

Přírodovědecká fakulta

Katedra botaniky



**Polyploidní okruh česneku ořešce (*Allium scorodoprasum* L.):
morfologie, mikromorfologie, sexuální a asexuální reprodukce**

Polyploidy of the sand leek (*Allium scorodoprasum* L.): morphological and micromorphological comparative study of cytotypes and evaluation of their sexual and asexual reproduction

Bakalářská práce

Iveta Haničáková

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie a ekologie

Forma studia: prezenční

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

Konzultant: **Mgr. Lucie Kobrlová, Ph.D.**

Olomouc 2023

Prohlašuji, že jsem zadanou bakalářskou práci vypracovala samostatně s použitím konzultací a citované literatury.

V Olomouci dne:

.....

Podpis

Poděkování:

Na prvním místě bych chtěla poděkovat především svému školiteli RNDr. Martinu Duchoslavovi, Ph.D., a to nejen za užitečné rady a pomoc při řešení různých problémů, ale také za čas a trpělivost, kterou věnoval této bakalářské práci. Mé poděkování dále patří konzultantce této práce Mgr. Lucii Kobrlové, Ph.D. za odbornou pomoc při morfometrice a čas, který mi v průběhu celého studia věnovala. Dále děkuji Mgr. Martině Oulehlové, Ph.D. za odborné rady a postupy při studiu znaků anatomických a morfologických. V neposlední řadě patří velký dík všem pracovníkům Katedry botaniky, kteří mi v průběhu studia pomáhali a mé rodině a přátelům za jejich podporu a trpělivost po celou dobu studia.

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora: Iveta Haničáková

Název práce: Polyploidní okruh česneku ořešce (*Allium scorodoprasum* L.): morfologie, mikromorfologie, sexuální a asexuální reprodukce

Typ práce: bakalářská

Pracoviště: Katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci

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

Rok obhajoby: 2023

Abstrakt:

Allium scorodoprasum je polyploidním komplexem tří cytotypů (di-, tri- a tetraploidního). Doposud se ale v tomto komplexu ví jen velmi málo o vztahu ploidního stupně a morfo- a mikromorfologických znaků. K testování hypotézy tzv. „gigas efektu“ a k nalezení rozdílů mezi jednotlivými cytotypy byla použita morfologická a anatomická analýza 38 kvantitativních a 14 kvalitativních znaků, zjišťovaných na populačních vzorcích cytotypů z různých částí areálu druhu, pěstovaných v podmínkách pokusné zahrady. Dále byla hodnocena sexuální a asexuální reprodukce u jednotlivých cytotypů. V této práci byly nalezeny odlišnosti v některých kvantitativních a kvalitativních znacích mezi cytotypy a byl také částečně potvrzen tzv. gigas efekt. Dále bylo zjištěno, že se všechny studované cytotypy rozmnožují dominantně asexuálně, a to cibulemi a pacibulkami, naopak tvorba semen byla extrémně vzácná.

Klíčová slova: *Allium scorodoprasum*, morfologické a mikromorfologické znaky, morfometrika, polyploidie, sexuální a asexuální reprodukce.

Počet stran: 74

Počet příloh: 4

Jazyk: český

Bibliographical identification

Autor's first name and surname: Iveta Haničáková

Title: Polyploidy of the sand leek (*Allium scorodoprasum* L.): morphological and micromorphological comparative study of cytotypes and evaluation of their sexual and asexual reproduction

Type of thesis: Bachelor

Department: Department of Botany, Faculty of Science, Palacký University, Olomouc

Supervisor: RNDr. Martin Duchoslav, Ph.D.

Year of presentation: 2023

Abstract:

Allium scorodoprasum is a polyploid complex of three cytotypes (di-, tri- and tetraploid). So far, however, very little is known about the relationship between ploidy level and morpho- and micromorphological characters in this complex. To test the hypothesis of the so-called "gigas effect" and to find differences between individual cytotypes, a morphological and anatomical analysis of 38 quantitative and 14 qualitative characters was performed on population samples of cytotypes from different parts of the species range, grown in experimental garden conditions. Furthermore, sexual and asexual reproductions in individual cytotypes were evaluated. In this work, differences in some quantitative and qualitative characteristics between cytotypes were found, and the influence of the gigas effect was also confirmed. All cytotypes have been found to reproduce asexually, by bulbils and bulbs rather than seeds.

Key words: Species *Allium scorodoprasum*, morphometric and anatomical features, morphometrics, ploidy levels, sexual and asexual reproduction.

Number of pages: 74

Number of appendices: 4

Language: Czech

OBSAH:

1. CÍLE BAKALÁŘSKÉ PRÁCE	7
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED	8
2.1 Polyploidie	8
2.1.1 Vznik polyploidů	9
2.1.2 Ekologické důsledky polyploidizace	10
2.1.3 Důsledky polyploidie na anatomii a morfologii rostlin	11
2.2 Rod česnek (<i>Allium</i> L.): základní charakteristika, význam polyploidie	13
2.2.1 <i>Allium</i> Sekce <i>Allium</i> : charakteristika a výskyt polyploidie	14
2.2.2 Charakteristika, výskyt a polyploidie druhu <i>Allium scorodoprasum</i> L.	15
3. MATERIÁL A METODY	20
3.1 Rostlinný materiál použitý ke studium morfometrických znaků	20
3.2 Studium morfologických znaků	21
3.2.1 Přítomnost, tvar a hustota papil na listech	24
3.2.2 Otiskové preparáty, velikost a denzita průduchů	24
3.2.3 Morfologické znaky na květech	25
3.2.4 Morfologické znaky na cibulích	25
3.3 Analýza morfometrických dat	26
4. VÝSLEDKY	27
4.1 Kvantitativní znaky	27
4.1.1 Vegetativní orgány	31
4.1.2 Generativní orgány	35
4.2 Kvalitativní znaky	43
4.3 Mikromorfologické znaky – zhodnocení otiskových preparátů	49
4.4 Zhodnocení sexuální a asexuální reprodukce	52
5. DISKUZE	54
5.1 Morfologické znaky	54
5.2 Sexuální a asexuální reprodukce	55
5.3 Otiskové preparáty: papily, průduchy	57
6. ZÁVĚR	58
7. LITERATURA	59
8. PŘÍLOHY	69

1. CÍLE BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Celogenomová duplikace (WGD) neboli polyploidizace má významný vliv na genotyp a fenotyp rostlin a potenciálně mění ekologické interakce vzniklého polyploida s jinými organismy. Česnek ořešec (*Allium scorodoprasum* L.) je polyploidní komplex, zahrnující tři známé ploidní úrovně (di-, tri- a tetra-), s dominantním asexuálním rozmnožováním jak u polyploidů tak i u diploidů. Doposud ale chybějí bližší údaje o srovnávací morfologii a mikromorfologii cytotypů tohoto druhu, umožňující popsat vztah rostoucí ploidní úrovně a fenotypu. V rámci této bakalářské práce jsem si stanovila následující cíle:

- Přehled dosavadních znalostí o vztahu polyploidie a fenotypu u cévnatých rostlin, se zaměřením na rod česnek (*Allium*).
- Provedení morfometrické analýzy vybraných morfologických a mikromorfologických znaků na populačních vzorcích jednotlivých ploidních stupňů česneku ořešce v podmínkách experimentální zahrady (tzv. common garden).
- Ověření hypotézy tzv. gigas efektu, tedy rostoucích hodnot fenotypových kvantitativních znaků s rostoucí ploidní úrovní.
- Zhodnocení významu sexuální a asexuální reprodukce u srovnávaných ploidních úrovní.

2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1 Polyploidie

Polyploidie je stav, kdy se v somatických buňkách organismu nacházejí více než dvě kompletní sady chromozomů a je důsledkem polyploidizace neboli celogenomová duplikace (WGD = Whole-genome duplication; Porturas et al. 2019). Jedinci se třemi sadami se nazývají triploidi ($2n= 3x$), se čtyřmi sadami tetraploidi ($2n= 4x$), pěti sadami pentaploidi ($2n= 5x$) apod. (Skalická 2005, Suda 2009). Ve výsledku vzniká polyploidní jedinec, a za jistých specifických okolností tak může být nastartován proces speciace, tedy vznik nového druhu, který je reprodukčně izolovaný od svých diploidních předků. Polyploidie byla dříve označována jako nepříliš častý vyskytující se jev, nebo byla považována za tzv. slepou evoluční uličku (Levin 2020). Dnes je však polyploidie považována za hlavní hnací sílu evoluce (Heslop-Harrison et al. 2023). U polyploidních jedinců dochází dále ke změnám ve velikosti genomu, k přestavbám genomu, funkčním změnám duplikovaných genů, což vede k větší diferenciaci polyploida a vzniku nových vlastností (Heslop-Harrison et al. 2023). Polyploidní jedinci mohou vznikat v rámci druhu či populace opakovaně (Soltis et al. 2004, Husband et al. 2008).

Celogenomová duplikace představuje starobylý a neustále probíhající proces, který hraje důležitou roli v evoluci genomu eukaryot (Badauel et al. 2018). V genomech \pm všech současných druhů lze najít doklady o bývalé polyploidizaci jejich předků (Badauel et al. 2018). Polyploidy můžeme rozdělit na základě jejich evolučního stáří na neopolyploidy, mesopolyploidy a paleopolyploidy. Neopolyploidní druhy jsou evolučně mladé druhy, které jsou velmi podobné svým diploidním nebo polyploidním předkům. Tyto předky je možné identifikovat (Ramsey & Schemske 2002, Oswald & Nuismer 2011). Za mesopolyploidy jsou označovány druhy, které jsou stále příbuzné se svými diploidními nebo polyploidními předky, ale od těchto předků se výrazně odlišují (například rozlišitelnými (sub)genomy či meiózou; Bennett 2004, Wang et al. 2011, Mandáková et al. 2017). Paleopolyploidie je výsledkem genomové duplikace, ke které došlo před několika miliony lety. Paleopolyploidní druhy jsou druhy, které prošly ve své evoluční historii polyploidizací, ale dnes se jeví jako diploidní. Jejich polyploidní nebo diploidní předkové vyhynuli a došlo u nich k velkým změnám v genomu (redukce počtu chromozomů, ztráta množství sekvencí DNA, umlčování genů a změnu párování chromozomů), tzv. k sekundární diploidizaci genomů, tj. k procesům, které vracejí polyploidní genom do genomu podobného diploidům (Fawcett & Van de Peer 2010, Van de Peer et al. 2017). Kvůli těmto změnám je obtížné paleopolyploidy detekovat, protože se chovají jako diploidní druhy (Levy & Feldman 2002). Řada studií prokázala, že dávná polyploidie (paleopolyploidie) se udála v evoluční historii patrně všech současných semenných druhů rostlin (Spermatophyta), a další WGD byla zaznamenána na počátku evoluční historie krytosemenných a nahosemenných rostlin (Jiao et al. 2011, Vekemans et al. 2012, Ming et al. 2015, Ohri 2021). Především druhohorní WGD událost je dávána do souvislosti s rapidní diverzifikací obzvláště krytosemenných rostlin (Cui et al. 2006, Jiao et al. 2011, Van de Peer et al. 2017). Kromě toho se další mladší WGD vyskytly také u společných předků mnoha druhově bohatých skupin, jako jsou *Asteraceae*, *Brassicaceae*, *Cucurbitaceae*, *Fabaceae* a *Poaceae* (Edger et al. 2015, McKain et al. 2016, Ren et al. 2018).

U krytosemenných rostlin je genomová duplikace jedním z klíčových evolučních mechanismů. V minulosti si polyploidizací prošlo okolo 57-80 % druhů krytosemenných a nahosemenných rostlin, u některých druhů se polyploidizace objevila i opakovaně. Jsou však různé názory, že polyploidii si v evoluci prošlo 47-100 % kvetoucích rostlin (Masterson 1994). Polyploidie je nejvíce zaznamenávána u kaprad'orostů, kde je asi 95 % druhů kapradin polyploidních (Suda 2009).

Na základě původu chromozomových sad výsledného polyploidního jedince lze rozlišit dva typy polyploidie: autopolyploidii a alopolyploidii (Ramsey & Schemske 1998). U autopolyploidie dochází k zmnožení stejných chromozomových sad daného druhu, zatímco u alopolyploidie dochází k zmnožení rozdílných chromozomových sad, které pocházejí od různých druhů, tedy polyploidizace obvykle následuje za hybridizací. K polyploidizaci může dojít v důsledku vlivu proměnlivých podmínek prostředí, jako jsou například výkyvy teplot, stres, UV záření, na mitózu, resp. meiózu. Příkladem vlivu teploty mohou být druhy rodu *Rosa*, které jsou citlivé na vysoké teploty. Po překročení 35 °C u nich dochází ke snížení životaschopnosti pylu, vznikají defektní pylová zrna a zvyšuje se ploidie gamet v důsledku vytvoření diád nebo triád, které se vytvořily po tepelné indukci vřetenka v telofázi II (Pecrix et al. 2011).

Autopolyploidii mohou mít vlivem nevyváženého počtu chromozomů sníženou plodnost, vykazují tzv. polysomickou dědičnost (Baduel et al. 2018). Například pokud se u tetraploidů vyskytuje gen ve čtyřech kopiích, tak se párují všechny čtyři homologní chromozomy, což způsobuje problémy při rozchodu chromozomů do nově vznikajících gamet. Zato alopolyploidii (mj. tetraploidní rostliny) mají disomickou dědičnost, to znamená, že mají v buňce přítomny chromozomy vždy v páru (Osborn et al. 2003). U rostlin se vyskytuje jak autopolyploidie, tak i alopolyploidie, přičemž ještě donedávna se mělo za to, že autopolyploidie je mnohem vzácnější (Soltis et al. 2010, Parisod 2012, Ramsey & Ramsey 2014, Soltis et al. 2015, Barker et al. 2016). Toto rozdělení však není absolutní a mezi oběma typy existují různé mezičlánky v závislosti na divergenci rodičovských genomů polyploida (Mable 2004).

2.1.1 Vznik polyploidů

Na vzniku polyploida se může podílet samostatně či v kombinaci tvorba neredukovaných gamet, hybridizace, somatické zdvojení nebo polyspermie (Ramsey & Schemske 1998, 2002, Toda & Okamoto 2020). Při chybě v průběhu meiózy může dojít ke vzniku tzv. neredukovaných gamet se somatickým počtem chromozomů. Produkce neredukovaných gamet je velmi variabilní jak mezi, tak uvnitř různých druhů, bývá ale většinou nízká a často dědičná (Ramsey et al. 2007). Důležitou roli hrají vnější podmínky prostředí (chlad, horko, stres apod.), které mohou zvýšit pravděpodobnost vzniku neredukovaných gamet (Ramsey & Schemske 1998). Při somatickém zdvojení dochází ke zdvojnásobení počtu chromozomů v důsledku chyby v mitóze. Polyspermie je klíčová událost v polyploidizaci a druhové diverzifikaci (Toda & Okamoto 2020). Při polyspermii dochází k oplodnění vaječné buňky více než jednou spermatickou buňkou. K polyspermii dochází často u živočichů, ale přirozeně se vyskytuje i u kvetoucích rostlin (Tekleyohans et al. 2017).

Jak již bylo zmíněno výše, rozlišujeme dva typy polyploidie (auto- a alopolyploidie), kdy každý typ vzniká jiným způsobem. Autopolyploidní (na příkladu autotetraploida) jedinci vznikají buď tzv. bilaterální polyploidizací neboli splynutím dvou neredukovaných gamet produkovaných diploidním jedincem (jedinci) téhož druhu za vzniku tetraploidního potomstva, nebo tzv. unilaterální polyploidizací, kdy vzniká triploidní potomstvo fúzí normální ($1n$) a neredukované gamety ($2n$; Parisod et al. 2010). Triploidní jedinci mají často díky nevyváženému počtu chromozomů sníženou životaschopnost a vyšší míru neplodnosti, ale vedle produkce aneuploidních produkují občas i euploidní (i neredukované) gamety (Ramsey & Schemske 1998). Triploidní jedinci se tak mohou zpětně křížit s diploidními (nebo triploidními) jedinci za vzniku tetraploidního potomstva (tzv. triploidní most). Dalším křížením pak mohou vznikat penta-, hexa-, okta-, dekaploidi a další stupně ploidie (Ramsey & Schemske 1998).

Vznik alopolyploidů je většinou dvoustupňový: nejprve dojde k hybridizaci dvou různých (většinou diploidních) druhů a vznikne homoploidní hybrid, který může zpolyploidizovat, a tak obnovit disomickou dědičnost (Levy & Feldman 2002). Může se tak reprodukčně oddělit od rodičovských druhů. K oddělení může dojít jak přestavbou chromozomů, tak genetickou změnou. Jako příklad může být křížení druhů s odlišnými genomy AA a BB. Pokud jsou jednotlivé genomy A a B natolik odlišné, že se jejich chromozomy nejsou schopny správně spárovat během meiózy, vznikne křížením těchto druhů neplodný jedinec. Tento jedinec AB může ale vytvořit malé množství neredukovaného pylu a vaječných buněk, které mohou splývat. Vzniká tedy jedinec s chromozomovou sadou AABB, který má zdvojnásobenou chromozomovou sadu (AABB) a je již plně fertillní (Levy & Feldman 2002).

V rámci polyploidizace se můžeme setkat s jevem tzv. triploidním blokem (Ramsey & Schemske 1998). Triploidní blok podporuje reprodukční izolovanost mezi diploidy a tetraploidy tím, že jejich křížením vzniká \pm sterilní triploid a tím se od sebe diploidní a tetraploidní cytotyp reprodukčně izolují. Tedy díky triploidům je přerušen genový tok mezi diploidy a tetraploidy. Během evoluce dochází dále ke vzniku dalších bariér bránící křížení mezi cytotypy, jako například změna reprodukčního módu na samoopylení, prostorová izolace nebo posun jejich doby kvetení (Husband & Sabara 2004).

2.1.2 Ekologické důsledky polyploidizace

Polyploidie úzce souvisí i s ekologickými nároky rostlin (Levin 2002). Předpokládá se, že v dávné minulosti mohla sama polyploidizace být pro rostliny klíčovým faktorem umožňující přežití a zabránění vyhynutí před náhlými změnami klimatu (Ramsey & Ramsey 2014). Dnes se dá obecně říci, že k odlišnostem v nikách polyploidů oproti diploidním předkům přispívá variabilita polyploidů v morfologii, fyziologii, fenologii a demografii (Levin 1983, 2002, Parisod 2012). Ekologická diferenciacce je zároveň považována za jeden z nejvýznamnějších prezygotických izolačních mechanismů, které snižují, v kombinaci s jinými faktory (změny v reprodukčním systému, disperse aj.) kompetici mezi di- a polyploidy (Baduel et al. 2018), a tedy, v případě jak primárního tak sekundárního kontaktu, i jev tzv. vyloučení minoritního cytotypu (minority cytotype exclusion), který postihuje nově vznikající či imigrující cytotyp v cytotypově smíšené populaci (Levin 1975, Spoelhof et al. 2020). Ovšem u těchto

polyploidních druhů může dojít k jevu tzv. bottleneck („efekt hrdla láhve“), což je nízká genetická variabilita polyploidů. K efektu hrdla láhve může dojít prudkým poklesem počtu jedinců v populaci. Pokud k tomuto efektu dojde, jsou nově vzniklí polyploidi v jisté nevýhodě. Jedna z nevýhod je ta, že noví polyploidi jsou hůře adaptováni na své prostředí než starší polyploidi (Parisod 2012). Dále noví polyploidi mohou mít problémy s přežíváním, z důvodu konkurence s rodiči nebo problémy s reprodukcí. Úspěch polyploidních jedinců tedy tkví v tom, že vznikají často a dokážou se ekologicky diferenciovat nebo najít jiný způsob rozmnožování (Zozomová-Lihová et al. 2015).

Polyploidní druhy se vyskytují ve vyšších zeměpisných šířkách a nadmořských výškách, na vlhkých a produktivních stanovištích. Polyploidi se vyskytují čteněji v regionech s vyšším zastoupením vytrvalých bylin a s vzácným zastoupením dřevin (Fawcett & Van de Peer 2010, Zozomová-Lihová et al. 2015). Důvodem je vyšší míra heterozygotnosti, která polyploidům umožňuje reagovat na různé selekční tlaky a změny prostředí (Soltis et al. 2004). Tyto polyploidní rostliny mají větší šanci na přežití v rychle měnících se podmínkách prostředí, vyšší kolonizační schopnost v nových nikách (Soltis et al. 2004, Crow & Wagner 2005, Xie-Kui et al. 2008, Ramsey & Ramsey 2014), jsou více přizpůsobeni k odolnosti před nižšími teplotami, chladem, stresem ze sucha nebo před UV zářením (Ramsey & Schemske 1998). Rice et al. (2019) jako první provedli kompletní analýzu rozšíření a četnosti polyploidů na úrovni celé Země, a zaměřili se specificky na jejich vztahy k biotům a klimatickým podmínkám. Autoři zjistili, že četnost polyploidů se zvyšuje směrem od rovníku k severnímu, resp. jižnímu pólu. Nejvyšší zastoupení polyploidů se nachází na severní polokouli v tundře a v tajze. Vysoká frekvence polyploidů se nachází také v horské vegetaci mírného pásma. Nejméně polyploidů se pak nachází v tropických a subtropických oblastech. Jako hlavní ekologický faktor ovlivňující rozšíření polyploidů se v této studii ukázala být teplota, kdy polyploidi preferují chladnější stanoviště.

Samotné ekologické důsledky polyploidizace mohou ovlivnit konkurenční schopnost a druhovou invazivitu (Segraves 2017, Becker 2021, Becker et al. 2022). Te Beast et al. (2012) poukazuje, že ekologické důsledky způsobené polyploidizací (reprodukční omezení, meiotické abnormality, zvětšená velikost buněk, zvýšená heterozygotnost, polymorfni dědičnost a zvýšená genetická rozmanitost) mají vliv na různé morfologické a fyziologické vlastnosti rostlin, které zvyšují nebo naopak snižují vliv na druhovou invazivitu. Příkladem může být velikost rostliny. Se zvyšující se velikostí rostliny se zvyšuje i konkurenční schopnost obsadit dané stanoviště, čímž se rostlina stává více dominantní a také invazivní.

2.1.3 Důsledky polyploidie na anatomii a morfologii rostlin

Důsledky polyploidizace mohou být velmi rozsáhlé, proto je potřeba pochopit změny v morfologii, anatomii a ekologii u polyploidních druhů. Nejvýznamnějším důsledkem je tzv. gigas efekt. Gigas efekt se týká zvětšení rostlinných buněk v důsledku zvýšeného množství jaderné DNA, což způsobuje zvětšení rostlinných orgánů (Levin 1983, Francis et al. 2008, Soltis et al. 2014, Robinson et al. 2018, Becker 2021, Becker et al. 2022). Polyploidi pak mají vyšší hodnoty kvantitativních znaků než jejich diploidní předci (Stebbins 1971, Soltis & Soltis 2000). Polyploidní rostliny mají větší květy, listy nebo stonky (Soltis & Soltis 2000, Sugiyama

et al. 2002, Beaulieu et al. 2008, Lavergne et al. 2010, Sattler et al. 2016). Tento gigas efekt se nemusí projevit vždy, avšak ve většině rostlinných případů převládá. Vztahem gigas efektu a WGD se zabývala metastudie Porturas et al. (2019), která použila soubor literatury a metaanalýzu, aby posoudila, jaký má WGD vliv na morfologii květů, fenologii kvetení a reprodukci rostlin.

