(psihat = hodnota psihat; ci.lower = spodní mez intervalu spolehlivosti, ci.upper = horní mez intervalu spolehlivosti; p.value = hodnota p)

| | PSIHAT | CI.LOWER | CI.UPPER | P-VALUE |
|-------------|----------|----------|----------|---------|
| TYP11 | -1,08333 | -3,41282 | 1,24616 | 0,32693 |
| TYP21 | 0,91667 | -1,95291 | 3,78625 | 0,37173 |
| TYP22 | 3,50000 | 1,02756 | 5,97244 | 0,00358 |
| TYP23 | 2,58333 | 0,11489 | 5,05178 | 0,01506 |
| TYP11:TYP21 | 0,08333 | -2,78625 | 2,95291 | 0,93356 |
| TYP11:TYP22 | -0,50000 | -2,97244 | 1,97244 | 0,55227 |
| TYP11:TYP23 | -0,58333 | -3,05178 | 1,88511 | 0,49195 |



Graf 4.4: Vliv prostředí (S = submerzní, ponořené; E = emerzní, vynořené) a pořadí růžice odebrané ze stolonu (pořadí růžice: first – první; inter – prostřední, přičemž těchto více růžic může být více než 1; last – poslední) na počet nových dceřiných růžic.

4.5.2 Výsledky – květy

Počet květů není nijak ovlivněn ani prostředím, ve kterém se rostlina nachází (ponořené, vynořené), ani pořadím růžic, které byly vytvořeny na matečné rostlině a následně odebrány).

Tabulka 4.6: Výsledková tabulka experimentu 5 (c)
(value = hodnota statistiky; p.value = hodnota p neboli signifikance)

| | VALUE | P.VALUE |
|-----------|--------|---------|
| TYP1 | 0,1683 | 0,691 |
| TYP2 | 6.2609 | 0.100 |
| TYP1:TYP2 | 1,5017 | 0,524 |

4.5.3 Výsledky – listy

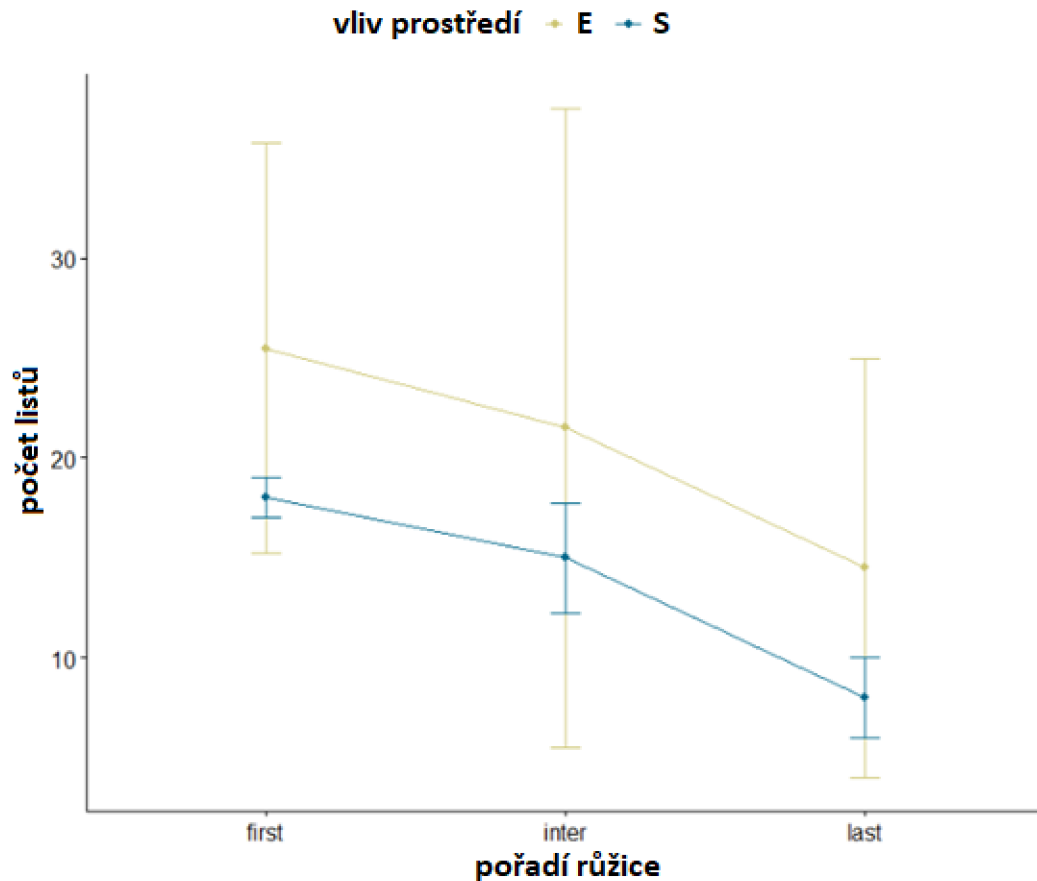
Rostliny, které vznikly jako růžice (vegetativní rozmnožování), a které byly pěstované jako vynořené, měly více listů než rostliny ponořené. Tento výsledek je stejný jako u rostlin vypěstovaných ze semen (viz Experiment 3). Počet listů je závislý na pořadí růžice, přičemž první růžice mají nejvíce listů a poslední růžice mají nejméně listů.