Z hlediska generativních znaků mají polyploidi větší velikost květů, nižší počet květů či květenství (Mable et al. 2003, Balao et al. 2011, Kumar & Dwivedi 2014). Kromě toho květy tetraploidních rostlin mají více celkového obsahu antokyanů, tmavší barvu (Ghanbari et al. 2019) a zvyšuje se velikost pylu. S rostoucí ploidií se zvyšuje hmotnost semen, avšak počet semen produkovaných na květ klesá (Bretagnolle & Lumaret 1995, Beaulieu et al. 2007, Knight & Beaulieu 2008). Porturas et al. (2019) uvádí, že v širokém zastoupení krytosemenných rostlin se morfologické znaky květů velikostně zvětšily, reprodukční výkon rostlin se naopak snížil a fenologie kvetení nebyla WGD ovlivněna. Tato studie nezjistila žádné významné rozdíly mezi di- a polyploidy ve velikosti účinku při pozorování mezi okvětními lístky, květy a květenstvími. Polyploidie má vliv také na morfologické znaky jako jsou výška a hmotnost rostliny, velikost kořenů, stonků a listů, počet uzlin, délka internodií a hmotnost cibule (Vanstechelman et al. 2009, Huang et al. 2015, Tavan et al. 2015, Hassanzadeh et al. 2020). Příkladem může být studie Khan et al. (2023) na druhu *Citrullus lanatus*, kde autoři zjistili, že s rostoucím stupněm ploidiie (2x, 4x, 6x) se zvyšuje počet květů, velikost pylu a jeho životaschopnost.

Polyploidizace má vliv i na vegetativní rozmnožování rostlin (Ramsey & Schemske 1998). Polyploidní rostliny se spoléhají spíše na vegetativní rozmnožování, které tak může zachránit mnoho nově vzniklých polyploidů před jejich vyhynutím v důsledku častých problémů sexuálního rozmnožování a reprodukčních interakcí s diploidy, zatímco diploidní předci spoléhají více na reprodukci semeny (Herben et al. 2017). Polyploidi proto často zvyšují investici do vegetativního rozmnožování pomocí oddenků, pacibulek či dceřiných cibulí, protože prostřednictvím těchto orgánů klonálního růstu se polyploidní jedinci mohou rozmnožovat a šířit i bez přítomnosti partnera. Díky vegetativnímu rozmnožování mohou polyploidní jedinci lépe odolávat změnám prostředí jako je například stres ze sucha, chlad nebo UV (Zona & Howard 2022).

Další rozdíly mezi cytotypy lze sledovat u mikromorfologických znaků. Jedním z nich je velikost průduchů (Knight & Beaulieu 2008). Polyploidi mají obecně delší a širší průduchy a menší počet průduchů (Van Laere et al. 2011, Shala & Deng 2018, Sabzehzari et al. 2019, Zakizadeh et al. 2020). Počet chloroplastů spolu s obsahem chlorofylu a karotenoidů je vyšší u polyploidních jedinců (Sabzehzari et al. 2019, Catalano et al. 2021).

S rostoucí ploidií lze pozorovat odlišnosti i u anatomických znaků, jako například ztlustění kořenového parenchymu, kmenového kolenchymu a houbovitých tkání a ke zvýšenému počtu cévních svazků u polyploidů. K těmto poznatkům dospěla studie, které se zabývaly druhem *Plumbago auriculata* (Jiang et al. 2020).

2.2 Rod česnek (*Allium* L.): základní charakteristika, význam polyploidie

Česnek (*Allium*) je patrně největší rod jednoděložných rostlin, a v současnosti je řazen do čeledi amarylkovité – *Amaryllidaceae* (AGP IV). Rod zahrnuje okolo 1 000 druhů (Powo 2019) s dominantním výskytem na severní polokouli (Stearn 1978, Stearn 1992). Jsou to vytrvalé geofytní byliny, jejichž zásobní látkou jsou nižší cukry, zvláště fruktany (polymery fruktózy s krátkým až středně dlouhým řetězcem, Suzuki & Chatterton 1993). Jejich významným znakem je slabý aromatický zápach, který je způsoben těkavými látky na bázi sulfidů. Taxonomie rodu je velmi složitá a dosud nebyla uspokojivě dořešena (Friesen et al. 2006).

Z morfologického hlediska se jedná o rostliny s podzemními zásobními orgány (cibule, oddenek nebo výjimečně ztloustlé kořeny) velmi variabilní struktury (Kamenetsky 1992). Listy jsou většinou čárkovité, ploché až okrouhlé, bezřapíkaté a střídavé. Stvol je hranatý či oblý, plný nebo dutý (Fritsch & Friesen 2002, Krahulec & Duchoslav 2010). Květy se nacházejí ve vrcholičnatých květenstvích. Lichookolík je nejprve uzavřen v listenovém toulci a může obsahovat kromě květů i hojné množství pacibulek. Květy jsou aktinomorfni a oboupohlavné. Květy mají 6 okvětních lístků, které jsou rozmístěny ve dvou kruzích (vnitřní a vnější) a jsou buď na bázi srostlé nebo volné. Tyčinky jsou ve dvou kruzích po třech, na bázi vzájemně srůstají, vnitřní tyčinky jsou často širší a mají zuby (Krahulec & Duchoslav 2010). Gyneceum je synkarpní, ze 3 plodolistů. Přítomna je jedna čnělka a semeník je svrchní. Prašníky jsou různé barvy a různého tvaru stejně jako pylová zrna. Plodem je tobolka se 3 pouzdry. Uvnitř každého pouzdra jsou semena s endospermem, tmavé barvy, trojhranná nebo zploštělá a v počtu obvykle 1-2 (Fritsch & Friesen 2002, Krahulec & Duchoslav 2010).

Rostliny se rozmnožují jak sexuálně tvorbou semen, tak asexuálně, tvorbou dceřiných cibulí, větvením oddenku nebo tvorbou pacibulek (Krahulec 1977, Karpavičienė 2017).

Friesen et al. (2006) představuje první ucelenou fytoenetickou studii rodu, která za využití sekvencí ribozomální DNA (ITS) rozsáhlého souboru druhů (195) reprezentujících celé taxonomické spektrum rodu a blízké příbuzných rodů, zjistila, že rod *Allium* je monofyletický, a rozdělila jej do tří evolučních větví a v rámci nich do 15 podrodů. Základní chromozomové číslo u rodu *Allium* pohybuje od $x=7$ do $x=11$, avšak nejčastější chromozomové číslo je $x=8$. Díky rychlé diverzifikaci se u tohoto rodu objevuje velké množství polyploidů od $2n=16$ až po $2n=100$ (Han et al. 2020). Han et al. (2020) uvádí, že 65,6 % druhů v rodě *Allium* lze definovat jako čisté diploidy, 3,7 % jsou čisté polyploidy a 30,6 % jsou polyploidní komplexy obsahující jak diplodní, tak polyploidní cytotypy. Rychlá diverzifikace uvnitř rodu souvisí s polyploidizací, která umožnila zástupcům rodu osídlit velmi rozlišná stanoviště (suché, polosuché stanoviště, vlhké aplínské, subalpínské pastviny či chladnější oblasti, Peruzzi et al. 2017, Costa et al. 2020, Han et al. 2020).

Areál rodu zahrnuje Evropu, severní Afriku, většinu Asie mimo její jihovýchodní část, dále Severní Ameriku a 1 druh se vyskytuje v jižní Africe (Stearn 1980, 1981, Rabinowitch & Brewster 1990, Friesen et al. 2006, Costa et al. 2020). Většina druhů roste na osluněných, sušších biotopech jako jsou stepi, polopouště, horské svahy, skály a útesy, ale některé druhy jsou součástí lesní vegetace (Rabinowitch & Brewster 1990, Friesen et al. 1993, Fritsch & Friesen 2002).

Zástupci rodu mají četné využití v zemědělství, zahradnictví, potravinářství a farmacii. Česneky vykazují antidiabetické, protiplísňové, protivředové účinky, ale také jejich obsahové látky mají využití proti obezitě, mají účinky hepatoprotektivní, neuroprotektivní, hypolipidemické, protizánětlivé (Deka et al. 2022), antioxidační (Štajner et al. 2006), a dále i ochranné účinky proti plevelům a hmyzu (Keusgen 2011, Yousaf et al. 2012).

2.2.1 *Allium* sekce *Allium*: charakteristika a výskyt polyploidie

Podrod *Allium* je největší podrod s 260 až 280 druhy, vyskytující se víceméně v celé Eurasii (Hanelt et al. 1992). Má 15-16 sekcí, z nichž k největším patří sekce *Allium* s asi 115 druhy. Sekce *Allium* je rozšířená od Portugalska po střední Asii a od severní Evropy až po severní Afriku. Některé druhy rostou i jinde, často jsou zavlékány do jiných oblastí (Mathew 1992, 1996). Centrum diverzity se nachází v Turecku, Íránu či bývalém Sovětském svazu. Sekce zahrnuje ekonomicky významné druhy, jako jsou například druhy *Allium sativum* nebo *Allium porrum* (Mathew 1996). Většina druhů této sekce roste na suchých stanovištích, včetně polopouští. Patří sem řada polních plevelů, které se často rozmnožují vegetativně pomocí pacibulek. Mnoho druhů roste ve velkém rozmezí nadmořských výšek, druhy vázané na nízké nadmořské výšky nalezneme především v Mediteránu (Mathew 1996).

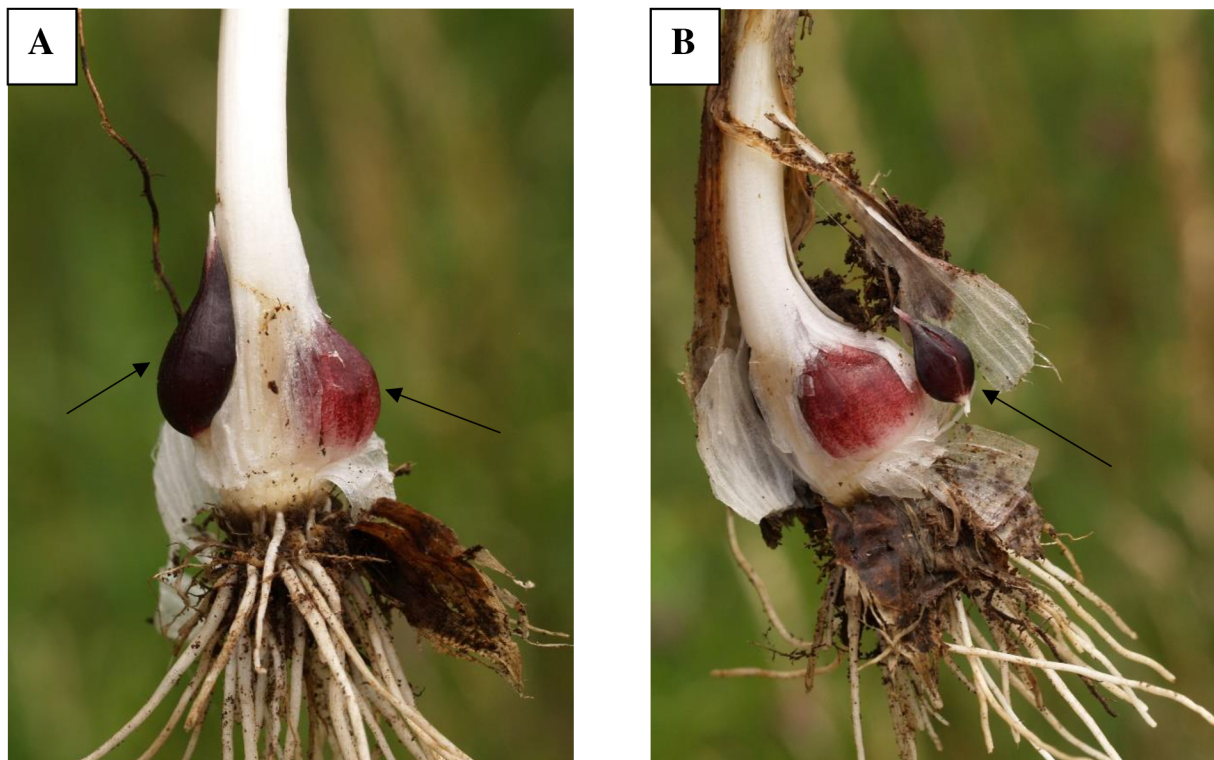
Z cytologického hlediska je u sekce *Allium* stanoveno základní chromozomové číslo $x=8$. V této sekci je častý výskyt polyploidie (až $2n=8x$), aneuploidie (změna počtu chromozomů, kdy chromozomy chybí nebo jsou v nadbytku) a přítomnost B-chromozomů. Chromozomy zástupců sekce jsou akrocentrické, metacentrické a submetacentrické (Mathew 1996).

2.2.2 Charakteristika, výskyt a polyploidie druhu *Allium scorodoprasum* L.

Allium scorodoprasum L. je zařazeno do sekce *Allium* a je jedním z běžnějších druhů rodu. Tvoří polyploidní komplex tří cytotypů ($2n=2x-4x$; Özhatay 1993, Mathew 1996). Současné taxonomické pojetí druhu reflektuje výsledky srovnávací anatomicko-morfologické studie (Özhatay 1993), která prokázala, že široké pojetí druhu se začleňováním blízkce příbuzného komplexu taxonů *Allium rotundum* L. jako poddruhů do druhu *A. scorodoprasum* není oprávněné (Mathew 1996).

Popis

Cibule jsou 1-2 cm velké, 0,9-1,5 cm široké a jejich hmotnost dosahuje 0,5-10 g. Obalných šupin bývá od jedné po několik, jsou hnědé barvy a vejcovitého tvaru. Vnější šupiny jsou tmavší barvy než vnitřní. Šupiny se obvykle překrývají. Dceřiné cibule jsou buď mušlovitého tvaru, přitisklé k cibuli mateřské nebo vyrůstají na stopce nad cibulí (obrázek 1). Jejich hmotnost je 0,2-7,9 g (Krahulec 1977, Neykov et al. 1992, Özhatay 1993, Mathew 1996, Krahulec & Duchoslav 2010, Karpavičienė 2017).



Obrázek 1: *Allium scorodoprasum*: A – nově se tvořící mateřská cibule (šipka vpravo), vlevo je pak mušlovitá dceřiná cibule (šipka), B – dceřiná cibule (šipka). Obalné šupiny byly odstraněny, aby se ukázaly nově se tvořící cibule. Zbytek obalných šupin je přítomen u podpučí.

Foto: M. Duchoslav.

Výška rostlin dosahuje 40-100 cm (Neykov et al. 1992, Özhatay 1993, Mathew 1996, Krahulec & Duchoslav 2010, obrázek 2). Listy jsou v počtu 3-5, jsou dlouhé 3-15 cm (Neykov et al. 1992), celistvé, čárkovité, na vrcholu kápovité, na líci mělce žlábkovité až ploché a na rubu kýlnaté (Mathew 1996, Krahulec & Duchoslav 2010). Šířka listů je kolem 0,5-3 cm (Krahulec 1977, Neykov et al. 1992). Na povrchu listů se vyskytují chrupavčité zoubky, tzv. papily (Krahulec 1977, Özhatay 1993, Mathew 1996). Pochvy kryjí stvol z 1/3 jeho výšky. Stvol je přímý nebo šikmě vzhůru směřující, plný nebo dutý (Krahulec & Duchoslav 2010). Průměr stonku rostliny je okolo 5 mm (Özhatay 1993). Z hlediska anatomie má druh v listech parenchymatické buňky uspořádané za sebou a jsou krychlového nebo eliptického tvaru. Počet cévních svazků je 28 (Özhatay 1993).



Obrázek 2: *Allium scorodoprasum*: A – habitus kvetoucích rostlin s květenstvím uzavřeným v toulci (květen), B – list.

Foto: M. Duchoslav.

Lichookolík je kulovitý, v průměru je 1,5-3 cm široký. Toulec je 1,5-3 cm dlouhý, celistvý, blanitý, opadavý, zploštělý, na bázi vejcovitý, jeho vrchol tvoří až 1 cm vysoký zobánek. V květenství jsou vždy přítomny přisedlé pacibulky tmavě fialové až hnědé barvy (Krahulec 1977, Mathew 1996, Krahulec & Duchoslav 2010). Pacibulky jsou velmi variabilní ve velikosti a počtu (Murin & Feráková 1988). Karpavičienė & Karanauskaitė (2010) uvádějí produkci průměrně 78,4 pacibulek. Druh má obvykle 20 a více fialových květů (obrázek 3). Květní stopky jsou nestejně, hladké, zprohýbané nebo rovné, různě dlouhé (většinou kolem 3-4 cm) a často zbarvené do fialova. Okvětní lístky jsou v počtu 6, 4-6 mm dlouhé, 2-5 mm široké, nachové a na koncích zašpičatělé. Vnitřní okvětní lístky jsou o pár mm širší než vnější. Tyčinky jsou ve dvou kruzích po třech, na bázi vzájemně srůstají. Nitky jsou brvité, u vnějších tyčinek trojúhelníkovitě šídlovité, bez postranních zoubků, u vnitřních tyčinek se 2 postranními

zoubky vyrůstajícími ve $\frac{3}{4}$ délky nitky 2x delšími než horní část nitky nad jejich oddělením, nepřesahují okvěti a jsou dlouhé 2,5-4,5 mm. Prašníky mají purpurovou barvu a čnělka nevyčníká z okvěti a je gynobazická. Karpavičienė (2017) zjistila, že produkce semen je u tohoto druhu velice vzácná, vyskytovala se pouze u diploidních populací. V této práci se dále ukázalo, že diploidní populace produkují více květů než populace triploidní. Rostliny jsou většinou sterilní, produkují málo semen (obvykle okolo 0-3 semen). Semena jsou trojhranná nebo smáčknutá, většinou černé barvy (Krahulec 1977, Özhatay 1993, Mathew 1996, Krahulec & Duchoslav 2010, Karpavičienė 2017). Česnek ořešec kvete od května do června.



Obrázek 3: *Allium scorodoprasum*: A – toulec, B – květenství s pacibulkami a květy, C – detail květů a pacibulek v květenství.

Foto: M. Duchoslav.

Druh obsahuje řadu významných látek, mezi které můžeme zařadit flavonoidy, taniny, alkaloidy a saponiny (Özhatay 1993). Typická je pro něj aromatická vůně po česneku. V minulosti byl česnek ořešec pěstován jako zelenina (Krahulec & Duchoslav 2010).

Allium scorodoprasum se vyskytuje v lužních lesích, příkopech, okrajích polí, u cest, v křovinách a na písčitých pobřežích (Özhatay 1993). Jeho výskyt je méně častý v dubohabřinách, v akátinách a v teplomilných doubravách (Duchoslav & Krahulec 2009). Vyskytuje se převážně na travnatých, zaplavovaných a mokřích místech, bohatých na živiny, na slabě kyselých až neutrálních místech (Krahulec & Duchoslav 2010) a na mezofilních až suchých trávnících.

Rozšíření je prakticky v celé Evropě patrně až po Kavkaz (Fialová 1996, Krahulec & Duchoslav 2010). V České republice se vyskytuje nejvíce v teplých oblastech Čech a Moravy, hlavně podél vodních toků. Je rozšířen i ve vyšších polohách. Vzácně se vyskytuje v Bruntálsku, Opavsku, v západních a severozápadních Čechách a na Českomoravské vrchovině (Krahulec & Duchoslav 2010). Vyskytuje se nejčastěji v nadmořské výšce okolo 300 m, s narůstající výškou jeho výskyt klesá. Druh byl nalezen v minimální nadmořské výšce 148 m v Lanžhotě a v maximální nadmořské výšce okolo 800 m ve Velkých Karlovicích na vrcholu Solán (Duchoslav & Krahulec 2009).

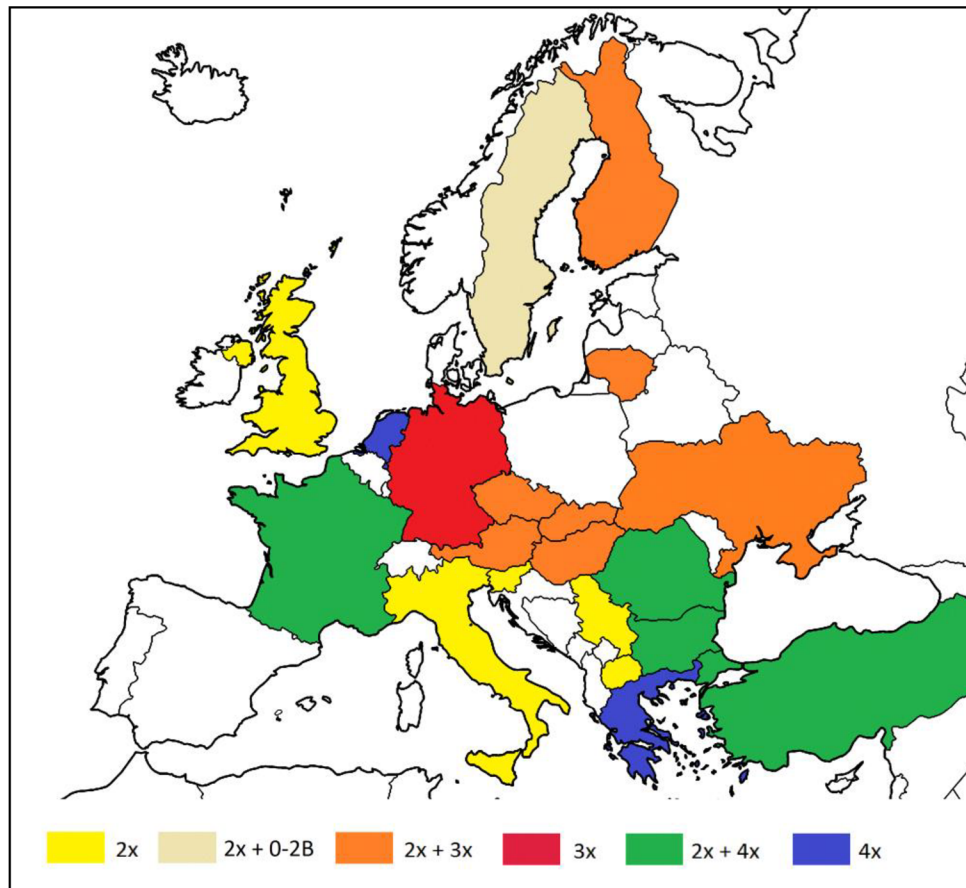
U druhu byly zjištěny tři ploidie, diploidní ($2n=16$), triploidní ($2n=24$) a tetraploidní ($2n=32$, Mathew 1996). Karyotyp se skládá z 8 párů metacentrických až submetacentrických chromozomů (Özhatay 1993).

Několi studií se zabývalo morfologickou, resp. reprodukční diferenciací mezi cytotypy, mj. srovnáním di- a triploidů (Murin & Feráková 1988, Karpavičienė 2017), resp. pouze studiem triploidů (Fialová 1996). S rostoucím stupněm ploidie se zvětšují některé vegetativní i generativní znaky, jako je například délka a šířka listů, počet květů, velikost a hmotnost cibulí (Karpavičienė 2017). Naopak s rostoucí ploidii se snižuje výška a hmotnost rostliny a počet cibulí. Z anatomického hlediska se velikost průduchů zvyšuje, ale jejich hustota klesá (Karpavičienė 2017). Murin & Feráková (1988) zjistili také jisté odlišnosti mezi diploidními a triploidními jedinci. Rozdíly v této studii byly shledány v počtu květů (více květů vyprodukovali triploidi), schopnosti reprodukce semen (semena byla zaznamenána u diploidů), fertilitou pylu (která byla lepší u diploidů) a velikosti průduchů (větší průduchy měli triploidi). Åström & Hægström (2003) uvádějí, že triploidní rostliny jsou vyšší než rostliny diploidní.

O podrobnější analýze rozšíření cytotypů druhu *Allium scorodoprasum* existují pouze práce zaměřené na konkrétní území jednoho státu, jako například práce z Litvy (Karpavičienė 2017) a ze Slovenska (Murin & Feráková 1988). Rozšíření cytotypů v Evropě je znázorněno na obrázku 4, a je založeno na dosud publikovaných údajích o chromozómových počtech dostupných v databázi CCDB (The Chromosome Counts Database; Rice et al. 2015). Diploidní cytotyp ($2n=16$) byl zaznamenán například v Itálii (Love 1982), v Rakousku (Speta 1984), na Slovensku (Murin & Feráková 1988), ve Finsku (Halkka 1985) a v Bulharsku (Cheshmedzhiev 1970, Kuzmanov 1993). Triploidi byli nalezeni na Slovensku (Murin & Feráková 1988), na Ukrajině, Finsku (Åström & Hægström 2003) a v Německu (Ohri & Pistrick 2001). Tetraploidní cytotyp byl nalezen na území Turecka (Özhatay 1990, 1993, Özhatay & Johnson 1996), Bulharska (Kuzmanov 1993) a Nizozemska (Gadella & Kliphuis 1963). Bylo objeveno, že areály diploidních a triploidních populací se geograficky prolínají a oba cytotypy můžeme nalézt spolu na jedné lokalitě (Murin & Feráková 1988). Tetraploidní cytotyp se však vyskytuje na jiných lokalitách. Z různých výzkumů je patrné, že diploidi jsou rozmístěni téměř po celé

Evropě, koncentrace triploidů a tetraploidů je spíše ve střední a východní Evropě, avšak tetraploidi se vyskytují méně častěji. V České republice se vyskytují spíše triploidi (Kalous et al. nepublikováno).

Variabilita mezi cytotypy druhu *Allium scorodoprasum* je také v nadmořské výšce, zeměpisné šířce a velikostí areálu (Murin & Feráková 1988).



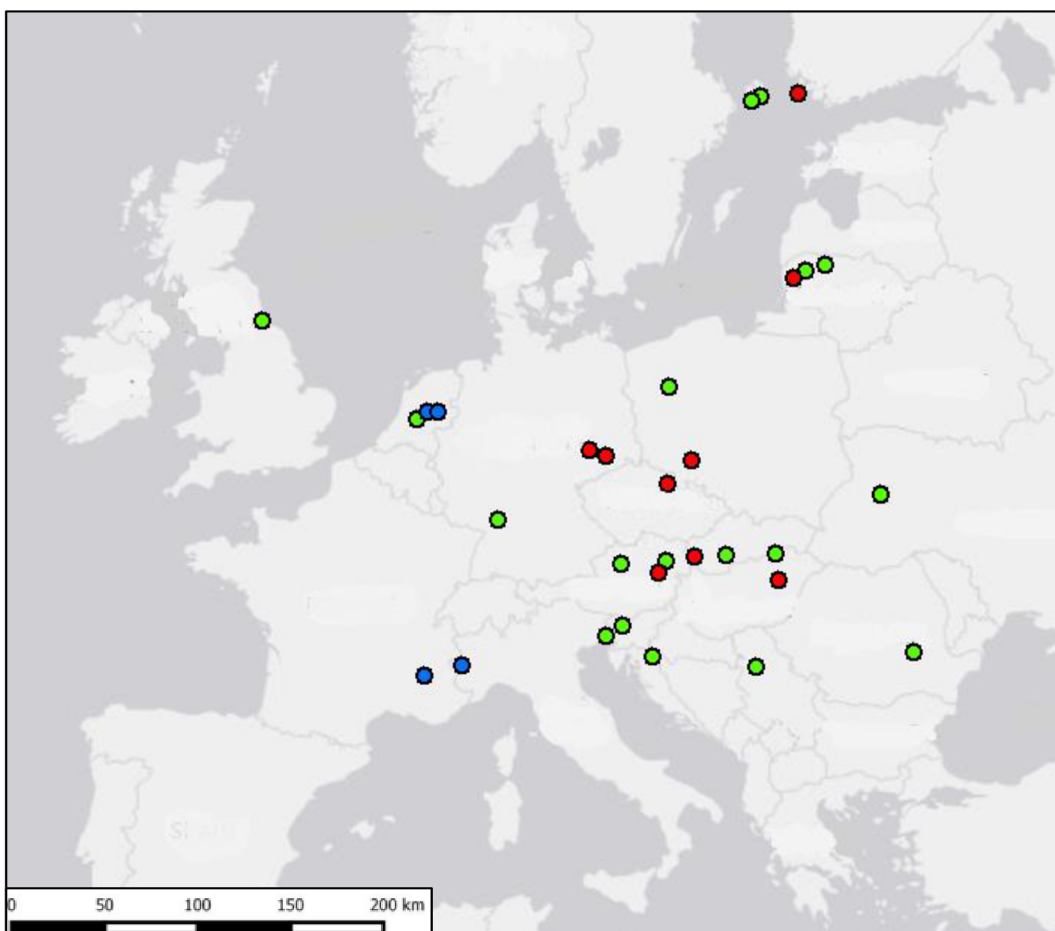
Obrázek 4: Rozšíření cytotypů *Allium scorodoprasum* v Evropě (Kalous et al. nepublikováno).

3. MATERIÁL A METODY

3.1 Rostlinný materiál použitý ke studiu morfometrických znaků

Práce je založena na studiu populačních vzorků sebraných týmem botaniků (Kalous R. a kolektiv) v přírodních evropských populacích a zapěstovaných v experimentální zahradě katedry botaniky PřF UP v Olomouci. Odebraní jedinci byly zasazeny do květináčů 15x15x15 cm vyplněných směsí lokální půdy a kultivačního substrátu (poměr 3:1) po cca 3-5 jedincích. Květináče byly poté umístěny zapaštěné vedle sebe do řad na experimentální zahradě. Populace nebyly ničím stíněné a působily na ně přirozené venkovní podmínky. Květináče byly pravidelně odplevelovány a v době sucha (jaro-podzim) dle potřeby zalévány.

Následně se pomocí průtokové cytometrie zjišťoval ploidní stupeň každého jedince. Na základě těchto dat (Kalous R., Koblrová L., nepublikováno) bylo pro morfometrickou analýzu vybráno 31 populací tak, aby byly pokryty areály jednotlivých cytotypů. Celkem bylo pro morfometrickou analýzu vybráno 90 jedinců (z každé populace 3-5 jedinců), zahrnující čisté populace diploidů (18 populací/49 rostlin), triploidů (9 populací/30 rostlin) a tetraploidů (4 populace/11 rostlin). Vybrané populace cytotypů pocházely z různých částí Evropy (tabulka 1, obrázek 5).



Obrázek 5: Vybrané studované populace diploidů (zeleně), triploidů (červeně) a tetraploidů (modře) *Allium scorodoprasum* v Evropě. Vytvořeno v programu ArcGIS.

Tabulka 1: Přehled studovaných populací *Allium scorodoprasum*. Ploidie (2n) označuje ploidní stupeň populace (počet chromozomových sad), čísla označují: 2 = diploid (2x), 3 = triploid (3x) a 4 = tetraploid (4x).

Populace	Zeměpisná šířka	Zeměpisná délka	Počet studovaných jedinců	Země původu	Ploidie (2n)
13/21	46.47	13.95	2	Slovinsko	2
15/91	50.30	16.19	5	Česká republika	3
15/112	48.24	17.19	4	Slovensko	3
15/278	49.96	25.18	3	Ukrajina	2
16/61	49.18	8.42	5	Německo	2
16/122	45.81	13.44	3	Itálie	2
16/142	48.03	16.11	3	Rakousko	2
16/143	48.15	16.07	5	Rakousko	3
16/227	50.98	16.52	2	Polsko	3
16/231	52.50	16.96	3	Polsko	2
16/286	48.15	18.61	2	Slovensko	2
16/296	48.56	20.80	3	Maďarsko	2
16/300	47.75	21.11	4	Maďarsko	3
16/315	45.91	26.91	1	Rumunsko	2
16/366	48.28	14.16	1	Rakousko	2
16/436	54.80	-1.31	4	Velká Británie	2
16/438	56.16	22.74	3	Litva	2
16/439	56.25	22.47	3	Litva	2
16/440	55.94	21.57	5	Litva	3
16/453	60.09	19.93	2	Finsko	2
16/455	60.05	19.97	3	Finsko	2
16/464	60.12	21.55	3	Finsko	3
17/60	51.99	5.48	2	Nizozemsko	2
17/62	52.06	6.14	2	Nizozemsko	4
17/63	52.10	6.21	2	Nizozemsko	4
17/68	51.37	11.93	2	Německo	3
17/105	45.39	15.11	3	Chorvatsko	2
17/187	45.13	19.57	3	Srbsko	2
18/56	51.17	13.47	1	Německo	3
18/102	45.11	6.97	4	Itálie	4
18/107	44.95	5.64	3	Francie	4

3.2 Studium morfologických znaků

Na vybraných jedincích z každé populace bylo provedeno studium anatomických a morfologických znaků. K studiu byly vybrány determinálně významné znaky uváděné v determinacních klíčích, ale i znaky, jejichž hodnoty potenciálně korelují s ploidní úrovní (velikostí genomu), například velikost průduchů (Van Laere et al. 2011, Shala & Deng 2018). Znaky byly studovány na listech, květech a cibulích (přehled viz tabulka 2 a 3). Vzhledem k různosti fenologického vývoje různých orgánů (hlavně listů a květů) nemohlo studium všech morfologických znaků probíhat ve stejném časovém okamžiku.

Postup byl následující. Na přelomu dubna/května roku 2022 byli vybráni jedinci z jednotlivých populací, ti byli následně označeni barevnou bavlnkou na lodyze těsně nad zemí pro identifikaci konkrétního jedince. Na těchto označených jedincích se později provádělo měření znaků vegetativních a generativních. V dubnu (před kvetením rostliny) byly nejprve změřeny znaky na rostlině a na listech (výška rostliny bez toulce, výška rostliny s toulcem, průměr stonku, počet listů, délka čepele 2. horního listu, šířka čepele 2. horního listu, délka toulce, délka zobánku toulce). Po změření těchto znaků bylo provedeno studium listů v laboratoři (měření proběhlo v dubnu asi 14 dní po změření znaků na rostlině a na listech). Listy byly odebrány z rostliny, vloženy do popsaného plastového sáčku. V laboratoři se listy přiložily pod mikroskop a na listech se sledoval tvar a počet papil při daných zvětšeních (200x, 400x). Následně se pomocí laku na nehty a izolepy vyhotovil otiskový preparát listů (viz níže). Z vyhotovených otiskových preparátů se sledovala velikost průduchů. Květy (1-5 květů od každého jedince) byly odebrány z rostlin začátkem června, kdy byly květní části plně vyvinuty a dále zpracovány pod binokulární lupou. Jedinci, kteří nevyprodukovali žádné květy, nebyli zahrnuti do výsledných analýz květních částí. Pod binokulární lupou byly květy rozpreparovány a jednotlivé květní části byly nalepeny na arch bílého papíru a oskenovány. Z vyhotovených skenů v rozlišení 1200 dpi se studovala barva, tvar a měřila velikost květních částí. Kvantitativní znaky se následně měřily z digitálních skenů v programu ImageJ (Rasband 2009). Přehled studovaných znaků na květech je uveden v tabulce 2 a 3. Po odkvetení zbývajících květů bylo celé květenství zabaleno do pytlíčku ze svařené netkané textilie (viz níže), aby nedošlo k vypadání semen a pacibulek. Po dozrání pacibulek a zaschnutí stvolu (pozdní léto, resp. podzim 2022) byla květenství odstřižena od stvolu, přenesena do laboratoře, rozpreparována, a byly zjišťovány počty semen a pacibulek. Na podzim se provedlo měření znaků cibulí (délka a šířka cibulí, počet pacibulek). Cibule byly přeneseny do skleníku, opatrně vyndány z květináčů následně změřeny a zpětně vráceny zpět do květináčů.

Tabulka 2: Přehled studovaných kvantitativních mikromorfologických a morfologických znaků (a jednotky) studovaných na jedincích *Allium scorodoprasum*.

Měřené znaky	Jednotka
Výška rostliny bez toulce	cm
Výška rostliny s toulcem	cm
Průměr stonku	mm
Počet listů	ks
Délka čepele 2. horního listu	cm
Šířka čepele 2. horního listu	cm
Líc listu – hustota papil, okraj listu	1 mm ²
Rub listu – hustota papil, kýl – střed	1 mm ²
Líc – délka průduchů	μm
Líc – denzita průduchů	1 mm ²
Rub – délka průduchů	μm
Rub – denzita průduchů	1 mm ²
Počet dceřiných cibulí na stopce	ks
Počet dceřiných cibulí mušlovitých	ks
Délka cibule	cm
Šířka cibule	cm
Počet pacibulek	ks
Počet semen v květenství	ks
Délka toulce	cm
Délka zobánku toulce	cm
Průměr lichookolíku	cm
Počet květů – vyvinuté	ks
Počet květů – abortované	ks
Počet hlav	ks
Délka květní stopky	mm
Délka vnějšího okvětního lístku	mm
Šířka vnějšího okvětního lístku	mm
Délka vnitřního okvětního lístku	mm
Šířka vnitřního okvětního lístku	mm
Délka čnělky	mm
Délka semeníku	mm
Šířka semeníku	mm
Délka vnější nitky	mm
Délka vnitřní nitky	mm
Délka vnitřního prašníku	mm
Šířka vnitřního prašníku	mm
Délka vnějšího prašníku	mm
Šířka vnějšího prašníku	mm

Tabulka 3: Přehled kategorií u studovaných kategoriálních znaků na jedincích *Allium scorodoprasum*.

Kvantitativní znaky		Rozlišované kategorie							
Tvar květní stopky		přímá	zprohýbaná						
Barva květní stopky		fialová	bílá	nazelenalá					
Barva vnějšího okvětního lístku + žilka		nachová	růžová	tmavě nachová	světle nachová	*žilka byla vždy tmavě nachová			
Zakončení vnějšího okvětního lístku		špičaté	oblé	tupé					
Barva vnitřního okvětního lístku + žilka		nachová	růžová	tmavě nachová	světle nachová	*žilka byla vždy tmavě nachová			
Zakončení vnitřního okvětního lístku		špičaté	oblé	tupé					
Tvar semeníku		polokulovitý na bázi zúžený do stopky	široce obvejčitý	široce obvejčitý na apexu rozšířený nachová	válcovitý na apexu zúžený	válcovitý	elipsoidní	úzce obvejčitý	kosočtverečný
Barva semeníku		zelená	růžová	nachová					
Pozice prašníků		prašníky nevyčnívají	prašníky napůl vyčnívají	Prašníky vyčnívají více jak polovinu z okvěti					
Barva prašníku		zelená	růžová	nachová	bílá (bledá)				
Tvar papil (okraj, kýl)	bez papil	prstovité až tuberkulozní	kulovité	zubaté	malé cylindrické				
Zakončení prašníku		oblý	tupý	špičatý					
Barva nitky		bílá	nachová	růžová	bílá s nachovým zakončením				

3.2.1 Přítomnost, tvar a hustota papil na listech

U odebraného druhého nejhořejšího listu byla sledována papilnatost (tj. výskyt a rozmístění papil na okraji a kýlu listu) pomocí binokulární lupy a připojeného fotoaparátu při různých zvětšeních (příloha 1). Byla sledována a zaznamenávána hustota papil na okraji listu (líc) a na jeho kýlu (rub) a také tvar papil, který byl klasifikován do kategorií podle Mifsud & Mifsud (2018). Hustota papil se přepočítávala na 1 mm délky z pořízených fotografií při zvětšení 200x. Snímky byly pořízeny z okraje listu v místě báze, středu a vrcholu svrchní části listu a ze středu kýlu spodní části listu.

3.2.2 Otiskové preparáty, velikost a denzita průduchů

V dubnu po změření znaků na rostlině a papil byl zhotoven otiskový preparát odebraných listů pomocí laku na nehty (Pazourek 1963). Otiskový preparát sloužil ke zjištění velikosti, hustoty a uspořádání průduchů. Na druhý horní list se nanasla tenká vrstva bezbarvého laku na nehty,

a to v místech báze, středu a vrcholu adaxilní strany listu. Poté se stejný postup opakoval na abaxiální straně listu v oblasti středu kýlu listu. Po zaschnutí laku byl na lakový otisk přiložen proužek průsvitné izolepy, který byl i s otiskem průduchů stržen a nalepen na podložní sklo. Takto byly vytvořeny otiskové preparáty, které sloužily pro sledování průduchů v mikroskopu Olympus BX 60 při zvětšení 100x, 200x a 400x (příloha 2). Pomocí digitální kamery, kterou byl mikroskop vybaven, byly pořízeny fotografie vybraných částí listu (báze, střed, vrchol svrchní strany listu a kýl spodní strany listu). Délka a denzita průduchů byla zjišťována z pořízených fotografií v programu ImageJ (Rasband 2009). Denzita průduchů byla stanovena spočítáním průduchů na plochu pořízeného snímku. Průduchy, které přesahovaly plochu snímku, se zahrnuly do výpočtu jen ze dvou stran. Výsledná hodnota se přepočítala na 1 mm².

3.2.3 Morfologické znaky na květech

Přehled měřených znaků je uveden v tabulce 2 a 3. Znaky na květech byly studovány ve fázi plně vyvinutých květů na přelomu května a června 2022. Studium délky čnělky, prašníků a semeníků se provádělo v momentu, kdy byly tyto části květů plně vyvinuty. U každého měřeného jedince byly odebrány 1-3 květy z květenství. Tyto květy byly odebrány a uloženy do popsaných plastových sáčků. Následovala vlastní preparace každého květu pomocí pinzety. Nejprve proběhla preparace okvětních lístků, tyčinek, prašníků, nitky a jako poslední byla provedena preparace semeníku. Všechny rozebrané části květu byly nalepeny na arch bílého papíru a s přiloženým měřítkem byly na stolním skeneru okamžitě skenovány v rozlišení 1 200 dpi. Světle zbarvené části (např. tyčinky) byly lepeny na fixem začerněné pole pro lepší kontrast. Sken každého květu tedy obsahoval vnitřní a vnější okvětní lístky, nitky tyčinek, prašníky a semeník s čnělkou (příloha 3). Získané skeny byly poté analyzovány v programu ImageJ, výsledkem byly zjištěné rozměry studovaných znaků. U studovaných jedinců byl dále měřen tvar a průměr lichookolíku, počet hlav lichookolíků, počet květů vyvinutých a abortovaných (zakrnělých).

Následně byla květenství po odkvětu uschována do malých pytlíčků vyrobených z bílé netkané textilie, aby nedošlo při dozrávání ke ztrátě pacibulek/semenek z květenství. Po dozrání semen a pacibulek byla studovaným jedincům odstrižena květenství pomocí nůžek, pytlíčky s pacibulkami byly rozebrány a spočítal se počet pacibulek a počet semen na jedince (příloha 4).

3.2.4 Morfologické znaky na cibulích

Na podzim roku 2022 byli studovaní jedinci daných populací přesunuti z pozemku do skleníku. Jedinci byli opatrně vyňati z květináčů a očištěni k následnému měření. U jedinců se měřila délka a šířka mateřských cibulí. Stejným způsobem se postupuje při zjišťování znaků u dceřiných cibulí, avšak tyto znaky dceřiných cibulí budou měřeny až v létě dalšího roku pro zjištění jejich skutečné produkce. U dceřiných cibulí se bude zjišťovat počet cibulí dvojího typu: (a) počet „stopkatých“ cibulí (dceřiné cibule na stopce, většinou umístěné nad mateřskou cibulí) a (b) počet „mušlovitých“ cibulí vytvořených u mateřské cibule. Po měření byli jedinci navraceni zpět do květináče a přesunuti zpět na pozemek.

3.3 Analýza morfometrických dat

Získané údaje pro znaky, resp. jejich poměry, byly porovnávány mezi cytotypy ($2n = 2x, 3x, 4x$). Jednotlivé znaky byly analyzovány samostatně. Pro statistickou analýzu jednotlivých kategoriálních znaků byly použity kontingenční tabulky, v případě kvantitativních znaků byla použita jednocestná analýza variance (ANOVA). Populační identita nebyla v analýzách zahrnuta z důvodu nízkého počtu opakování ve většině studovaných populací.

Kvantitativní znaky pocházely z měření na jednotlivých jedincích. Pokud byl některý znak měřen vícekrát na témže jedinci (například délka květní stopky), pak se nejprve jednotlivé hodnoty zprůměrovaly a do dalších analýz byla použita jen průměrná hodnota. Kategoriální znaky byly interpretovány na základě nejčetnější kategorie pro daný cytotyp. Všechny analýzy byly prováděny v programu R (The R Project for Statistical Computing 2023) a R studio (R-Studio 9.2 2023), a grafické výstupy byly získány za pomoci knihovny ggplot2 (Wickham 2011, Wickham et al. 2016).

4. VÝSLEDKY

Cílem práce bylo porovnat variabilitu morfologických a anatomických znaků mezi studovanými cytotypy a zjistit, zdali jsou mezi nimi odlišnosti v průměrných hodnotách kvantitativních znaků a rozdíly v relativních četnostech kategorií kategoriálních znaků.