Tabulka 4.7: Výsledková tabulka experimentu 5 (d)
(value = hodnota statistiky; p.value = hodnota p neboli signifikance)

| | VALUE | P.VALUE |
|-----------|---------|---------|
| TYP1 | 5,1609 | 0,045 |
| TYP2 | 14,1863 | 0,016 |
| TYP1:TYP2 | 0,2302 | 0,902 |

Tabulka 4.8: Výsledková tabulka experimentu 5 (e: Post-hoc test)
(psihat = hodnota psihat; ci.lower = spodní mez intervalu spolehlivosti, ci.upper = horní mez intervalu spolehlivosti; p.value = hodnota p)

| | PSIHAT | CI.LOWER | CI.UPPER | P-VALUE |
|-------------|--------|-----------|----------|---------|
| TYP11 | 18,25 | 0,06287 | 36,43713 | 0,04937 |
| TYP21 | 5,75 | -16,56626 | 28,06626 | 0,43604 |
| TYP22 | 21,25 | 4,06848 | 38,43152 | 0,00656 |
| TYP23 | 15,50 | -6,75440 | 37,75440 | 0,06828 |
| TYP11:TYP21 | -1,25 | -23,56626 | 21,06626 | 0,86180 |
| TYP11:TYP22 | -2,75 | -19,93152 | 14,43152 | 0,64493 |
| TYP11:TYP23 | -1,50 | -23,75440 | 20,75440 | 0,83752 |



Graf 4.5: Vliv prostředí (S = submerzní, ponořené; E = emerzní, vynořené) a vliv pořadí růžice (first = první růžice; inter = prostředí růžice, přičemž těchto více růžic může být více než 1; last = poslední růžice) na počet vytvořených listů.

4.6 Výsledky experimentu 6: Přezimování rostlin vypěstovaných z růžic (B2)

Rostliny ze sady *b* (rostliny pěstované vynořené a přezimované ponořené) a *c* (rostliny pěstované ponořené a přezimované ponořené), tedy rostliny, které byly přezimované ve vodě (ponořené), přežily všechny. Rostliny pěstované po celou dobu jako vynořené (sada *a*) měly nižší úspěšnost přezimování – přežilo 6 rostlin z 9. Rostliny, které byly pěstované ponořené a před přezimováním byly vynořeny (sada *d*), měly nejnižší úspěšnost přezimování – přežilo jen 5 z 9 rostlin.

Z pozorování a výsledků vyplývá, že 7 z 18 rostlin, které byly přezimované jako vynořené, nepřežilo. To je statisticky významné (0,03751). Naopak překvapivě žádná rostlina, jež byla přes zimu ponořená, neuhynula.