4.1 Kvantitativní znaky

Výsledky statistického porovnání kvantitativních znaků mezi cytotypy jsou uvedeny v tabulce 4. V tabulce 5 jsou uvedeny popisné statistiky pro jednotlivé analyzované znaky a studované ploidní stupně.

Tabulka 4: Analýza variance (ANOVA) kvantitativních znaků pro tři studované cytotypy *Allium scorodoprasum*. Za signifikantní (a tučně vyznačená) je považována hodnota $P \leq 0,05$.

Znak	SSg	MSg	DFg	SSe	MSe	DFe	F	P
Výška rostliny s toulcem (cm)	2231	1115.60	2	24739	284.40	87	3.92	0.021
Výška rostliny bez toulce (cm)	2244	1121.90	2	23707	272.50	87	4.12	0.027
Průměr stonku (cm)	3.57	1.78	2	220.73	2.54	87	0.70	0.504
Počet listů (ks)	0.84	0.42	2	65.26	0.75	87	0.56	0.571
Délka čepele 2. horního listu (cm)	174.60	87.29	2	2584.50	29.71	87	2.94	0.064
Šířka čepele 2. horního listu (cm)	0.44	0.22	2	16.58	0.19	87	1.16	0.322
Poměr šířka/délka listu (cm)	0.02	0.01	2	0.03	0.00	87	3.63	0.033
Líc listu – hustota papil, okraj listu (počet na 1 mm)	7.45	3.72	2	136.38	1.57	87	2.38	0.105
Rub listu – hustota papil, kýl – střed (počet na 1 mm)	0.20	0.09	2	431.90	4.97	87	0.02	0.983
Líc: délka průduchů (μm)	713.30	356.60	2	439.80	5.10	87	70.54	0.001
Líc: denzita průduchů (1 mm ²)	9862	4931	2	79437	913	87	5.40	0.016
Rub: délka průduchů (μm)	509.50	254.74	2	566.90	6.52	87	39.09	0.003
Rub: denzita průduchů (1 mm ²)	2046	1023.10	2	60720	697.90	87	1.47	0.245
Délka cibule (cm)	0.03	0.01	2	8.78	0.10	87	0.14	0.871
Šířka cibule (cm)	0.12	0.06	2	14.76	0.17	87	0.35	0.711
Poměr šířka/délka cibule (cm)	0.17	0.09	2	4.07	0.05	87	1.83	0.177
Počet pacibulek (ks)	25884	12942	2	274190	3152	87	4.11	0.029
Délka toulce (cm)	0.31	0.15	2	26.74	0.31	87	0.50	0.612
Délka zobánku toulce (cm)	0.30	0.15	2	15.68	0.18	87	0.82	0.455
Poměr délka zobánku/délka toulce (cm)	0.06	0.03	2	1.34	0.02	87	1.83	0.173
Lichookolík průměr (cm)	128	64.23	2	4152	47.72	87	1.35	0.274
Počet květů (jedinci s i bez květů): vyvinuté (ks)	1546	773	2	10930	125.60	87	6.15	0.001
Počet květů (jedinci s květy): vyvinuté (ks)	392	196.10	2	9188	133.20	69	1.473	0.236
Počet květů (jedinci s i bez květů): abortované (ks)	27.38	13.69	2	312.41	3.59	87	3.81	0.035
Počet květů (jedinci s květy): abortované (ks)	7.11	3.55	2	189.31	4.03	47	0.88	0.420
Celkový počet květů (jedinci s i bez květů, ks)	1843	921.30	2	10890	125.20	87	7.36	0.004
Celkový počet květů (jedinci s květy, ks)	319	159.40	2	9485	131.70	72	1.21	0.304

Tabulka 4: Pokračování.

Počet hlav (ks)	15.43	7.72	2	46.79	0.54	87	14.35	0.000
Délka květní stopky (mm)	10.40	5.18	2	377.60	5.47	69	0.95	0.397
Délka vnějšího okvětního lístku (mm)	7.50	3.75	2	17.33	0.25	69	14.93	0.000
Šířka vnějšího okvětního lístku (mm)	1.16	0.58	2	5.27	0.08	69	7.58	0.001
Poměr šířka/délka okvětního lístku vnějšího (mm)	0.01	0.00	2	0.56	0.01	69	0.33	0.724
Délka vnitřního okvětního lístku (mm)	6.83	3.41	2	17.54	0.25	69	13.43	0.006
Šířka vnitřního okvětního lístku (mm)	0.75	0.38	2	5.76	0.08	69	4.52	0.018
Poměr šířka/délka okvětního lístku vnitřního (mm)	0.06	0.03	2	1.36	0.02	69	1.54	0.225
Délka čnělky (mm)	1.48	0.74	2	12.35	0.18	69	4.13	0.022
Délka semeníku (mm)	10.50	5.25	2	12.71	0.18	69	28.49	0.002
Šířka semeníku (mm)	2.39	1.19	2	6.35	0.09	69	12.97	0.004
Poměr šířka/délka semeníku (mm)	0.04	0.02	2	1.49	0.02	69	1.02	0.378
Délka nitky vnější (mm)	0.42	0.21	2	10.80	0.16	69	1.33	0.276
Délka nitky vnitřní (mm)	0.98	0.49	2	10.55	0.15	69	3.21	0.041
Délka prašníku vnitřní (mm)	0.17	0.08	2	1.75	0.03	69	3.33	0.044
Šířka prašníku vnitřní (mm)	0.03	0.01	2	1.22	0.02	69	0.69	0.504
Poměr šířka/délka prašníku vnitřního (mm)	0.02	0.01	2	1.39	0.02	69	0.39	0.687
Délka prašníku vnější (mm)	0.15	0.07	2	1.75	0.03	69	2.93	0.068
Šířka prašníku vnější (mm)	0.01	0.00	2	0.02	1.16	69	0.23	0.801
Poměr šířka/délka prašníku vnějšího (mm)	0.04	0.02	2	1.40	0.02	69	0.88	0.422

Tabulka 5: Vybrané popisné statistiky (průměr, směrodatná odchylka, 25% a 75% kvantil, maximum a minimum) jednotlivých morfologických znaků studovaných cytotypů *Allium scorodoprasum*. Ø – průměr měřených znaků, SD – směrodatná odchylka, x₂₅ – 25% kvantil a x₇₅ – 75% kvantil, Min – minimum, Max – maximum.

Znak	Diploid						Triploid						Tetraploid					
	Ø	SD	x ₂₅	x ₇₅	Min	Max	Ø	SD	x ₂₅	x ₇₅	Min	Max	Ø	SD	x ₂₅	x ₇₅	Min	Max
Líc listu – hustota papil, okraj listu (počet na 1 mm)	6.00	1.24	5.00	7.00	3.00	9.00	5.87	1.25	5.00	6.75	3.00	8.00	5.09	1.30	4.00	6.00	3.00	7.00
Rub listu – hustota papil, kýl – střed (počet na 1 mm)	2.94	2.08	0.00	4.00	0.00	7.00	2.87	2.57	0.00	4.00	0.00	8.00	2.82	1.83	1.50	4.00	0.00	4.00
Líc: délka průduchů (µm)	20.52	2.14	18.95	22.28	16.11	24.46	22.91	1.53	21.79	24.01	21.22	26.53	29.36	3.91	27.07	33.92	24.32	34.37
Líc: denzita průduchů (1 mm ²)	118.69	29.63	96.13	114.19	48.06	171.66	98.87	34.15	75.53	109.86	41.19	192.25	94.89	18.64	82.39	106.49	61.80	123.59
Rub: délka průduchů (µm)	19.41	2.98	17.56	22.34	12.87	24.33	22.25	2.10	21.06	24.15	17.75	25.91	26.59	1.16	25.99	27.27	24.49	28.41
Rub: denzita průduchů (1 mm ²)	97.67	23.59	82.39	109.86	54.93	151.06	88.38	33.13	68.66	101.28	27.46	178.52	87.39	14.76	82.39	96.13	54.93	109.86
Délka cibule (cm)	1.39	0.33	1.12	1.65	0.70	2.20	1.43	0.31	1.21	1.50	0.70	2.10	1.41	0.25	1.28	1.50	1.10	1.90
Šířka cibule (cm)	1.30	0.37	1.10	1.50	0.40	2.30	1.25	0.47	0.93	1.48	0.32	2.30	1.19	0.43	0.90	1.30	0.65	2.10
Poměr šířka/délka cibule (cm)	0.94	0.21	0.80	1.09	0.50	1.53	0.86	0.23	0.76	0.95	0.33	1.47	0.83	0.21	0.67	0.98	0.58	1.17
Počet listů (ks)	4.02	0.88	3.00	5.00	3.00	6.00	3.77	0.68	3.00	4.00	3.00	5.00	3.91	1.22	3.00	4.50	3.00	6.00
Délka čepele 2. horního listu (cm)	17.24	5.09	13.30	19.50	8.00	30.30	19.91	5.74	15.85	23.80	12.50	35.20	18.13	6.23	13.05	21.95	9.50	28.50
Šířka čepele 2. horního listu (cm)	1.38	0.45	1.00	1.70	0.40	2.50	1.39	0.41	1.13	1.68	0.70	2.40	1.16	0.45	0.85	1.40	0.50	2.00
Poměr šířka/délka listu (cm)	0.08	0.02	0.07	0.09	0.04	0.13	0.07	0.02	0.06	0.08	0.03	0.10	0.07	0.03	0.05	0.08	0.03	0.12
Výška rostliny s toulcem (cm)	62.20	16.23	49.50	72.20	29.50	99.50	70.18	18.07	53.80	80.75	40.50	117.00	55.79	16.18	40.55	68.70	36.70	80.30
Výška rostliny bez toulce (cm)	60.35	15.90	48.20	70.30	28.00	95.50	68.33	17.75	52.03	78.63	38.50	114.00	53.81	15.58	39.05	66.15	36.00	77.80
Průměr stonku (cm)	5.13	1.61	4.00	5.80	1.87	9.87	5.04	1.59	3.72	6.03	2.88	8.61	4.45	1.50	3.30	5.26	3.00	7.74
Délka toulce (cm)	1.85	0.59	1.50	2.00	0.80	4.30	1.85	0.42	1.50	2.00	1.00	3.00	1.98	0.70	1.45	2.50	0.70	3.20
Délka zobánku toulce (cm)	0.60	0.47	0.30	0.70	0.20	2.80	0.51	0.34	0.30	0.58	0.10	1.80	0.68	0.41	0.40	0.75	0.20	1.50
Poměr délka zobánku/délka toulce (cm)	0.31	0.12	0.22	0.38	0.11	0.65	0.26	0.12	0.20	0.30	0.10	0.60	0.33	0.10	0.27	0.41	0.20	1.50
Počet pacibulek (ks)	113.14	63.97	59.00	140.00	16.00	313.00	97.23	50.79	61.50	135.50	21.00	221.00	60.27	17.25	51.00	71.50	28.00	84.00
Lichookolík průměr (cm)	22.65	6.83	18.06	25.88	11.76	41.58	20.04	7.38	15.43	24.62	6.83	24.62	22.11	5.76	17.85	26.15	15.20	31.16
Počet květů: vyvinuté (ks)	13.76	12.66	3.00	23.00	0.00	58.00	11.33	10.52	4.25	16.75	0.00	43.00	0.64	1.57	0.00	0.00	0.00	5.00

Tabulka 5: Pokračování.

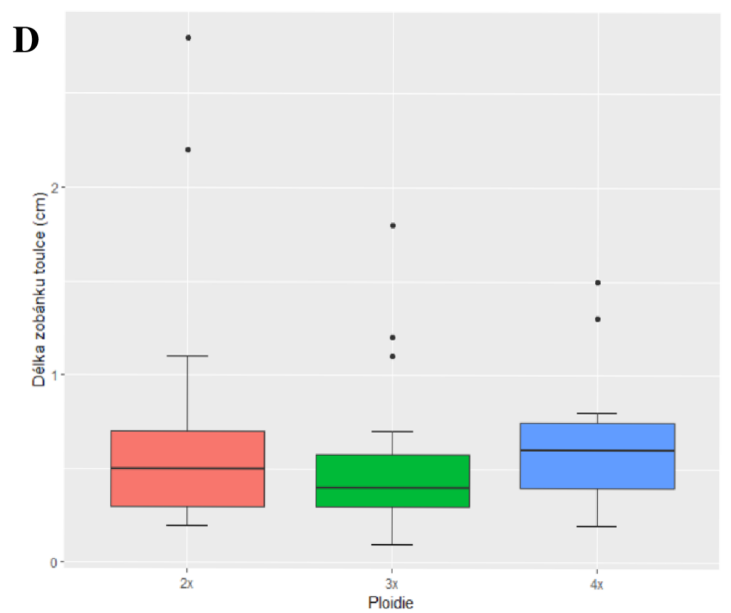
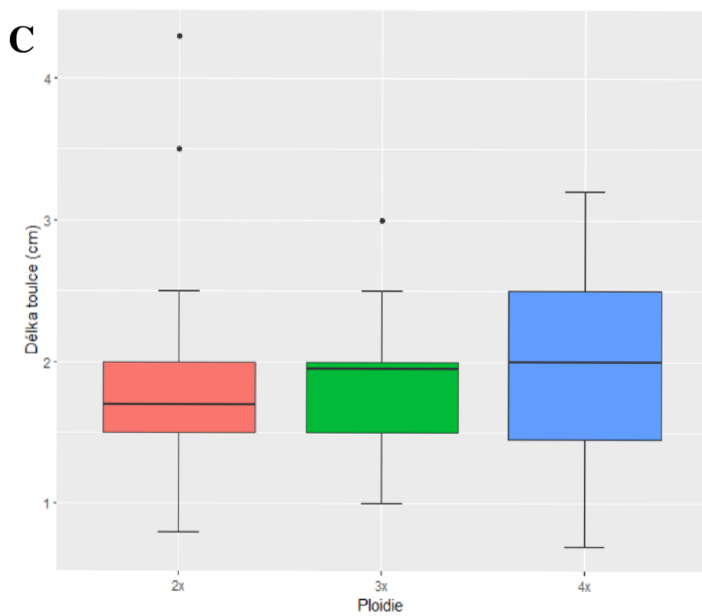
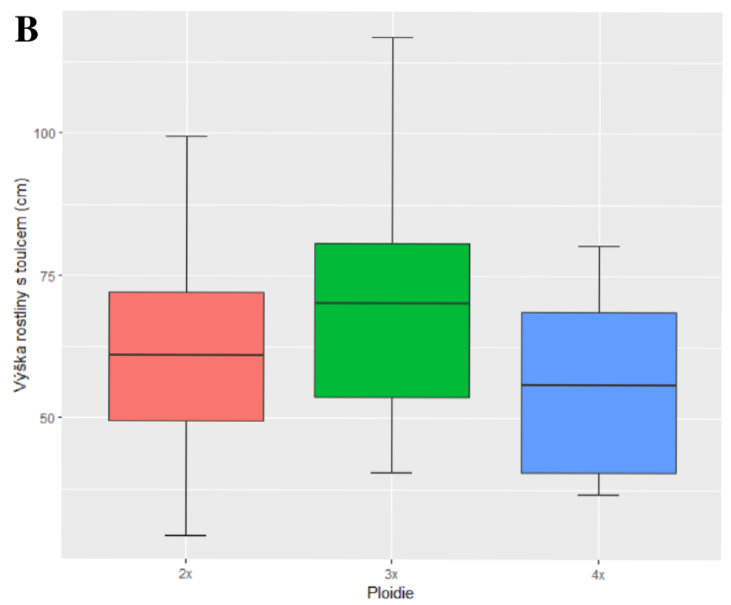
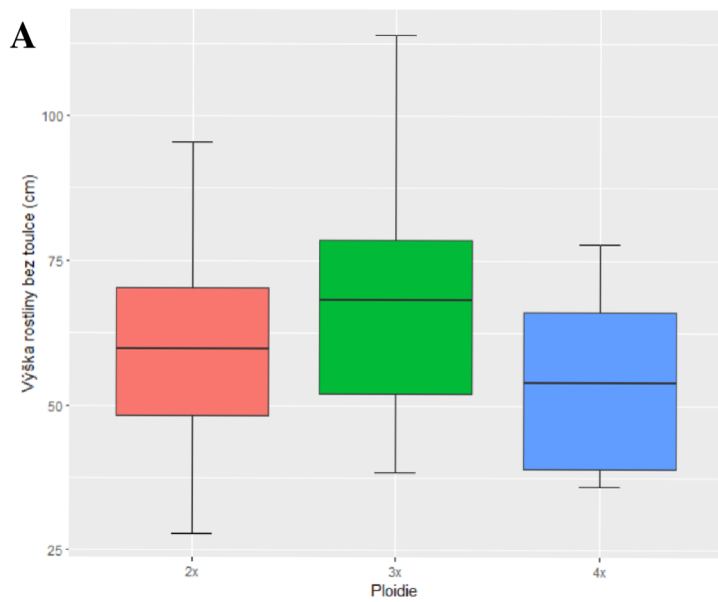
Znak	Diploid						Triploid						Tetraploid					
	Ø	SD	x25	x75	Min	Max	Ø	SD	x25	x75	Min	Max	Ø	SD	x25	x75	Min	Max
Počet květů: abortované (ks)	1.33	1.51	0.00	2.00	0.00	6.00	2.00	2.63	0.00	2.75	0.00	12.00	0.18	0.60	0.00	0.00	0.00	2.00
Celkový počet květů (ks)	15.08	12.64	5.00	25.00	0.00	58.00	13.33	10.46	6.00	17.75	0.00	46.00	0.82	2.14	0.00	0.00	0.00	7.00
Počet hlav (ks)	1.51	0.89	1.00	2.00	1.00	4.00	1.00	0.00	1.00	1.00	1.00	1.00	2.36	0.92	2.00	3.00	1.00	4.00
Délka květní stopky (mm)	6.58	2.37	5.10	7.86	1.86	13.90	5.99	2.33	4.43	6.84	2.03	6.84	4.84	0.94	4.51	5.18	4.18	5.51
Délka vnějšího okvětního lístku (mm)	3.66	0.57	3.42	4.01	1.09	4.50	4.33	0.37	4.12	4.58	3.51	5.15	3.63	0.01	3.62	3.63	3.62	3.64
Šířka vnějšího okvětního lístku (mm)	1.40	0.28	1.21	1.59	1.01	1.92	1.66	0.28	1.52	1.80	1.13	1.80	1.58	0.07	1.56	1.61	1.53	1.63
Poměr šířka/délka okvětního lístku vnějšího (mm)	0.39	0.11	0.34	0.43	0.25	0.93	0.38	0.05	0.36	0.42	0.26	0.43	0.44	0.02	0.43	0.44	0.42	0.45
Délka vnitřního okvětního lístku (mm)	2.27	0.47	1.90	2.58	1.43	3.29	2.90	0.56	2.54	3.22	1.69	3.89	2.15	0.22	2.07	2.22	2.00	2.30
Šířka vnitřního okvětního lístku (mm)	1.31	0.28	1.09	1.50	0.91	2.03	1.52	0.31	1.28	1.65	1.03	2.65	1.32	0.15	1.26	1.37	1.21	1.42
Poměr šířka/délka okvětního lístku vnitřního (mm)	0.60	0.15	0.50	0.71	0.35	0.97	0.54	0.12	0.45	0.60	0.35	0.82	0.62	0.13	0.57	0.67	0.53	0.71
Délka čnělky (mm)	1.26	0.23	1.11	1.47	0.87	1.72	1.55	0.62	0.95	2.11	0.60	2.40	1.17	0.39	1.03	1.31	0.89	1.45
Délka semeníku (mm)	2.28	0.42	2.00	2.63	1.58	3.30	3.08	0.45	2.72	3.40	2.38	4.03	2.56	0.37	2.43	2.69	2.30	2.83
Šířka semeníku (mm)	1.49	0.28	1.23	1.72	1.05	2.07	1.87	0.31	1.72	2.06	1.12	2.45	1.66	0.75	1.40	1.93	1.13	2.19
Poměr šířka/délka semeníku (mm)	0.67	0.15	0.58	0.77	0.39	0.98	0.62	0.13	0.51	0.70	0.38	0.70	0.63	0.20	0.56	0.71	0.49	0.78
Délka nitky vnější (mm)	2.39	0.38	2.13	2.64	1.54	3.33	2.40	0.43	2.17	2.70	1.33	3.02	1.93	0.04	1.92	1.95	1.90	1.96
Délka nitky vnitřní (mm)	2.52	0.37	2.20	2.80	1.77	3.47	2.46	0.43	2.16	2.75	1.47	3.12	1.81	0.04	1.80	1.83	1.78	1.84
Délka prašníku vnitřní (mm)	0.90	0.14	0.82	0.97	0.62	1.29	1.01	0.18	0.87	1.10	0.61	1.44	0.93	0.14	0.88	0.98	0.83	1.03
Šířka prašníku vnitřní (mm)	0.55	0.12	0.48	0.64	0.22	0.91	0.58	0.15	0.45	0.67	0.31	0.84	0.62	0.08	0.59	0.65	0.57	0.68
Poměr šířka/délka prašníku vnitřního (mm)	0.61	0.12	0.54	0.68	0.36	0.89	0.59	0.17	0.46	0.71	0.34	0.95	0.67	0.02	0.66	0.68	0.66	0.68
Délka prašníku vnější (mm)	0.90	0.14	0.83	1.01	0.53	1.24	0.99	0.18	0.89	1.09	0.62	1.38	0.79	0.27	0.70	0.89	0.60	0.98
Šířka prašníku vnější (mm)	0.57	0.11	0.50	0.65	0.30	0.94	0.60	0.15	0.47	0.67	0.34	0.90	0.59	0.17	0.53	0.65	0.47	0.71
Poměr šířka/délka prašníku vnějšího (mm)	0.64	0.12	0.55	0.70	0.47	0.96	0.62	0.18	0.48	0.71	0.36	1.05	0.75	0.04	0.74	0.77	0.73	0.78

4.1.1 Vegetativní orgány

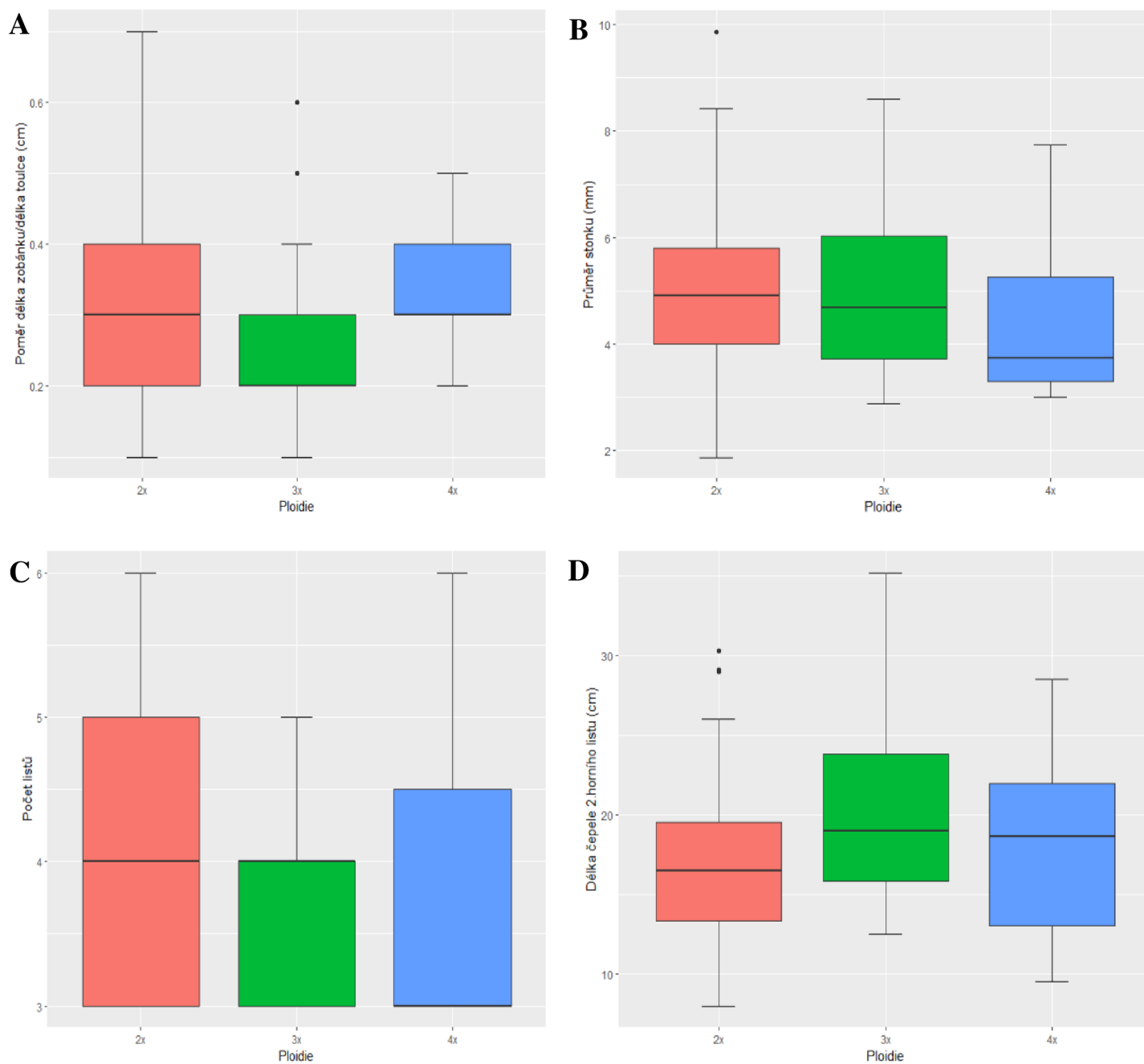
Pro studium vegetativních orgánů bylo vybráno 10 znaků. U všech vegetativních znaků byl zjištěn signifikantní vliv ploidního stupně na jejich střední hodnoty (tabulka 4, 5). Krabičkové diagramy zobrazují variabilitu jednotlivých znaků u studovaných cytotypů (obrázky 6-8).

Výška rostliny byla různá mezi cytotypy. Nejvyšší byl triploidní cytotyp (výška se pohybovala mezi 52-76 cm), následně cytotyp diploidní (s výškou okolo 48-64 cm) a nejnižší byl cytotyp tetraploidní (s výškou okolo 40-65 cm). Délka toulce se s narůstající ploidí zvyšovala. Nejdelší toulec měl cytotyp tetraploidní, který byl dlouhý až 3,2 cm. Délka zobánku toulce byla u všech cytotypů nízká a pohybovala se omezi 0,5 a 1,2 cm. Průměr stonku se s rostoucí ploidí snižoval. Nejužší stonek měl tetraploidní cytotyp.

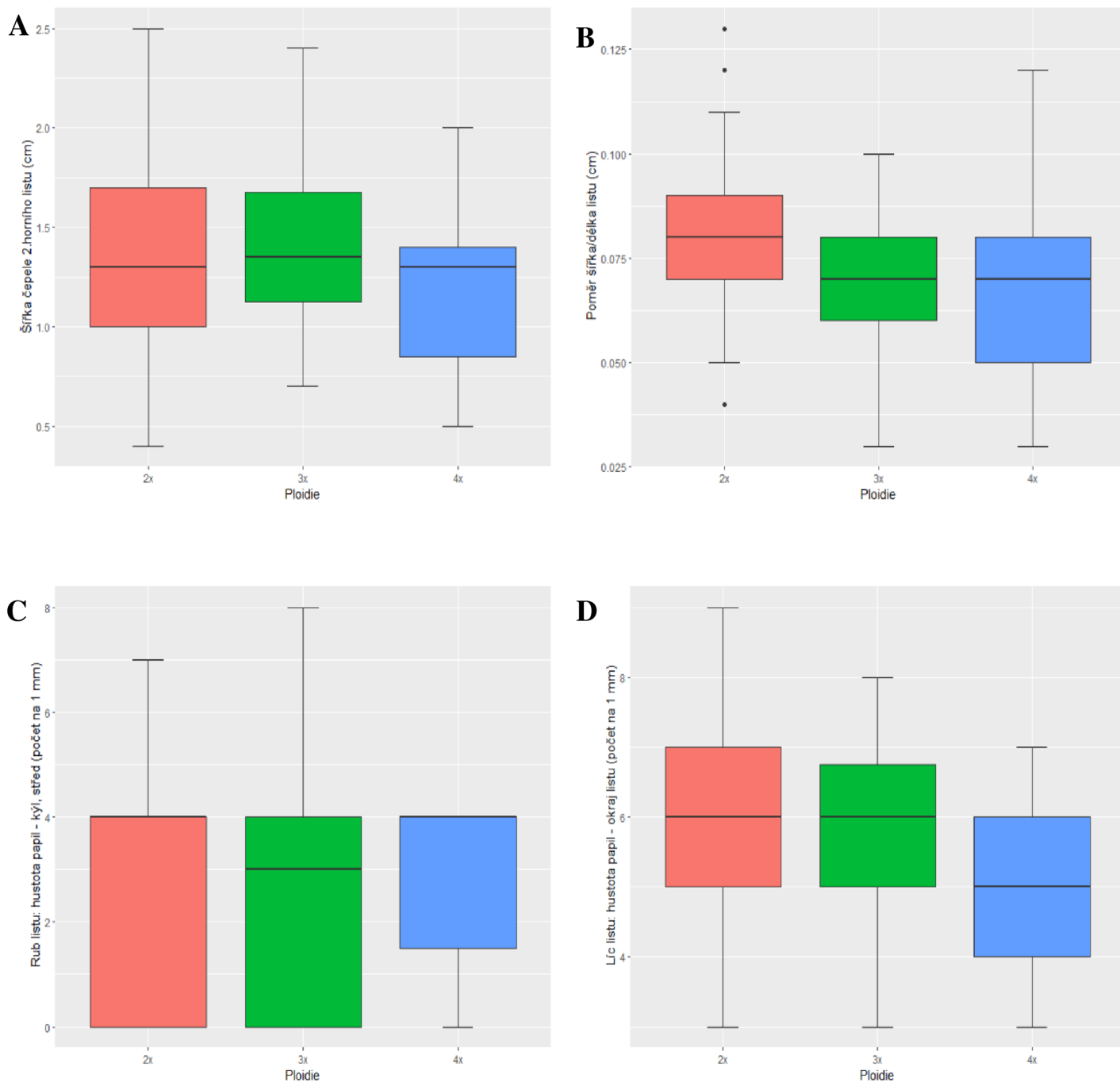
Mezi cytotypy se lišil i počet listů. Rozsah počtu listů se pohyboval mezi 3 a 6 listy. U tetraploidního cytotypu převažovaly 3 listy, zatímco u diploidního a triploidního cytotypu převažovaly listy 4. Délka a šířka čepele 2. horního listu rostla z diploidní na triploidní cytotyp, kdežto u tetraploidního cytotypu spíše klesala. Hustota papil na okraji listu narůstala s rostoucím stupněm ploidie, kdežto na kýlu rubu listu byla u všech cytotypů v průměru stejná.



Obrázek 6: Krabičkové diagramy znázorňují variabilitu znaků u di-, tri- a tetraploidů *A. scorodoprasum*: A – Výška rostliny bez toulce (cm), B – Výška rostliny s toulcem (cm), C – Délka toulce (cm) D – Délka zobánku toulce (cm). Linie uprostřed čtverců označuje medián. Vyznačeno je maximum, minimum, horní a dolní kvartil.



Obrázek 7: Krabičkové diagramy znázorňují variabilitu znaků u di-, tri- a tetraploidů *A. scorodoprasum*: A – Poměr délka zobánku/délka toulce (cm), B – Průměr stonku (mm), C – Počet listů, D – Délka čepele 2. horního listu (cm). Linie uprostřed krabičky označuje medián. Vyznačeno je maximum, minimum, horní a dolní kvartil.



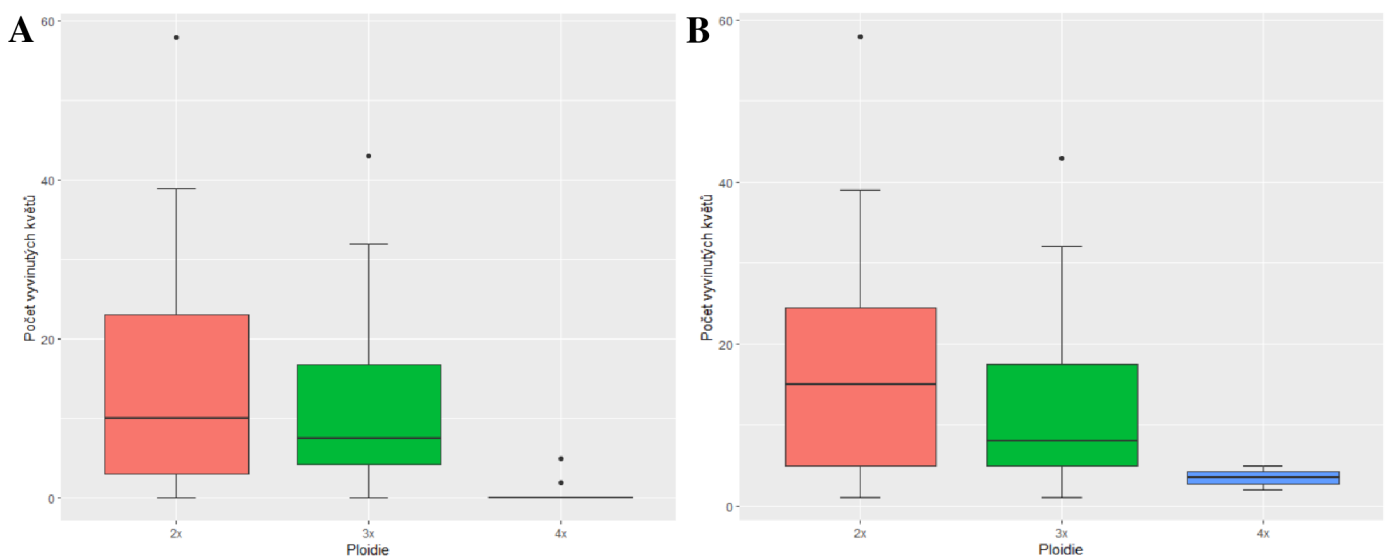
Obrázek 8: Krabičkové diagramy znázorňují variabilitu znaků u di-, tri- a tetraploidů *A. scorodoprasum*: A – Šířka čepele 2. horního listu (cm), B – Poměr šířka/délka listu (cm), C – Rub listu: hustota papil na kýlu a střed listu (počet na 1 mm), D – Líc listu: hustota papil na okraji listu (počet na 1 mm). Linie uprostřed krabičky označuje medián. Tečka nad a pod grafy označuje odlehlé hodnoty. Vyznačeno je maximum, minimum, horní a dolní kvartil.

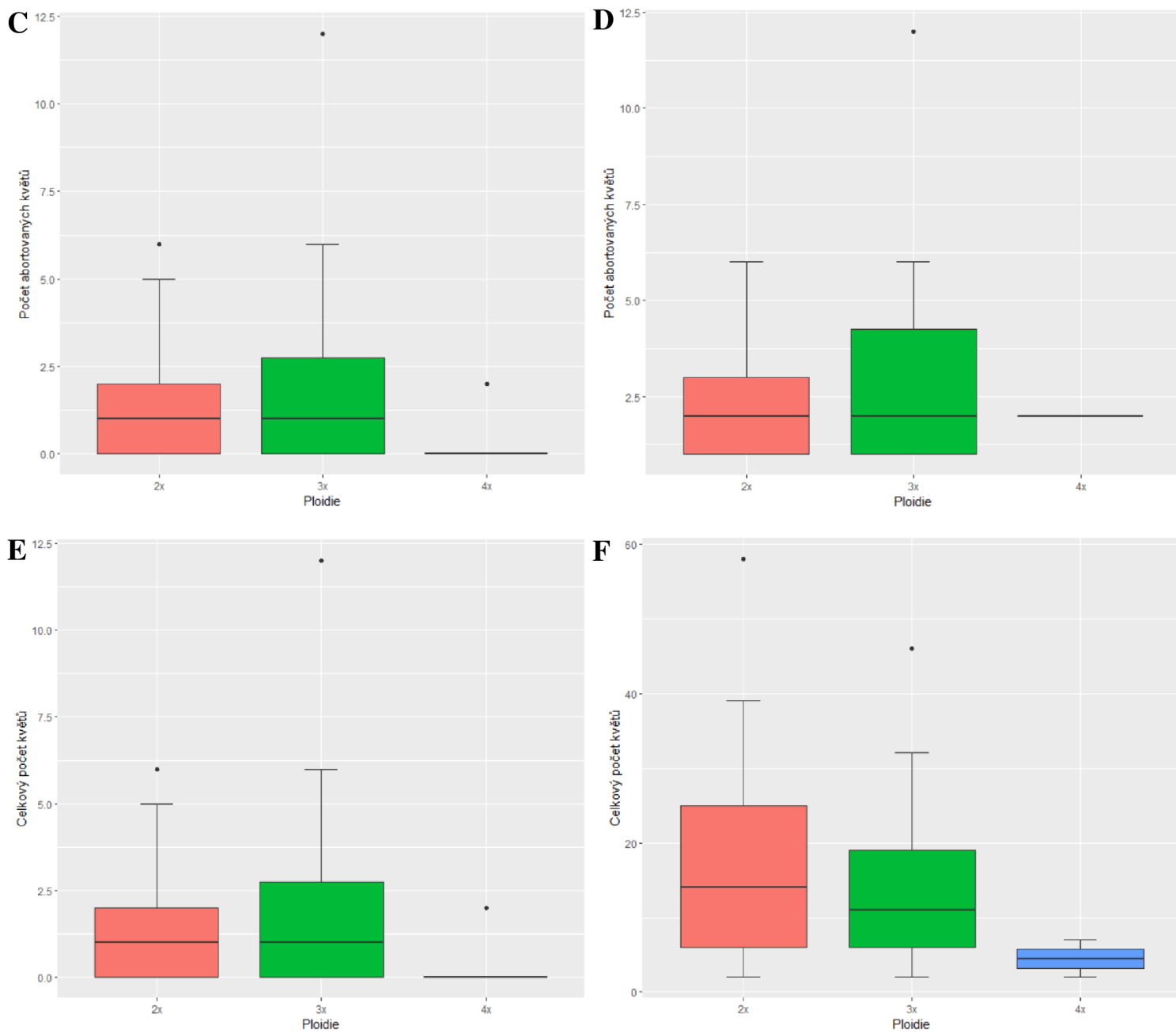
4.1.2 Generativní orgány

Popisná statistika znaků na generativních orgánech pro studované cytotypy a výsledky statistického porovnání jsou uvedeny v tabulkách 4 a 5, grafické výstupy pak na obrázcích 9-15. Z 19 studovaných znaků byl prokázán rozdíl mezi cytotypy u 17, pouze u znaků průměr lichookolíku a šířka vnějšího prašníku nebyly nalezeny rozdíly ve střední hodnotě mezi cytotypy.

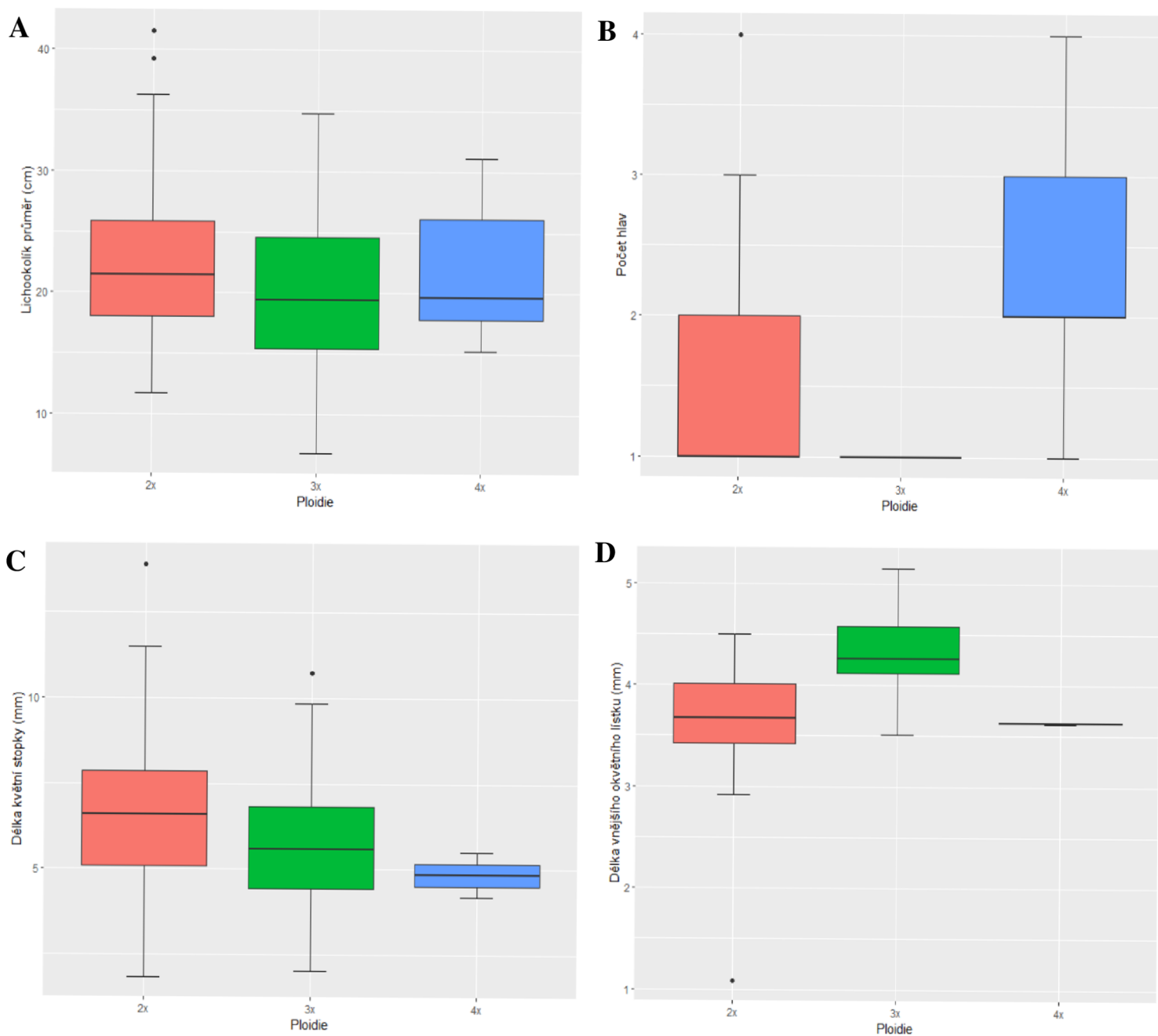
V analýze produkce květů a pacibulek jsou zahrnuti i jedinci produkující pouze pacibulky. Celkem se jedná o 18 jedinců, kteří nevyprodukovali květy (nejméně květů měl tetraploidní cytotyp, obrázek 9). Počet vyvinutých květů se s rostoucí ploidií snižoval, kdežto počet abortovaných květů byl různý (tabulka 5, obrázek 9). Celkový počet květů byl tedy nejvyšší u cytotypu diploidního, zatímco tetraploidní cytotyp vyprodukoval velmi málo květů. Největší variabilita počtu květů byla mezi di-tetra a tri-tetraploidním cytotypem. Počet narostlých „hlav“ (hlav lichookolíku) byl nejvyšší u tetraploidních jedinců, kteří měli až 4 hlavy, diploidní jedinci měli maximálně 3 hlavy a triploidní jedinci měli všichni jen 1 hlavu. Průměr lichookolíku byl méně variabilní znak, průměr se pohyboval u všech cytotypů kolem 18-25 cm.

Délka květní stopky se s rostoucí ploidií snižovala. Délka a šířka vnějšího okvětního lístku se z diploidního na triploidní cytotyp zvyšovala. Obdobně na tom byla délka a šířka vnitřního okvětního lístku. Variabilní mezi cytotypy byla i délka čnělky. Při měření délky čnělky u triploidního cytotypu jsem získala variabilní hodnoty. Délka a šířka semeníku byla variabilní mezi cytotypy a zvyšovala se z diploidního na triploidní cytotyp, zatímco cytotyp tetraploidní měl délku a šířku semeníku nižší než cytotyp triploidní. Variabilita mezi cytotypy se prokázala i ve znacích délka vnitřní a vnější nitky (ta se s rostoucí ploidií snižovala a nejvíce byla variabilní mezi di-tetra a tri-tetraploidním cytotypem), délka a šířka vnitřního prašníku a délka vnějšího prašníku, kdy vnitřní i vnější prašníky byly větší u tri- než u diploidního cytotypu. Nejvíce variabilní v délce a šířce prašníku byli triploidní jedinci.