5 Diskuse

Navzdory prvotním obavám uskladnění sušených semen při nízkých teplotách (mrazák), byla výsledná klíčivost semen velmi dobrá (cca 70 %) a navíc i nejlepší ze všech variant (uchování v mrazáku > v lednici > při pokojové teplotě). Tudíž lze *Luronium natans* považovat za druh vhodný ke skladovatelní v mrazáku tímto způsobem i po delší časové období.

Průměrná míra klíčivosti byla za neoptimalnějších podmínek (s narušením osemení) cca 55 %. Tímto výsledkem experimentu můžeme zcela podpořit Nielsena (2006 a), který uvedl průměrnou klíčivost *Luronium natans* mezi 51-60 %. Výrazně lepší klíčivost byla zaznamenána u semen, kterým bylo mechanicky narušeno osemení (průměrně 60 %), než u semen bez tohoto ošetření (průměrně pouze 7 %). Také se ukázalo, že pro klíčivost není významné, zda semena klíčí v prostředí s nebo bez přístupu kyslíku (rozdíl cca 10 % ve prospěch prostředí bez přístupu kyslíku).

Pro zlepšení klíčivosti lze u čeledi *Alismataceae* klíčit semena v mělké vodě a při teplotě 25 °C přes den, přičemž oba tyto faktory byly u tohoto experimentu dodrženy. U jiného druhu z čeledi *Alismataceae*, *Alisma gramineum* (žabník trávolistý), lze klíčivost zvýšit pomocí chladné a vlhké stratifikace (Hroudová, 2004). I tento faktor byl v experimentu zohledněn (uchování v ledničce ve vodě) a ukázal dobré výsledky (50 %). Podle Hroudové (2004) je u *Alisma gramineum* vhodné klíčení ve tmě, avšak v tomto pokusu jsme tento faktor nevyzkoušeli. Avšak může být předmětem dalšího zkoumání *Luronium natans*.

Semena rostlin lze ošetřit různými přípravky, např. kyselinou giberelovou, které prolamují dormanci a zlepšují klíčivost. Naše výsledky ukázaly, že kyselina giberelová zlepšila klíčivost (až o 20 %), avšak jen u semen, které nebyly mechanicky narušeny (skarifikace). Zatímco u těch semen, která mechanickým poškozením prošla, měla kyselina giberelová spíše negativní účinek a klíčivost byla nižší (až o 20 %).

Jak již uvedl Cox (2014; 2016), *Luronium natans* má vysokou produkci klonů. S tím je nutné souhlasit. U ponořených i vynořených rostlin je produkce klonálních dceřiných růžic dobrá (průměrně 1,3). Avšak je rozdílná vitalita jednotlivých růžic – růžice situované na stolonu nejbližší k matečné rostlině vykazují nejlepší schopnost vytváření nových růžic, zatímco růžice poslední v pořadí vytvářejí růžic méně (v době pozorování měly první růžice většinou 2 růžice, zatímco poslední růžicím obvykle nevyrostly žádné nové růžice).

Přezimování rostlin, vzešlých ze semen (generativně) i dceřiných růžic (vegetativně), bylo výrazně úspěšnějších (100 % přežití) u rostlin, které byly přes zimu ponořené ve vodě v hloubce 10 cm. Naopak uhynulo 7 z 18 rostlin (cca 40 %), které byly během zimy neponořené. Z toho vyplývá, že vhodnější variantou pro přezimování rostlin druhu *Luronium natans* je pěstování ponořených rostlin, což však v ex-situ podmínkách může způsobovat potíže, jelikož led může poškodit nádrže. Podle Hroudové (2004 by Hroudová a Zákřavský, 1998) rostliny v mělké vodě či vlhkém bahně přes zimu velmi často odumírají. V našem případě je však možné, že vysoké procento přežití je dáno mírnou zimou.

Podle Hroudové (2004 by Wayda, 1997) rostlina *Alisma gramineum* (žabník trávolistý), tedy rostlina ekologicky i morfologicky velice podobná druhu *Luronium natans*, produkuje více semen, pokud je rostlina pěstována jako vodní forma (ponořená). Výsledky tohoto experimentu u druhu *Luronium natans* nemohly tento projev potvrdit ani vyvrátit, jelikož forma ponořená i vynořená produkovala stejný počet květů. Avšak rostliny pěstované jako vynořené (ať z generativního i vegetativního²⁹ rozmnožování) měly až o 6 listů více (průměrně o 58 % více listů) než rostliny ponořené.