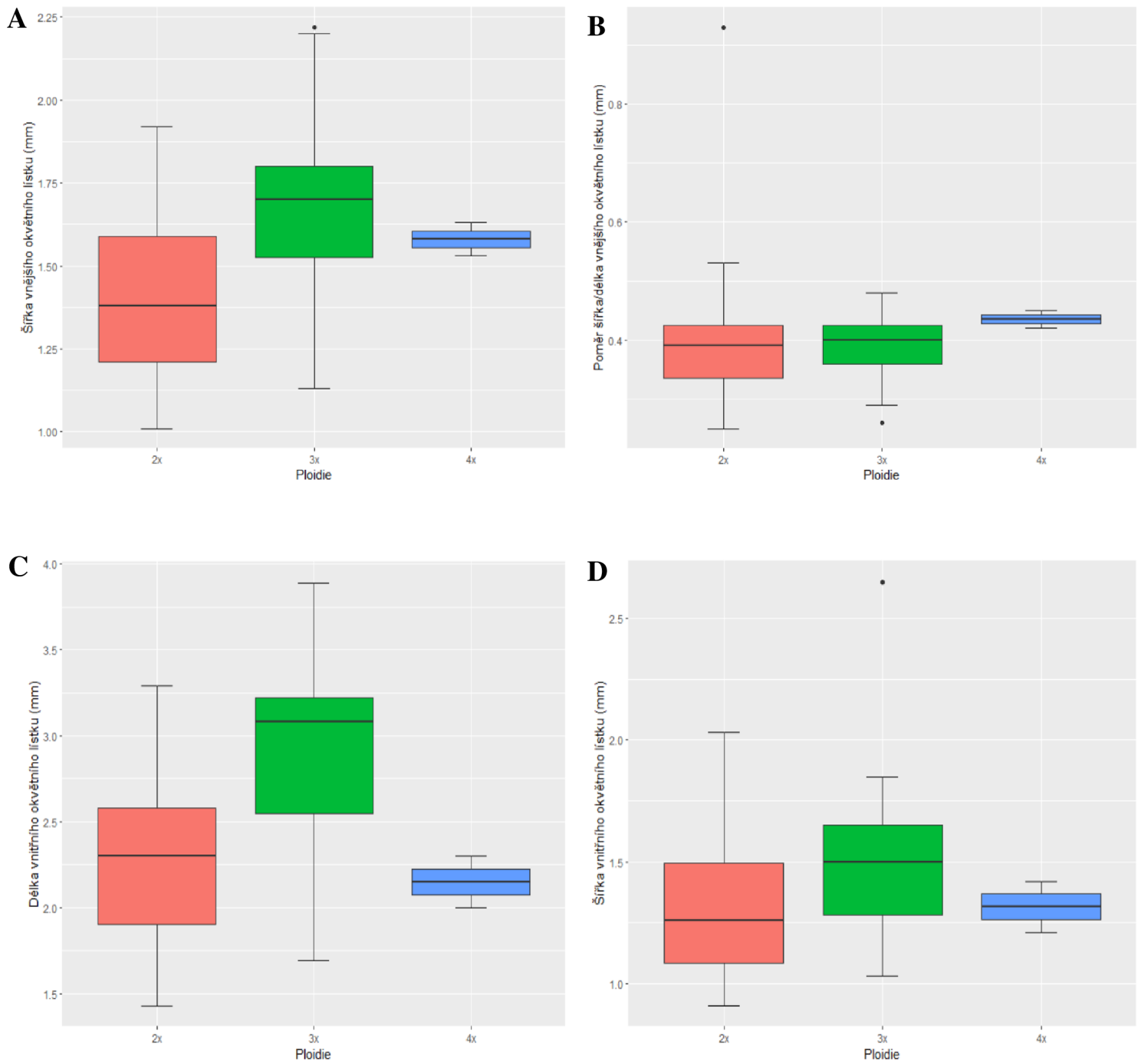




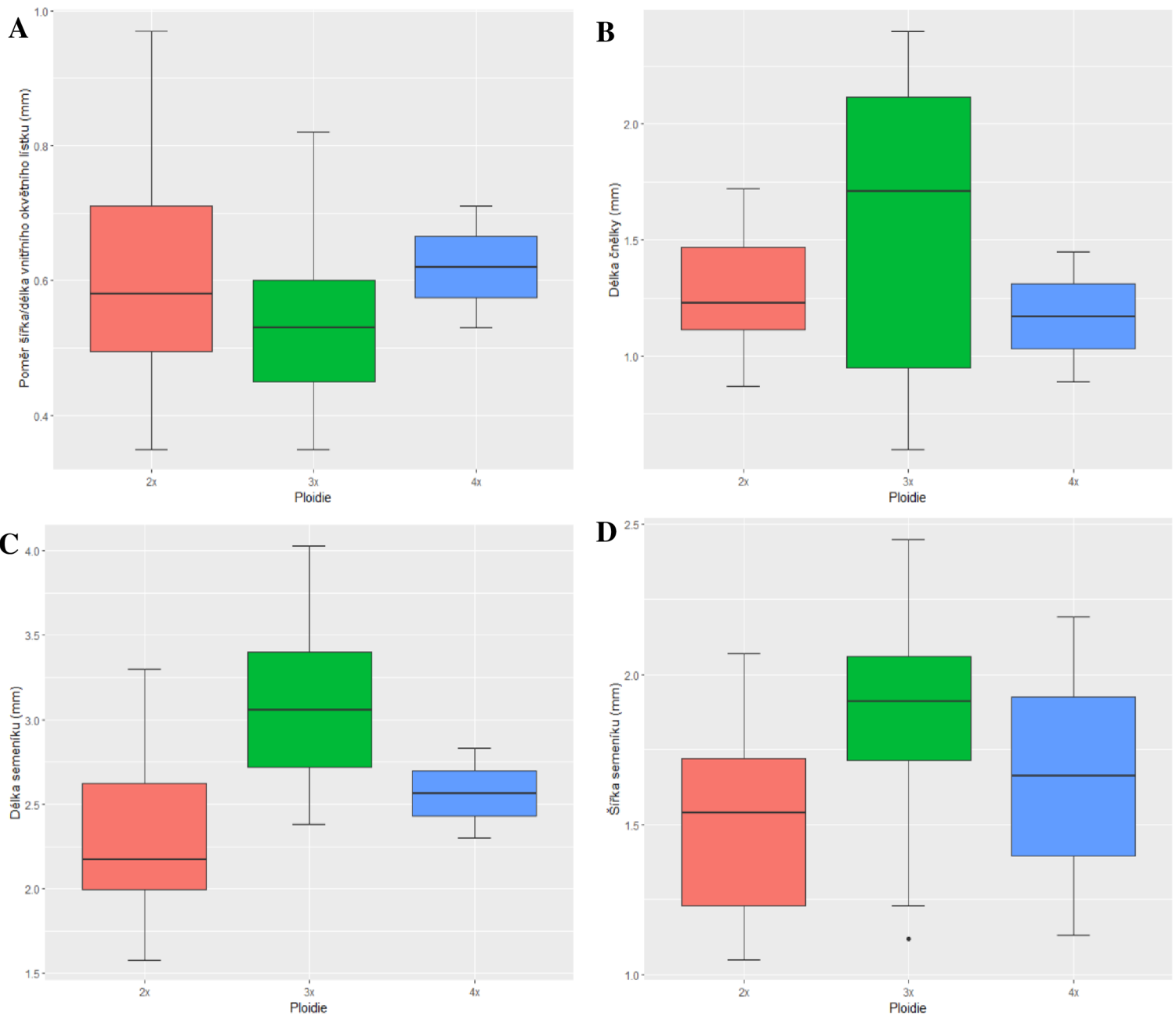
Obrázek 9: Krabičkové diagramy znázorňují variabilitu počtu květů u di-, tri- a tetraploidů *A. scorodoprasum*: Jedinci s květy i bez květů: A –vyvinutých květů, C –abortovaných květů, E – Celkový počet květů. Jedinci pouze s květy: B –vyvinutých květů, D –abortovaných květů, F – Celkový počet květů. Linie uprostřed krabičky označuje medián. Tečka nad a pod grafy označuje odlehlé hodnoty. Vyznačeno je maximum, minimum, horní a dolní kvartil.



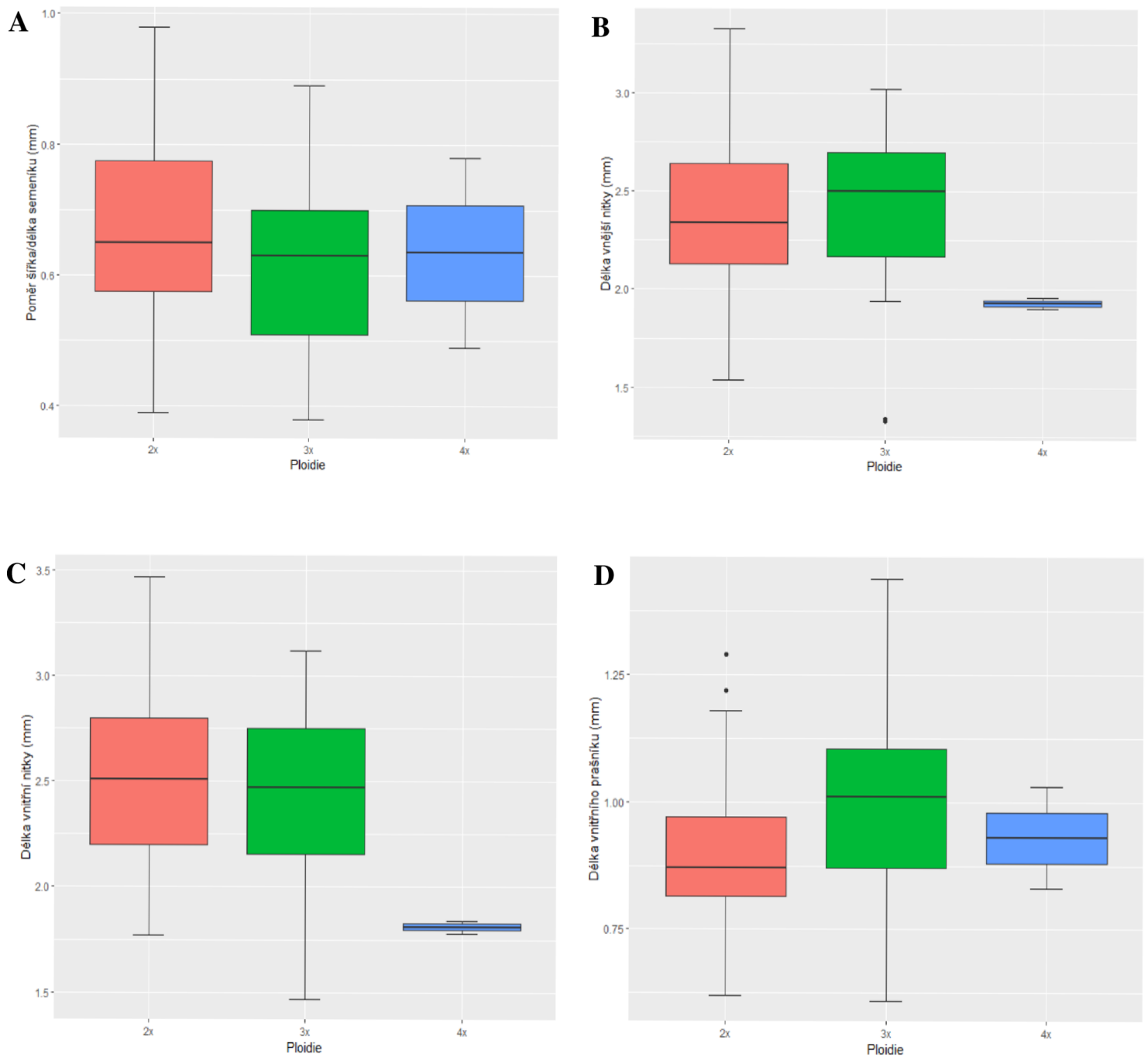
Obrázek 10: Krabičkové diagramy znázorňují variabilitu znaků u di-, tri- a tetraploidů *A. scorodoprasum* (jedinci s květy): A – Průměr lichookolíku (cm), B – Počet hlav, C – Délka květní stopky (mm), D – Délka vnějšího okvětního lístku (mm). Linie uprostřed krabičky označuje medián. Tečka nad a pod grafy označuje odlehlé hodnoty. Vyznačeno je maximum, minimum, horní a dolní kvartil.



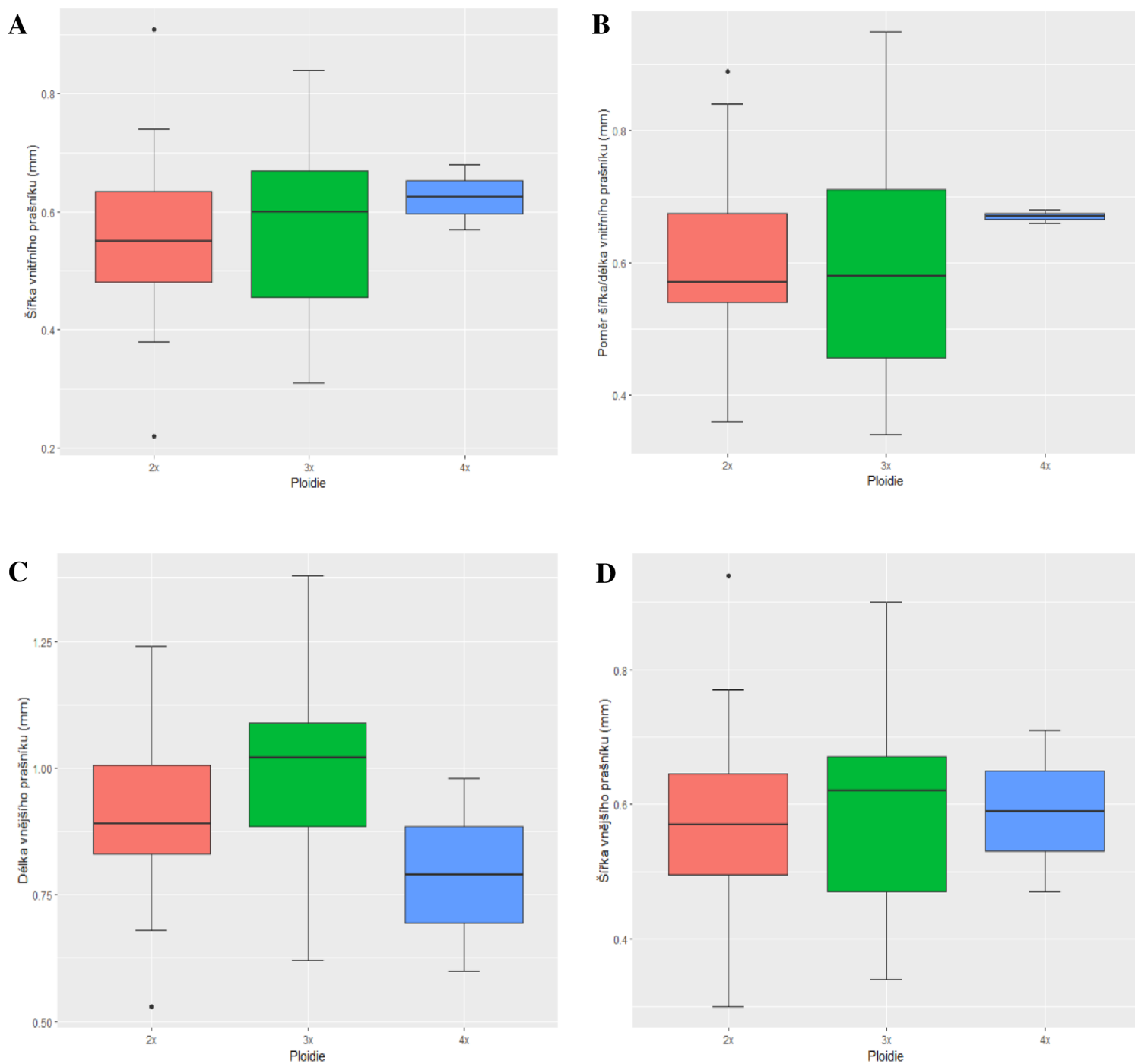
Obrázek 11: Krabičkové diagramy znázorňují variabilitu znaků u di-, tri- a tetraploidů *A. scorodoprasum* (jedinci s květy): A – Šířka vnějšího okvětního lístku (mm), B – Poměr šířka/délka vnějšího okvětního lístku (mm), C – Délka vnitřního okvětního lístku (mm), D – Šířka vnitřního okvětního lístku (mm). Linie uprostřed krabičky označuje medián. Tečka nad a pod grafy označuje odlehlé hodnoty. Vyznačeno je maximum, minimum, horní a dolní kvartil.



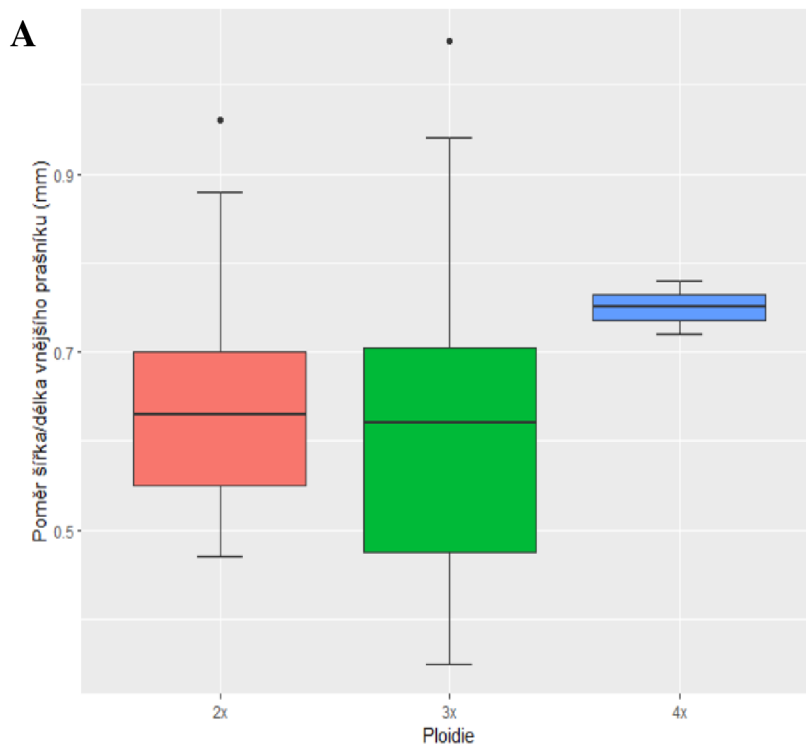
Obrázek 12: Krabičkové diagramy znázorňují variabilitu znaků u di-, tri- a tetraploidů *A. scorodoprasum* (jedinci s květy): A – Poměr šířka/délka vnitřního okvětního lístku (mm), B – Délka čnělky (mm, u čnělky došlo k chybě při měření), C – Délka semeníku (mm), Šířka semeníku (mm). Linie uprostřed krabičky označuje medián. Tečka nad a pod grafy označuje odlehlé hodnoty. Vyznačeno je maximum, minimum, horní a dolní kvartil.



Obrázek 13: Krabičkové diagramy znázorňují variabilitu znaků u di-, tri- a tetraploidů *A. scorodoprasum* (jedinci s květy): A – Poměr šířka/délka semeníku (mm), B – Délka vnější nitky (mm), C – Délka vnitřní nitky (mm), D – Délka vnitřního prašníku (mm). Linie uprostřed krabičky označuje medián. Tečka nad a pod grafy označuje odlehlé hodnoty. Vyznačeno je maximum, minimum, horní a dolní kvartil.



Obrázek 14: Krabičkové diagramy znázorňují variabilitu znaků u di-, tri- a tetraploidů *A. scorodoprasum* (jedinci s květy): A – Šířka vnitřního prašníku (mm), B – Poměr šířka/délka vnitřního prašníku (mm), C – Délka vnějšího prašníku (mm), D – Šířka vnějšího prašníku (mm). Linie uprostřed krabičky označuje medián. Tečka nad a pod grafy označuje odlehlé hodnoty. Vyznačeno je maximum, minimum, horní a dolní kvartil.



Obrázek 15: Krabičkové diagramy znázorňují variabilitu znaků u di-, tri- a tetraploidů *A. scorodoprasum* (jedinci s květy): A – Poměr šířka/délka vnějšího prašníku (mm). Linie uprostřed krabičky označuje medián. Tečka nad a pod grafy označuje odlehlé hodnoty. Vyznačeno je maximum, minimum, horní a dolní kvartil.

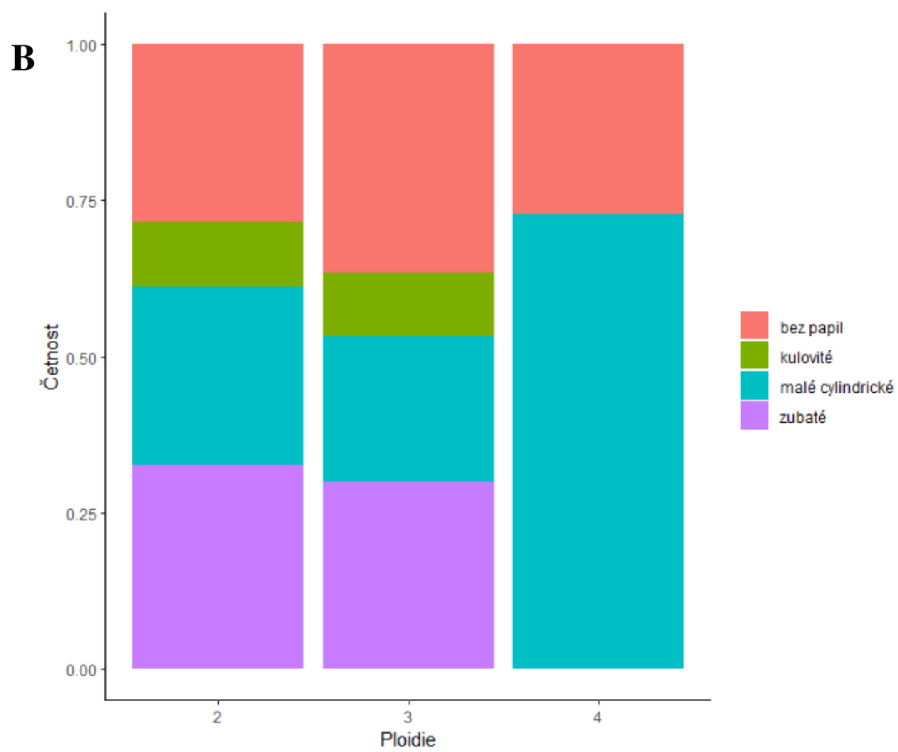
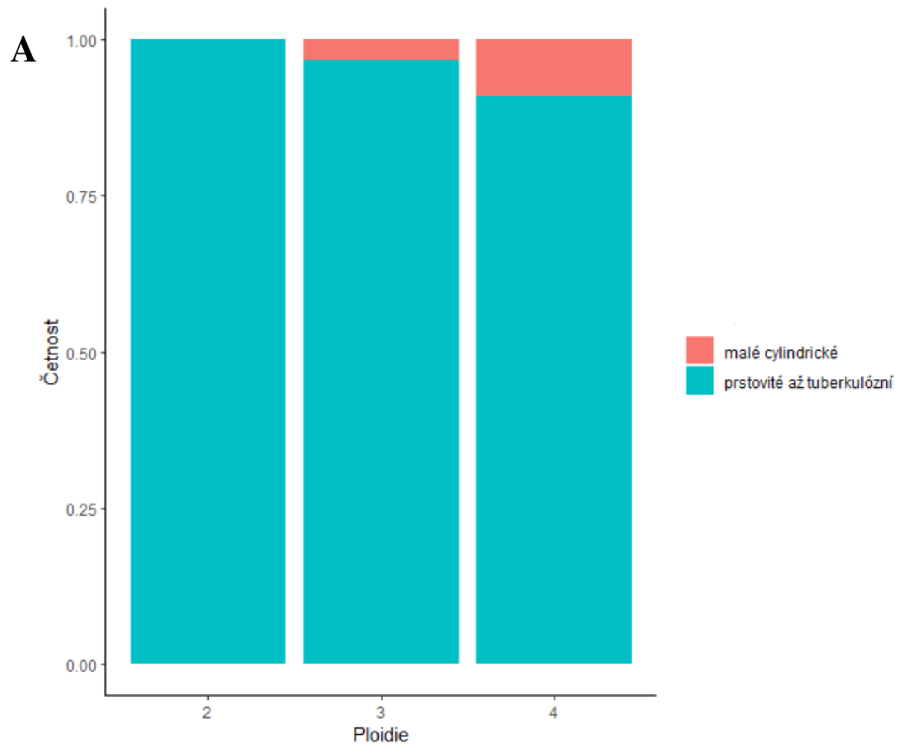
4.2 Kvalitativní znaky

Relativní četnosti kategorií 14 kvalitativních (vegetativních i generativních) znaků pro studované cytotypy jsou znázorněny skládanými sloupcovými diagramy (obrázek 16-19) a výsledky Pearsonova χ^2 testu porovnávajícího četnosti kategorií jednotlivých znaků mezi cytotypy jsou uvedeny v tabulce 6. Při vyhodnocování nebyly použity některé původně studované kvalitativní znaky, protože se během sběru dat, resp. jejich analýzy ukázalo, že buď byl znak více-méně nevariabilní mezi jedinci, popř. byly znaky těžce určitelné a tedy jejich stanovení by bylo nevěrohodné. Mezi znaky, které nebyly použity k analýzám a byly \pm nevariabilní se řadí: líc listu – tvar čepele (u všech cytotypů převažoval tvar čepele žlábkovitá), povrch pochvy 2. horního listu (povrch pochvy listu byl u všech cytotypů vždy hladký), tvar lichookolíku (u všech cytotypů byl kulovitý až polokulovitý, v málo případech byl vejčité) a povrch květní stopky (povrch byl u všech cytotypů vždy hladký).