²⁹ Zde se jedná o počet listů růžic

6 Závěr

První část této práce byla věnována rešerši o popisu druhu, jeho ekologickým požadavkům, rozšíření, rozmnožování generativnímu i vegetativnímu, i problematice ohrožení druhu a jeho ochraně. Zároveň zde byly popsány i možnosti klíčení a pěstování rostlin čeledi *Alismataceae*, do které spadá i *Luronium natans*.

Cíl této diplomové práce byl definován jako: možnosti pohlavního a nepohlavního rozmnožování kriticky ohroženého žabníčku vzplývavého (*Luronium natans*) podle způsobu uchování semen genovou bankou a také dle způsobu přezimování rostlin.

Praktická část práce byla zaměřena na vlastní experiment, který proběhl v prostorech Sbírký vodních a mokřadních rostlin Botanického ústavu AV ČR, v.v.i v Třeboni mezi lety 2020 a 2022. Po sběru dat byly výsledky statisticky vyhodnoceny.

U sledovaného druhu *Luronium natans* se ukázalo, že nejlepším způsobem pro uchování semen je usušení a uskladnění v mrazáku (-20 °C), kdy klíčivost dosáhla 70 %. Tento způsob uchování semen je finančně i pracovně velmi nenáročný, což je pro Sbírký vodních a mokřadních rostlin Botanického ústavu AV ČR, v.v.i v Třeboni velice vhodné a také je tento způsob možný pro dlouhodobější uskladnění bez značného poklesu schopnosti klíčení. Méně úspěšné varianty uskladnění byly uskladnění nesusšených semen v ledničce (50 %) a uskladnění sušených semen při pokojové teplotě (40 %).

Uskladněná semena (varianta sušená, uchování při teplotě -20 °C) byla na jaře mechanicky narušena. U těchto semen byla zaznamenána nejvyšší klíčivost. Tato varianta byla navíc vystavena rozdílnému vlivu prostředí a to s přístupem nebo bez přístupu kyslíku. Ukázalo se, že vhodnější varianta je bez přístupu kyslíku (klíčivost 70 %) oproti variantě s přístupem kyslíku (klíčivost 60 %). Naopak semena, která nebyla mechanicky narušena vykazovala velmi nízkou klíčivost (7 %). Kromě mechanického narušení byla semena vystavena i působení kyseliny giberelové. Tato látka stimulující proces klíčení měla pozitivní vliv na semena, která nebyla mechanicky ošetřena a zároveň byla vystavena anoxickému prostředí (bez kyslíku), kdy klíčivost stoupla ze 7 na 15 %. Překvapivě však měla kyselina giberelová negativní vliv na klíčení u semen, která byla mechanicky narušena a jejich klíčivost se snížila o 20 %.

Po vyklíčení byly rostlinky přesazeny do květináčů se substrátem a následně umístěny do nádrže s vodou, kde rostliny byly pěstované jako ponořené (povrch půdy

v hloubce 10 cm pod hladinou) a vnořené (hladina vody 1 cm pod povrchem půdy). Tento pokus ukázal, že rostliny pěstované jako vnořené mají větší počet listů (o téměř 60 %). Naopak nebyl zaznamenán žádný výrazný rozdíl mezi variantami na schopnost tvorby květů a dceřiných růžic (průměrný počet nově vzniklých růžic: 1,3).

Dceřiné růžice odebrané z rostlin pocházejících ze semen byly vysazeny do květináčů a byly umístěny do kádí jako ponořené (povrch půdy v hloubce 10 cm pod hladinou) a vnořené (hladina vody 1 cm pod povrchem půdy). U těchto vysazených růžic se ukázalo, že čím blíže matečné rostlině byla růžice odebrána (ze stolonu), tím lepší měla schopnost tvořit vlastní růžice.