Tabulka 6: Výsledné hodnoty Pearsonova χ^2 testu, porovnávajícího četnosti kategorií jednotlivých kategoriálních znaků na vegetativních a generativních orgánech mezi cytotypy *Allium scorodoprasum*. Za signifikantní (tučně označené) je považována hodnota $P \leq 0,05$.

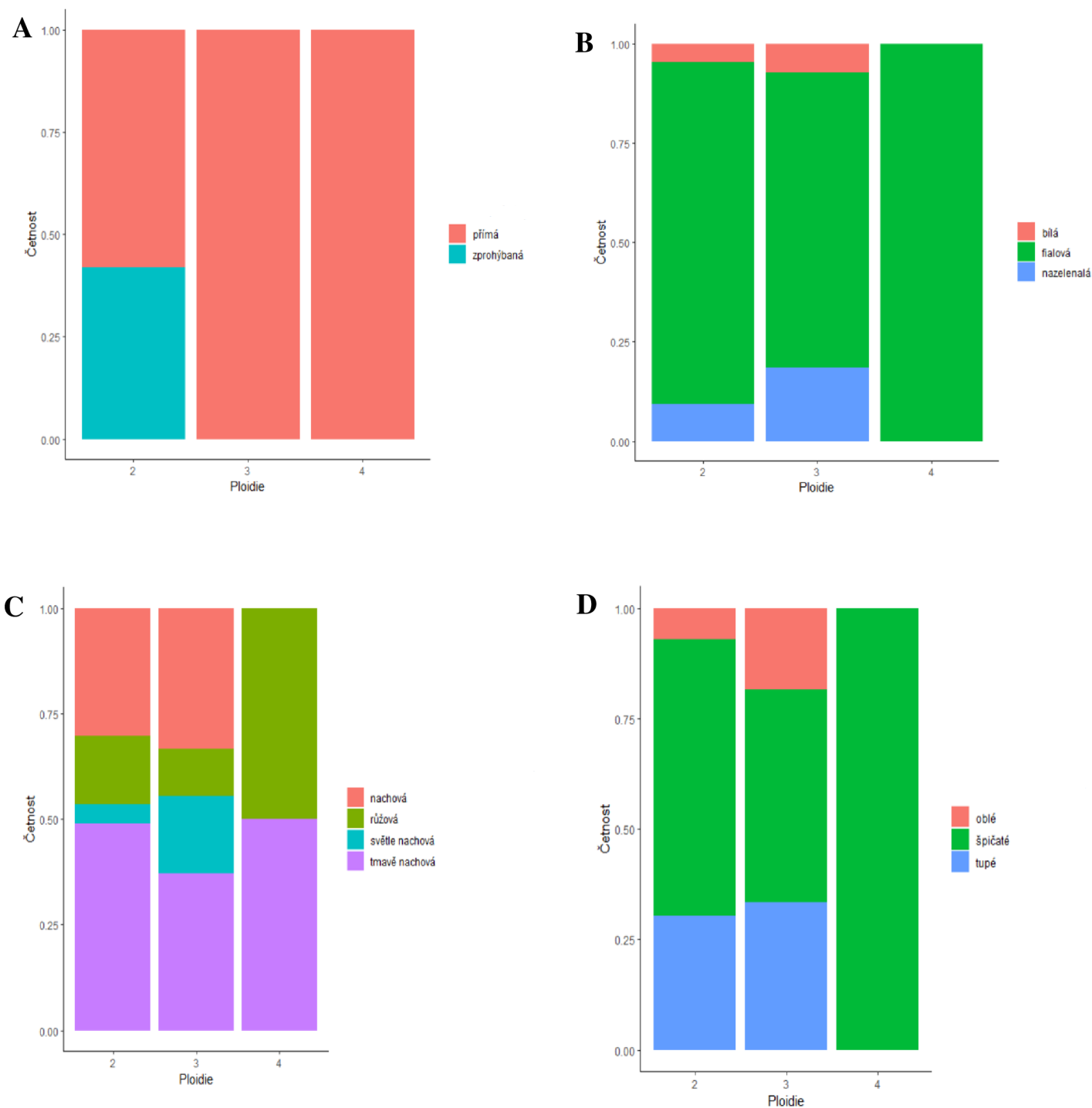
Znak	χ^2	DF	P
Tvar papil na okraji listu	3.67	2	0.159
Tvar papil na kýlu listu	11.63	6	0.071
Tvar květní stopky	16.19	2	0.000
Barva květní stopky	2.11	4	0.718
Barva okvětního lístku vnějšího + žilka	6.61	6	0.359
Zakončení vnějšího okvětního lístku	4.12	4	0.390
Barva okvětního lístku vnitřního + žilka	3.44	6	0.753
Zakončení vnitřního okvětního lístku	14.95	4	0.005
Tvar semeníku	21.71	10	0.017
Barva semeníku	5.51	4	0.240
Pozice tyčinek	1.18	2	0.555
Barva nitky (vnitřní a vnější)	8.59	6	0.198
Barva prašníků (vnitřních a vnějších)	19.59	4	0.001
Zakončení prašníků (vnitřních a vnějších)	8.76	4	0.068

Statistická analýza potvrdila malé rozdíly mezi cytotypy ve většině studovaných kvalitativních vegetativních znaků. Variabilita mezi cytotypy u vegetativních znaků se projevila jen mezi diploidním a triploidním cytotypem. U diploidního a triploidního cytotypu byly zaznamenány všechny kategorie tvaru papil na kýlu listu, zatímco u tetraploidního cytotypu byla zaznamenána pouze kategorie tvaru papil „malé cylindrické“. Tvar papil na okraji listu byl u všech cytotypů kategorie „prstovité“ až „tuberkulózní“.

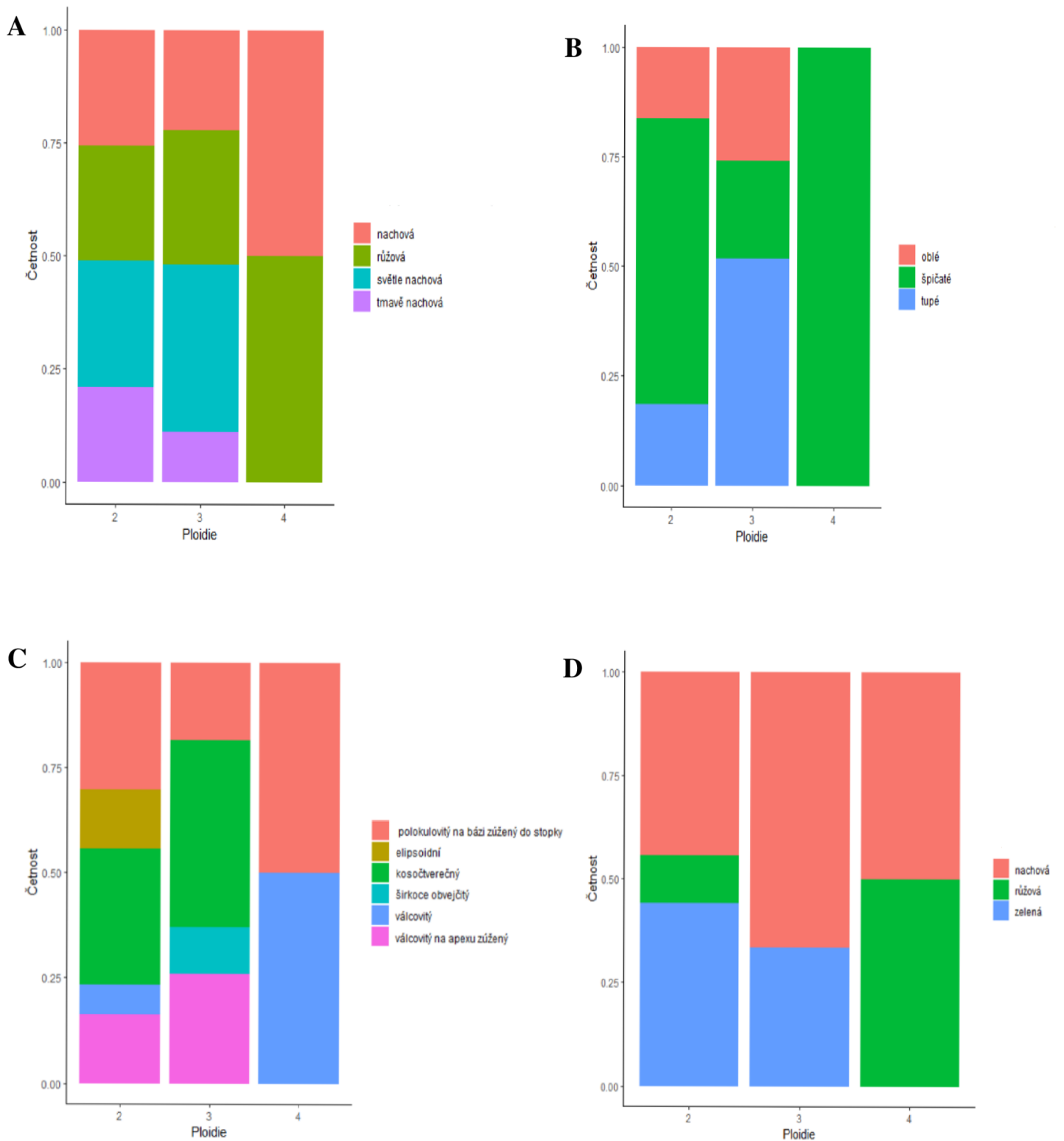


Obrázek 16: Skládané sloupcové diagramy četnosti jednotlivých kategorií kvalitativních znaků u cytotypů *A. scorodoprasum*: A – Tvar papil na okraji listu, B – Tvar papil na kýlu listu. 44

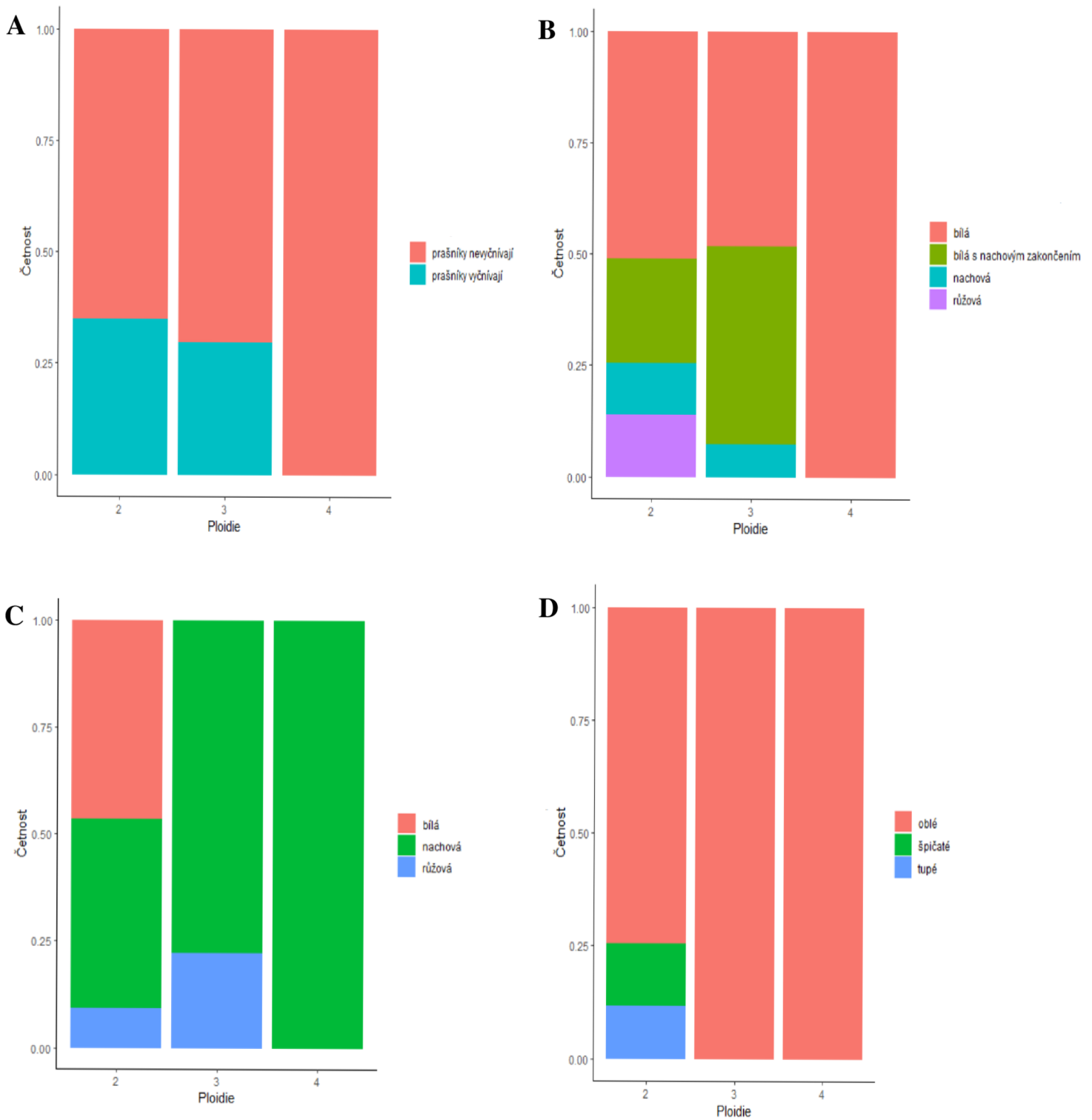
Z 12 kvalitativních generativních znaků byly 4 znaky signifikantně odlišné mezi cytotypy (tabulka 6). Největší rozdíly byli pozorovatelné u diploidních a triploidních cytotypů. Variabilita ve tvaru květní stopky byla nalezena u diploidů, kde byly zaznamenány květní stopky přímé i zprohýbané, zatímco u ostatních cytotypů převažovaly přímé květní stopky. Barva květní stopky byla u všech cytotypů ve většině případů fialová. Barva vnitřních okvětních lístků byla převážně nachová u diploidních jedinců, světle nachová u triploidních jedinců a u tetraploidních jedinců převažovala barva růžová a nachová. Naopak u vnějších okvětních lístků byla barva většinou tmavě nachová u diploidních jedinců, tmavě a světle nachová u triploidních jedinců a tmavě nachová a růžová u tetraploidních jedinců. Taktéž zakončení vnitřních i vnějších okvětních lístků bylo rozdílné mezi jednotlivými cytotypy: převážně špičaté u diploidních a tetraploidních jedinců a tupé u jedinců triploidních. U vnějších okvětních lístků bylo zakončení špičaté u diploidních a tetraploidních jedinců a špičaté a tupé u jedinců triploidních. Rozdíly mezi diploidním a triploidním cytotypem se nejvíce prokázaly u znaků tvar semeníku a barva prašníku. Tvar semeníku byl většinou polokulovitý a kosočtverečný u diploidních jedinců, kosočtverečný a válcovitý u triploidních jedinců a válcovitý a polokulovitý u tetraploidního cytotypu. Barva semeníku byla u diploidních jedinců zelená a nachová, u triploidních jedinců nachová a u tetraploidních jedinců růžová a nachová. Barva vnitřní a vnější nitky byla bílá u diploidních jedinců, bílá s nachovým zakončením u triploidních jedinců a bílá u tetraploidních jedinců. Barva prašníku byla u diploidních jedinců bílá a nachová, zatímco u triploidních a tetraploidních jedinců byla jen nachová. Zakončení prašníku (vnější i vnitřní) bylo u všech cytotypů převážně oblé, avšak u diploidních jedinců se vyskytovalo zakončení špičaté a tupé. Velmi nízká variabilita mezi cytotypy se prokázala ve znacích barva květní stopky a pozice prašníků (prašníky ve většině případů nevyčnívaly z květu).



Obrázek 17: Skládané sloupcové diagramy četností jednotlivých kategorií kvalitativních znaků u cytotypů *A. scorodoprasum*: A – Tvar květní stopky, B – Barva květní stopky, C – Barva okvětního lístku vnějšího (žilka byla u všech jedinců vždy tmavě nachová), 46 D – Zakončení vnějšího okvětního lístku. Zahrnuti jsou pouze jedinci, kteří měli květy.



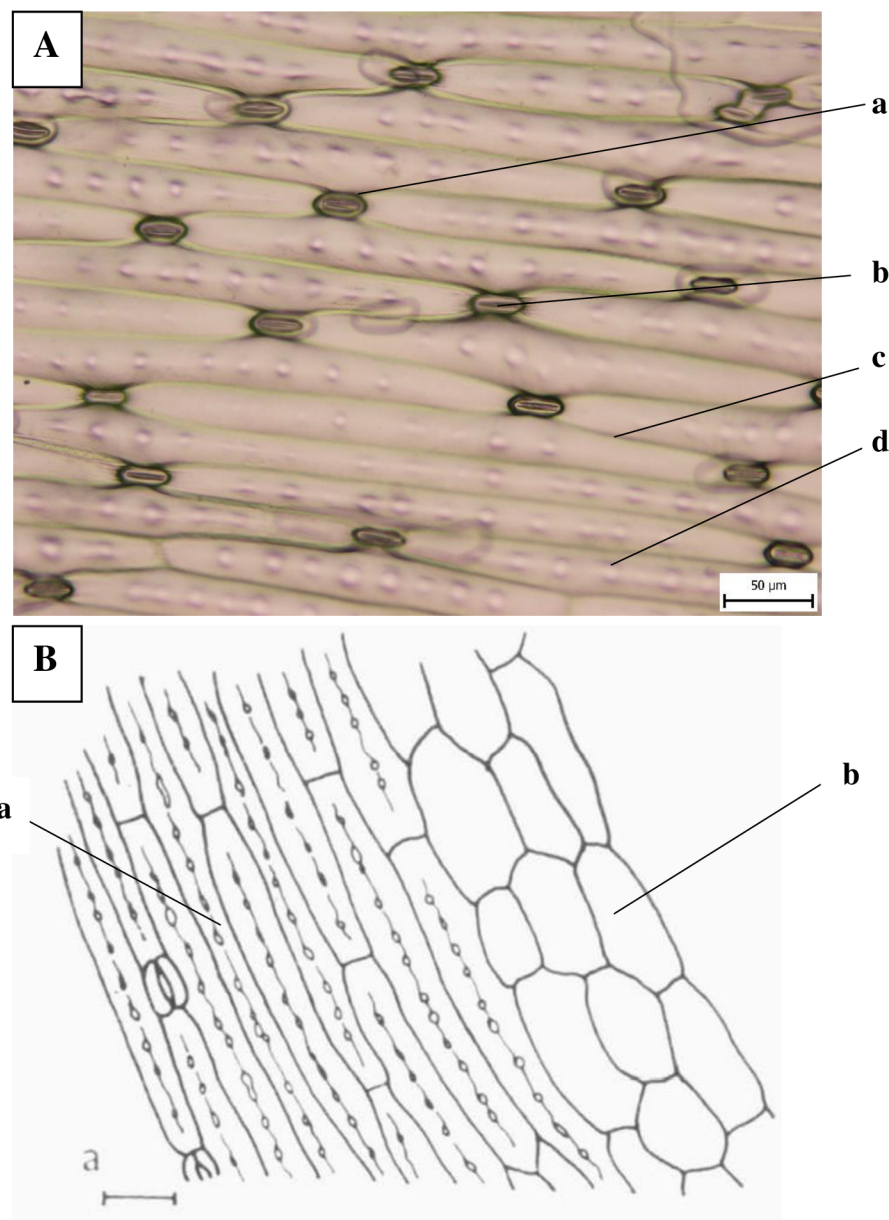
Obrázek 18: Skládané sloupcové diagramy četností jednotlivých kategorií kvalitativních znaků u cytotypů *A. scorodoprasum*: A — Barva okvětního lístku vnitřního (žilka byla u všech 47 jedinců tmavě nachová), B – Zakončení vnitřního okvětního lístku, C – Tvar semeníku, D – Barva semeníku. Zahrnuti jsou pouze jedinci, kteří měli květy.