Poslední součástí experimentu bylo i posouzení schopnosti přezimování rostlin v různých prostředích – ve vodě (ponořené) nebo na substrátu (vnořené). Ukázalo se, že všechny rostliny, které byly ponořeny, přežily. U vnořených rostlin uhynulo 40 % rostlin. Tudíž je efektivnější přezimování rostlin ve vodě, avšak tento způsob může být problematický z hlediska poškození nádrže ledem. Avšak míra přežití rostlin mohla být ovlivněna mírnou zimou, jelikož uhynulo jen málo rostlin.

7 Seznam použité literatury

7.1 Citace publikací vědeckých

Barrat-Segretain, M. H., Bornette, G., & Hering-Vilas-Bôas, A. (1998). Comparative abilities of vegetative regeneration among aquatic plants growing in disturbed habitats. *Aquatic botany*, 60(3), 201-211.

Barrat-Segretain, M. H., Henry, C. P., & Bornette, G. (1999). Regeneration and colonization of aquatic plant fragments in relation to the disturbance frequency of their habitats. *Archiv für Hydrobiologie*, 111-127.

Baskin, C. C., & Baskin, J. M. (1998). *Seeds: ecology, biogeography, and, evolution of dormancy and germination*. Elsevier.

Bazydło, E. (2004). Effect of environmental conditions on the populations of *Luronium natans* (L.) Raf. *Polish Journal of Ecology*, 52(2), 181-189.

Bazydło, E., & Szmeja, J. (2004). Effect of pH, dissolved organic carbon and total phosphorus concentrations on selected life history traits of *Luronium natans* [L.] Raf. *Polish Journal of Ecology*, 2(52).

Cox, K., Leyssen, A., Mergeay, J., Ronse, A., Packet, J., & Denys, L. (2014). Genetic assessment of *Luronium natans* in lower Belgium. *Analysis of population connectivity in an aquatic perennial. Rapport Instituut voor Natuur-en Bosonderzoek INBO R*.

Doležal, J., Kučerová, A., Jandová, V., Klimeš, A., Říha, P., Adamec, L., & Schweingruber, F. H. (2021). Anatomical adaptations in aquatic and wetland dicot plants: Disentangling the environmental, morphological and evolutionary signals. *Environmental and Experimental Botany*, 187, 104495.

Greulich, S., & Bornette, G. (1999). Competitive abilities and related strategies in four aquatic plant species from an intermediately disturbed habitat. *Freshwater Biology*, 41(3), 493-506.

Greulich, S., Bornette, G., & Amoros, C. (2000). Persistence of a rare aquatic species along gradients of disturbance and sediment richness. *Journal of Vegetation Science*, 11(3), 415-424.

Greulich, S., Barrat-Segretain, M. H., & Bornette, G. (2001). Basal rosette or floating leaf canopy—an example of plasticity in a rare aquatic macrophyte. *Hydrobiologia*, 448(1), 53-59.

Grulich, V., Chobot, K., & Plesník, J. (2017). Červený seznam ohrožených druhů České republiky: CÉVNATÉ ROSTLINY: Red List of Threatened Species of Czech Republic: VASCULAR PLANTS. *Příroda*, 1-178.

Hejny, S. (2000). *Rostliny vod a pobřeží*. East West Publishing Company. ISBN 80-7219-000-8.

Hroudová, Z., & Zákavský, P. (1998). Vliv výšky vodní hladiny na vývoj semenáčků *Alisma gramineum*. *Zprávy Českoslov. Bot. Společn.*, 33, 219-226.

Hroudová, Z., Zákavský, P., & Cechurová, O. (2004). Germination of seed of *Alisma gramineum* and its distribution in the Czech Republic. *Preslia*, 76(2), 97-118.

Hyltgaard, B., & Brix, H. (2011). Plasticity in carbon acquisition of the heterophyllous *Luronium natans*: An endangered freshwater species in Europe. *Aquatic botany*, 94(3), 127-133.

Chmara, R., & Rekowska, E. (2020). Nowe stanowiska *Luronium natans* (Alismataceae) w Polsce. *Fragmenta Floristica et Geobotanica Polonica*, 27(2).

Chytrý, M., Kučera, T., Kočí, M., Grulich, V., Lustyk, P., Šumberová, K., ... & Husák, Š. (2010). *Katalog biotopů České republiky. Druhé vydání*. Agentura ochrany přírody a krajiny ČR.

Chytrý, M., Šumberová, K., Hájková, P., Hájek, M., Hroudová, Z., Navrátilová, J., ... & Kočí, M. (2011). *Vegetace České republiky 3. Vodní a mokřadní vegetace*. Academia.

Kaul, R. B. (1978). Morphology of germination and establishment of aquatic seedlings in Alismataceae and Hydrocharitaceae. *Aquatic Botany*, 5, 139-147.

Kay, Q. O. N., John, R. F., & Jones, R. A. (1999). Biology, genetic variation and conservation of *Luronium natans* (L.) Raf. in Britain and Ireland. *Watsonia*, 22(4), 301-316.

Kočí, V., Burkhard, J., & Maršálek, B. (2000). Eutrofizace na přelomu tisíciletí. *Eutrofizace 2000*, 10, 3-13.

Kozłowski, G., & Vallelian, S. (2009). Eutrophication and endangered aquatic plants: an experimental study on *Baldellia ranunculoides* (L.) Parl.(Alismataceae). *Hydrobiologia*, 635(1), 181-187.

Lansdown, R. V., & Wade, P. M. (2003). Ecology of the Floating Water-plantain *Luronium natans*. Conserving Natura 2000 Rivers. *Ecology Series*, 9.

Moravcová, L., Zákřavský, P., & Hroudová, Z. (2001). Germination and seedling establishment in *Alisma gramineum*, *A. plantago-aquatica* and *A. lanceolatum* under different environmental conditions. *Folia Geobotanica*, 36(2), 131-146.

NIELSEN, Uffe N.; RIIS, Tenna; BRIX, Hans. The importance of vegetative and sexual dispersal of *Luronium natans*. *Aquatic Botany*, 2006, 84.2: 165-170.

Nielsen, U. N., Riis, T., & Brix, H. (2006). The effect of weed cutting on *Luronium natans*. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 16(4), 409-417.

Prausová, R., Sikorová, P., & Šafářová, L. (2015). Generative reproduction of long stalked pondweed (*Potamogeton praelongus* Wulfen) in the laboratory. *Aquatic Botany*, 120, 268-274.

Rodríguez-Arévalo, I., Mattana, E., García, L., Liu, U., Lira, R., Dávila, P., ... & Ulian, T. (2017). Conserving seeds of useful wild plants in Mexico: main issues and recommendations. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 64(6), 1141-1190.

ROMERO, M. I., RUBINOS, M., & RAMIL, P. (2004). *Luronium natans*, a rare species in the Iberian Peninsula. *Belgian Journal of Botany*, 85-90.

Ronse, A., Leyssen, A., Packet, J., & Denys, L. (2015). Past and present distribution of the rare aquatic plant *Luronium natans* (Alismataceae) in Belgium shows marked decline and bad conservation status. *Plant Ecology and Evolution*, 148(2), 160-170.

Silveira, F. A., Ribeiro, R. C., Soares, S., Rocha, D., & Oliveira, C. (2013). Physiological dormancy and seed germination inhibitors in *Miconia* (Melastomataceae). *Plant Ecology and Evolution*, 146(3), 290-294.

Sculthorpe, C. D. (1967). Biology of aquatic vascular plants.

Szańkowski, M., & Kłosowski, S. (2001). Habitat conditions of the phytocoenoses dominated by *Luronium natans* (L.) Rafin in Poland. *Hydrobiologia*, 455(1), 213-222.

Szmeja, J. Ó. Z. E. F., & Bazydło, E. (2005). The effect of water conditions on the phenology and age structure of *Luronium natans* [L.] Raf. populations. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 74(3).

Szmeja, J. (2014). *Luronium natans* (L.) Raf. Elisma wodna. – W: R. Kaźmierczakowa, K. Zarzycki & Z. Mirek (red.), Polska czerwona księga roślin, s. 556–557. Instytut Ochrony Przyrody, Polska Akademia Nauk, Kraków.

Štěpánková, J., Chrtek, J., & Kaplan, Z. (2010). *Květena České republiky*. Academia. Str. 296-307. ISBN 978-80-200-1824-3.

Walters, C. (2015). Orthodoxy, recalcitrance and in-between: describing variation in seed storage characteristics using threshold responses to water loss. *Planta*, 242(2), 397-406.

Wagner, E. J., & Oplinger, R. W. (2017). Effect of overwinter hydration, seed storage time, temperature, photoperiod, water depth, and scarification on seed germination of some *Schoenoplectus*, *Polygonum*, *Eleocharis* and *Alisma* species. *Aquatic Botany*, 136, 164-174.

Willby, N. J., & Eaton, J. W. (1993). The distribution, ecology and conservation of *Luronium natans* (L.) Raf. in Britain. *Journal of Aquatic Plant Management*, 31, 70-70.

Xiao, C., Wang, X., Xia, J., & Liu, G. (2010). The effect of temperature, water level and burial depth on seed germination of *Myriophyllum spicatum* and *Potamogeton malaianus*. *Aquatic Botany*, 92(1), 28-32.

7.2 Citace webových zdrojů

Dvořák, V., Koutecký, D (2022) Profil taxonu druhu *Luronium natans* (L.) Rafin., [online]; Biolib, 1999-2021 [cit. 13. 11. 2021]. Dostupné z:

<https://www.biolib.cz/cz/taxon/id41883/>

DBpedia, (2021). *Polykormon*. [online; cit. 2. 12. 2021]. Dostupné z:

<https://cs.dbpedia.org/page/Polykormon>

Discoverlife, (2021). *Map of distribution of Luronium natans*. [online; cit. 2. 12. 2021].

Dostupné z:

<https://www.discoverlife.org/mp/20m?r=.125&la=47.375&lo=11.25&kind=Luronium+natans&place=target>

ISOP – Portál informačního systému ochrany přírody, (2006–2022), Agentura ochrany přírody a krajiny ČR. *Luronium natans*. [online; cit. 3. 3. 2021]. Dostupné z:

https://portal.nature.cz/publik_syst/nd_nalez-public.php?idTaxon=38057

Lansdown, R.V. 2013. *Luronium natans*. The IUCN Red List of Threatened Species 2013: e.T162134A5547543. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2011-1.RLTS.T162134A5547543.en> [online; cit. 3. 3. 2021]. Dostupné z:

<https://www.iucnredlist.org/species/162134/5547543>

<https://www.iucnredlist.org/species/162134/5547543>

Linnaeus, 2021. *Map of distribution of Luronium natans*. [online; cit. 2. 12. 2021].

Dostupné z: <http://linnaeus.nrm.se/flora/mono/alismata/luron/luronat.html>,

<http://linnaeus.nrm.se/flora/mono/alismata/luron/luronatv.jpg>

Ministerstvo životního prostředí, 2008-2022. *Bernská úmluva*. [online; cit. 3. 3. 2021].

Dostupné z: https://www.mzp.cz/cz/bernska_umluva

Pladias – databáze české flóry a vegetace, (2014–2022). *Luronium natans – žabníček vzplývavý*. [online; cit. 27. 11. 2021]. Dostupné z:

<https://pladias.cz/taxon/overview/Luronium%20natans>

POWO, (2022). *Plants of the World Online*. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. *Luronium natans*. [online; cit. 7. 3. 2022]. Dostupné z:

<https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:58435-1>

Stevenson, Dennis Williams (2021). Ground tissue. *Britannica* [online; cit. 7. 3. 2022].
Dostupné z: <https://www.britannica.com/plant/angiosperm/Ground-tissue>

WALTERS, Christina (2020). The Difference between Orthodox, Intermediate, and Recalcitrant Seed. *Center for plants conservation* [online]. [cit. 2022-03-24].
Dostupné z: <https://www.biologydiscussion.com/plants/verbalization/orthodox-and-recalcitrant-seeds/23594>

Wikipedie, (2021). *Silikagel*. [online; cit. 20. 2. 2022]. Dostupné z:
<https://cs.wikipedia.org/wiki/Silikagel>

Wikipedie, (2021). *Životní strategie*. [online; cit. 3. 12. 2021]. Dostupné z:
https://cs.wikipedia.org/wiki/%C5%BDivotn%C3%AD_strategie#Strategie_populac%C3%AD_rostlin

8 Přílohy



Obrázek 8.1: Detailní fotografie rostliny pěstované ve vodě (ponořená forma), vegetativní rozmnožování. Foto © M. Hodková



Obrázek 8.2: Detailní fotografie rostliny pěstované na suchu (vynořená forma), vegetativní rozmnožování. Foto © M. Hodková



Obrázek 8.3: Detailní fotografie rostliny pěstované na suchu (vynořená forma), generativní rozmnožování. Foto © M. Hodková



Obrázek 8.4: Detailní fotografie rostliny pěstované ve vodě (ponořená forma), generativní rozmnožování. Foto © M. Hodková

Seznam obrázků

| | |
|--|----|
| Obrázek 7.1: Detailní fotografie rostliny pěstované ve vodě (ponořená forma), vegetativní rozmnožování. Foto © M. Hodková | 51 |
| Obrázek 7.2: Detailní fotografie rostliny pěstované na suchu (vynořená forma), vegetativní rozmnožování. Foto © M. Hodková | 51 |
| Obrázek 7.3: Detailní fotografie rostliny pěstované na suchu (vynořená forma), generativní rozmnožování. Foto © M. Hodková | 52 |
| Obrázek 7.4: Detailní fotografie rostliny pěstované ve vodě (ponořená forma), generativní rozmnožování. Foto © M. Hodková | 52 |

Seznam tabulek

| | |
|--|----|
| Tabulka 4.1: Výsledková tabulka experimentu 2 (a) | 32 |
| Tabulka 4.2: Výsledková tabulka experimentu 2 (b: Post-hoc test) | 32 |
| Tabulka 4.3: Výsledková tabulka experimentu 2..... | 34 |
| Tabulka 4.5: Výsledková tabulka experimentu 5 (a) | 38 |
| Tabulka 4.6: Výsledková tabulka experimentu 5 (b: Post-hoc test) | 38 |
| Tabulka 4.7: Výsledková tabulka experimentu 5 (c) | 39 |
| Tabulka 4.8: Výsledková tabulka experimentu 5 (d)..... | 39 |
| Tabulka 4.9: Výsledková tabulka experimentu 5 (e: Post-hoc test)..... | 39 |

Seznam grafů

- Graf 4.1: Vliv (1) způsobu uskladnění (uskladnění v lednici, mrazáku, při pokojové teplotě) a (2) narušení (narušeno – nenarušeno) semene na klíčivost..... 33
- Graf 4.2: Porovnání klíčivost v závislosti na (1) prostředí: s přístupem kyslíku neboli oxické prostředí (aerob) a bez přístupu kyslíku neboli anoxické prostředí (anaerob); (2) porovnání účinnosti použití kyseliny gibberelové: ne (N) a ano (Y); a (3) nařezání semen (porušení oplodí): levý sloupec bez narušení (N) a pravý sloupec s narušením (Y)..... 35
- Graf 4.3: Vliv prostředí (S = submerzní, ponořené; E = emerzní, vynořené) při pěstování rostlin *Luronium natans* na množství listů. 36
- Graf 4.4: Vliv prostředí (S = submerzní, ponořené; E = emerzní, vynořené) a pořadí růžice odebrané ze stolonu (pořadí růžice: first – první; inter – prostřední, přičemž těchto více růžic může být více než 1; last – poslední) na počet nových dceřiných růžic. 38
- Graf 4.5: Vliv prostředí (S = submerzní, ponořené; E = emerzní, vynořené) a vliv pořadí růžice (first = první růžice; inter = prostřední růžice, přičemž těchto více růžic může být více než 1; last = poslední růžice) na počet vytvořených listů. 40
-