Obrázek 19: Skládané sloupcové diagramy četností jednotlivých kategorií kvalitativních znaků u cytotypů *A. scorodoprasum*: A — Pozice prašníků, B – Barva nitky (vnitřní a vnější), C – Barva prašníků (vnitřních a vnějších), D – Zakončení prašníků (vnitřních a vnějších). Zahrnuti jsou pouze jedinci, kteří měli květy. 48

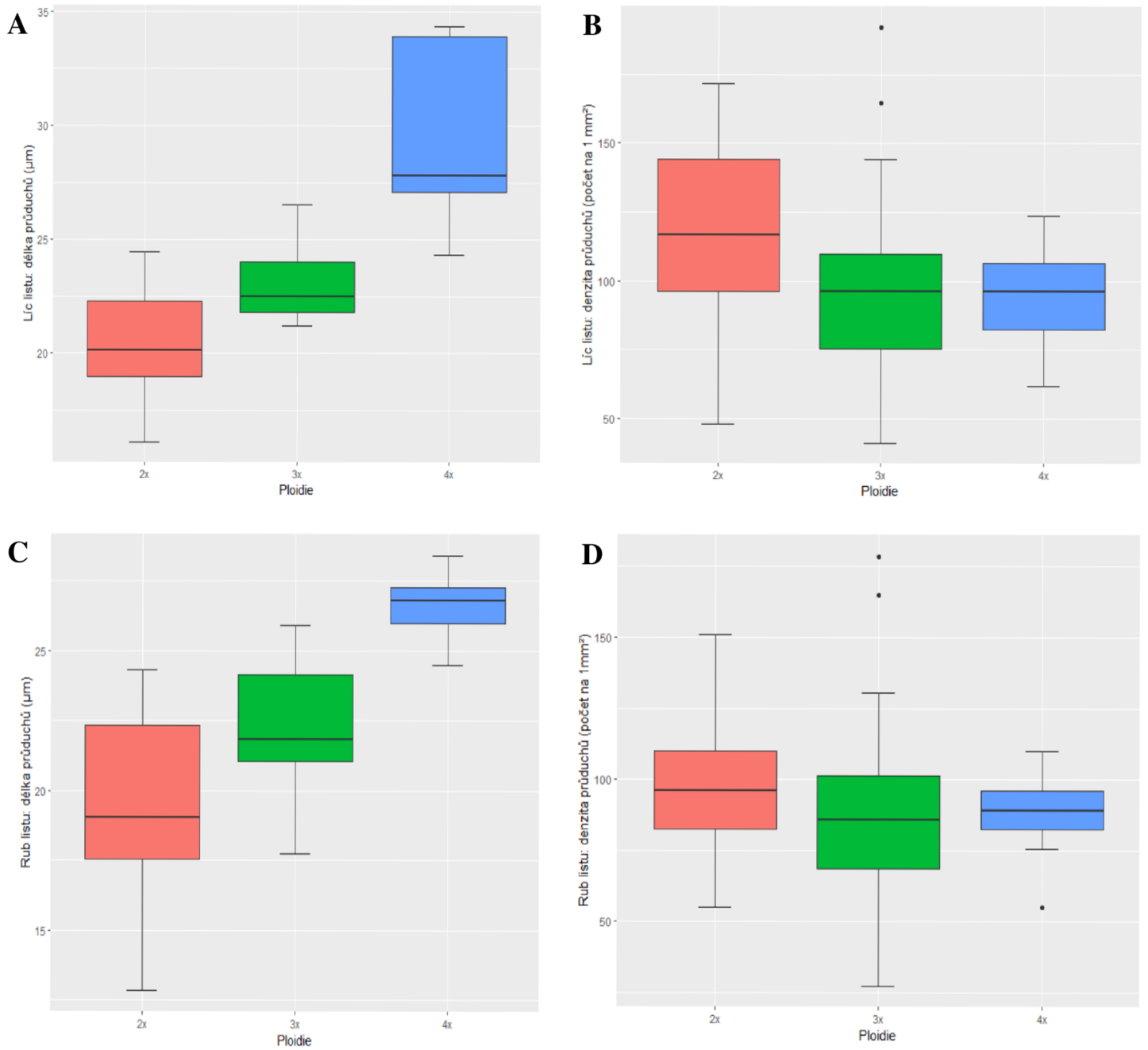
4.3 Mikromorfologické znaky – zhodnocení otiskových preparátů

Listy rodu *Allium* jsou amfistomatické (tedy stomata se nacházejí na spodní i svrchní straně listu ve srovnatelném počtu) nebo hypostomatické (stomata se nacházejí na spodní straně listu, Krahulec 1980, Yusupov et al. 2022). Rozdílný je tvar epidemálních buněk, ponoření průduchů a kutikulární plasticita. Rozdíly u jednotlivých druhů jsou malé (Krahulec 1980). U všech studovaných cytotypů *Allium scorodoprasum* byly na otiskových preparátech listů viditelné válcovité, někdy až kosoobdélníkové epidemální buňky uspořádané podélně vedle sebe. Stomata byla uspořádána rovnoběžně v pruzích. Všechny průduchy měly eliptický tvar, byly vidět vstupy (štěrbiny) do vnější stomatární dýchací dutiny a svěrací buňky (viz příloha 2, obrázek 20). Délka průduchů kolísala mezi jednotlivými ploidními stupni a průměrná denzita (hustota) průduchů na 1 mm² se také lišila mezi jednotlivými cytotypy (obrázek 21). Na preparátech jsou viditelné řady drobných mikropapil, které se nacházejí na povrchu epidemálních buněk. Jejich výskyt a uspořádání na epidemálních buňkách závisí na tom, zda se jedná o buňky žební nebo mezižební. Mikropapily se vyskytovaly u všech cytotypů.



Obrázek 20: A – pozorované struktury na svrchní straně listu (epidermis) *Allium scorodoprasum*: a – stoma, b – vstup do vnější stomatární dýchací dutiny, c – mezižeberní epidermální buňka, d – mikropapily, B – pozorované struktury na abaxiální straně listu (epidermis) *A. scorodoprasum*: a – mezižeberní epidermální buňky, b – žeberní epidermální buňky, měřítko 50 μm (převzato z Krahulec 1980).

Všechny cytotypy byly variabilní v délce průduchů. Délka průduchů na rubu i líci se s rostoucí ploidíí zvyšovala, tedy nejdelší průduchy měl tetraploidní cytotyp, kdežto nejkratší zase cytotyp diploidní. Naopak denzita průduchů na rubu i líci se naopak s rostoucí ploidíí snižovala. Nejvýraznější pokles denzity průduchů na rubu a líci byl patrný mezi diploidním a triploidním cytotypem, avšak u tetraploidního cytotypu je rozdíl od triploidního jen nepatrný (obrázek 21, tabulka 4,5).

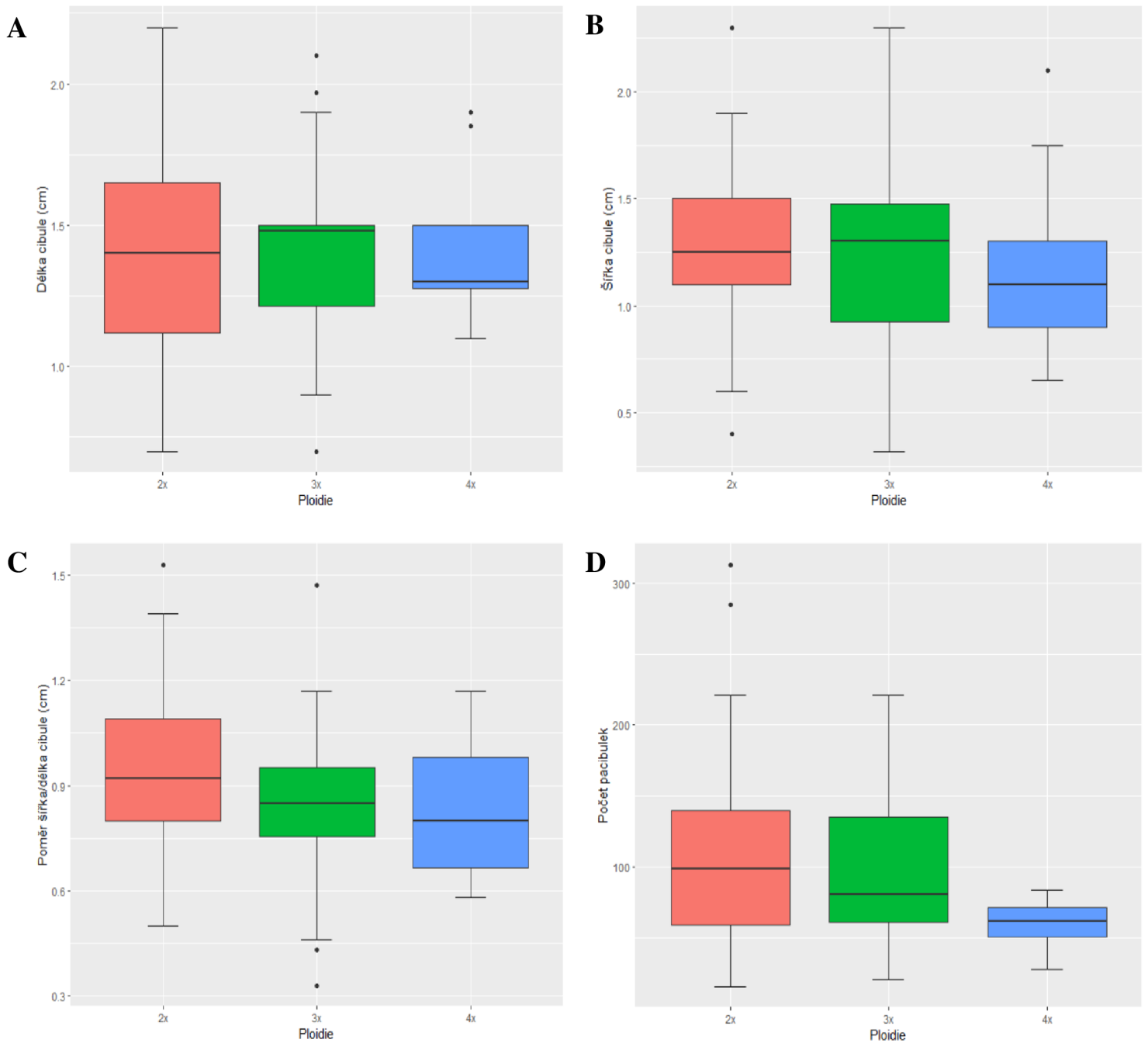


Obrázek 21: Krabičkové diagramy znázorňují variabilitu znaků u di-, tri- a tetraploidů *A. scorodoprasum*: A – Líc listu: délka průduchů (µm), B – Líc listu: denzita průduchů (počet na 1 mm²), C – Rub listu: délka průduchů (µm), D – Rub listu: denzita průduchů (počet na 1 mm²). Linie uprostřed krabičky označuje medián. Tečka nad a pod grafy označuje odlehle hodnoty. Vyznačeno je maximum, minimum, horní a dolní kvartil.

4.4 Zhodnocení sexuální a asexuální reprodukce

Semena byla zjištěna pouze v květenství jednoho triploidního jedince (15/91/3, tabulka 1). U tohoto jedince byly nalezeny 2 semena. Počet semen nebyl podrobně analyzován z důvodu zcela minoritní produkce. Pacibulky studovaných cytotypů byly velmi podobného tvaru, zbarvení i velikosti, avšak lišil se jejich počet mezi cytotypy. Tvar pacibulek byl většinou kulovitý, zbarvení pacibulek bylo hnědonachové a jejich velikost se pohybovala okolo 0,5 cm. Variabilita počtu pacibulek byla nejvíce zaznamenána mezi diploidním a tetraploidním cytotypem. Největší množství pacibulek vyprodukoval diploidní cytotyp (s rozsahem hodnot 36-313 pacibulek), těsně za ním byl cytotyp triploidní (s rozsahem hodnot 21-221 pacibulek) a nejméně pacibulek vyprodukoval tetraploidní cytotyp (s rozsahem hodnot 28-84 pacibulek).

Mateřské cibule se podobaly mezi studovanými ploidiemi barvou i tvarem. Cibule měly barvu tmavě nachovou až hnědočernou a jejich tvar byl kulovitý až vejčitý. Délka cibule s rostoucí ploidií spíše klesala, zatímco šířka cibule mezi jednotlivými cytotypy byla různá, největší variabilitu v šířce cibule měl triploidní cytotyp. Počet dceřiných cibulí nebyl zaznamenán. Variabilita znaků pro studované cytotypy je znázorněna krabičkovými diagramy (obrázek 22) a tabulkou 4, 5.



Obrázek 22: Krabičkové diagramy znázorňují variabilitu znaků u di-, tri- a tetraploidů *A. scorodoprasum*: A – Délka cibule (cm), B – Šířka cibule (cm), C – Poměr šířka/délka cibule (cm), B – Počet pacibulek. Linie uprostřed krabičky označuje medián. Tečka nad a pod grafy označuje odlehlé hodnoty. Vyznačeno je maximum, minimum, horní a dolní kvartil.

5. DISKUZE

Allium scorodoprasum je jedním z dobře rozpoznatelných druhů rodu *Allium*, i když v minulosti byly v řadě taxonomických studií k tomuto druhu v taxonomickém ranku poddruhů přiřazovány ještě taxony z okruhu *A. rotundum* (Stearn 1978, 1981). Ačkoliv se později ukázalo, že *A. rotundum* je dobře diferencovaný samostatný druh odlišný od *A. scorodoprasum* (Özhatay 1993), přesto jsou si tyto dva druhy morfologicky a patrně i geneticky velmi blízké (Mathew 1996). *Allium scorodoprasum* je typický svými dlouhými a širokými listy s papilnatými okraji, statným stonkem, tmavě nachovými květy, tvorbou dceřiných cibulí a pacibulek. Přestože jsou tyto znaky pro druh typické, pouze málo se doposud ví o karyologické variabilitě, rozšíření, ekologii a morfologii cytotypů tohoto polyploidního komplexu (Mathew 1992, 1996). Existence několika ploidních stupňů (di- až tetraploidní stupeň, Mathew 1996, Karpavičienė 2012) může v důsledku tzv. gigas efektu vést k morfologickým a reprodukčním rozdílům mezi jednotlivými cytotypy (Stebbins 1971, Segraves 2017). Několik předchozích studií se zabývalo srovnáním vybraných morfologických znaků mezi diploidy a triploidy *A. scorodoprasum* pocházejících z omezeného geografického areálu (Özhatay 1993, Fialová 1996, Karpavičienė & Karanauskaitė 2010, Karpavičienė 2017), nicméně tato bakalářská práce je první, která studuje široké spektrum makro- a mikromorfologických znaků na všech známých ploidních stupních a pokrývá podstatnou část areálu druhu.

5.1 Morfologické znaky

Do morfologické analýzy bylo zahrnuto více jak 50 mikromorfologických a morfologických znaků, které mohly potenciálně diferencovat cytotypy, což se primárně týká znaků kvantitativních. Nutné je však podotknout, že především u tetraploidního cytotypu bylo k dispozici méně jedinců než pro di- a triploidy, a pro ověření významnosti znaků bude zapotřebí doplnit dataset dalšími populačními vzorky. Dále je nutné zmínit, že studované rostliny pocházejí z pokusného pozemku („common garden“), a ne z jejich přirozeného prostředí, což může mít také vliv na jednotlivé znaky, nicméně lze očekávat, že v jednotných podmínkách budou případné morfologické rozdíly projevem genetických rozdílů.

Variabilita mezi cytotypy se prokázala v některých morfologických znacích a potvrdil se také vliv gigas efektu. Podle různých studií (Levin 1983, Francis et al. 2008, Soltis et al. 2014, Robinson et al. 2018, Becker et al. 2022) je důsledkem gigas efektu zvětšení rostlinných buněk v souvislosti se zvýšeným množstvím jaderné DNA, což způsobuje zvětšení rostlinných orgánů. Vliv gigas efektu byl zaznamenán v pracích Becker (2021) u rodu *Oxalis* a také v mé bakalářské práci. Vliv gigas efektu se nejvíce prokázal u znaků týkajících se stomat.

Z hlediska velikosti (výšky) byl nejnižší tetraploidní cytotyp a nejvyšší diploidní a triploidní cytotyp. Délka toulce se s rostoucím cytotypem zvyšovala, kdežto délka zobánku toulce byla různá mezi cytotypy. Tento znak však nelze porovnat s žádnou prací, která by se tímto znakem zabývala. S rostoucí ploidí by se měla zvyšovat také tloušťka stonku rostlin (Ramsey & Ramsey 2014, Tavan et al. 2015). V této práci se však rostoucí tloušťka stonku nepodařila potvrdit. Velikost stonku se s rostoucí ploidí spíše zmenšovala.

V různých studiích (Sugiyama 2005, Huang et al. 2015, Tavan et al. 2015, Hassanzadeh et al. 2020) bylo zjištěno, že s rostoucím stupněm polyploidie jsou listy rostlin delší, širší, tlustší, tmavší, poměr délka/šířka listů je nižší a listy vyšších cytotypů jsou v menším počtu. Rostoucí délka a šířka listů se v této práci prokázala především ve směru od diploidního k triploidnímu cytotypu. Rostoucí délku a šířku mezi diploidním a triploidním cytotypem potvrdila i Karpavičienė (2017). Tetraploidní cytotyp měl listy o něco kratší než cytotyp triploidní. Poměr délka/šířka listů se snižoval s rostoucí ploidií, což je v souladu s Karpavičienė (2017). Potvrdil se také menší počet listů u vyšších cytotypů. Tetraploidní cytotyp měl v průměru 3 listy, kdežto cytotyp diploidní měl v průměru listy 4. Počet listů souvisí s velikostí rostliny (Karpavičienė 2017).

Průměrná velikost lichookolíku se snižovala s rostoucí ploidií mezi studovanými cytotypy. Tato velikost lichookolíku je ovlivněna počtem květů (nižší množství květů značí menší lichookolík). *Allium scorodoprasum* produkuje obvykle okolo 20 květů na jedince (Krahulec 1977). Avšak v závislosti na stupni ploidiie se mění jejich počet, velikost či barva. Karpavičienė (2017) zjistila, že diploidní cytotyp produkuje více květů než cytotyp triploidní. S rostoucím stupněm ploidiie se tedy počet květů snižuje, avšak jejich velikost stoupá (Karpavičienė 2017, Ghanbari et al. 2019). Tento vztah se potvrdil i v této bakalářské práci. Nejvíce květů vyprodukoval diploidní cytotyp a nejméně květů vyprodukoval cytotyp tetraploidní, u kterého byla produkce květů zaznamenána jen ve velmi malém množství. S rostoucí ploidií byly květy větší velikosti a tmavší barvy. Snižující se počet květů s rostoucím stupněm ploidiie byl potvrzen také u druhu *Allium oleraceum* (Karpavičienė 2012). Počet „hlav“ (lichookolíků) se s rostoucí ploidií zvyšoval.

Se zvyšující se velikostí květních částí (jako jsou okvětní lístky, květní stopka, čnělka, nitka, prašník a semeník), jak uvádí Karpavičienė (2017), by se měly zvětšovat i samotné květy. Zvyšující se velikost květních částí s rostoucím stupněm ploidiie se prokázala i v mé bakalářské práci, a to u znaků jako jsou délka, šířka, barva a zakončení vnějších a vnitřních okvětních lístků, tvar květní stopky, délka čnělky, délka vnitřní nitky, délka a barva vnitřního i vnějšího prašníku, délka, šířka a tvar semeníku. Zvyšující se velikost se naopak neprokázala u květní stopky, ta se s rostoucí ploidií spíše snižovala. Větší velikost květních částí se průkazně lišila mezi diploidními a triploidními cytotypy. Tetraploidní cytotyp měl výsledné hodnoty květních částí nižší. S rostoucím stupněm ploidiie by se měla měnit i barva a struktura těchto květních částí (Mable et al. 2003). Ghanbari et al. (2019) uvádí, že s rostoucím stupněm ploidiie jsou květy rostlin tmavší barvy, což se v této bakalářské práci také podařilo potvrdit. Důvodem tmavší barvy květů je vyšší koncentrace antokyanů (Ghanbari et al. 2019). Výsledky znaků měřených na květech byly v souladu se studiemi, zabývající se vlivem polyploidie na gigas efekt květů rostlin (Blakeslee 1941, Mable et al. 2003, Ranney 2006, Vamosi et al. 2007).

5.2 Sexuální a asexuální reprodukce

Allium scorodoprasum je specifické tím, že produkuje velmi málo až skoro žádná semena (1-3 semen na jedince; Karpavičienė 2017) a je tedy převážně sterilní (Krahulec 1977, Özhatay 1993). S rostoucím stupněm ploidiie a úbytkem množství květů by měl počet semen klesat (Özhatay 1993, Fialová 1996, Karpavičienė 2017). Pokud jedinec nevyprodukuje žádné květy,

nemá i žádná semena. Důvodem nedostatku květů by mohla být převaha vegetativního rozmnožování a konkurence květů s pacibulkami (Fialová 1996). Pacibulky totiž rostou rychleji než květy a mohou tedy během svého růstu vyvíjející se květy potlačit (Novák & Havránek 1975, Kamenetsky & Rabinowitch 2001). Já jsem zaznamenala produkci pouze 2 semen, a to překvapivě u jedince triploidního cytotypu pocházejícího z České republiky, ostatní jedinci, i když produkovali i větší počet květů, neprodukovali žádná semena. Tento výsledek není v souladu s pracemi Karpavičienė (2017), která semena našla pouze u diploidního cytotypu. Avšak Fialová (1996) zaznamenala pouze u 1 triploidní rostliny 2 semena, což je v souladu s mou prací. Absence produkce semen u diploidů v prostředí pokusné zahrady by bylo možné částečně vysvětlit tím, že se zde vyskytují v blízkosti triploidů. Lze tak očekávat, že dochází k opylování mezi cytotypy, přičemž opylení diploida triploidem patrně vede k výraznějšímu abortování vyvíjejících se zygot a nízké tvorbě semen (Burton & Husband 2001). Nízký počet semen (méně než 3 semena na květenství) potvrdila i studie Karpavičienė (2012) a Fialová et al. (2014) u polyploidního druhu *Allium oleraceum*, který je charakteristický produkcí pacibulek v květenství stejně jako česnek ořešec.

Allium scorodoprasum se podle zjištěných dat rozmnožuje spíše asexuálně pomocí dceřiných cibulí a pacibulek. Proto byly v této práci zkoumány velikost mateřských cibulí a typ dceřiných cibulí ke vztahu k stupni polyploidie. *Allium scorodoprasum* má velikost cibule okolo 1-2 cm a hmotností od 0,2-7,9 g, avšak tyto znaky kolísají s ploidií (Kurnia 2021). S rostoucí ploidií se cibule zmenšují a jejich hmotnost se zvyšuje – nižší hmotnost cibule byla zjištěna pro diploidní cytotyp (Karpavičienė 2017) a vyšší hmotnost má cytotyp tetraploidní. Snižující se velikost cibulí s rostoucím stupněm ploidiie se potvrdila i v této bakalářské práci.

Rozdílnost mezi cytotypy lze sledovat v produkci pacibulek. Diploidní cytotyp produkuje větší množství pacibulek, ale pacibulky jsou menší. Zatímco triploidní cytotyp produkuje menší množství, ale větší pacibulky (Karpavičienė 2017). Ve studiích Karpavičienė (2017) bylo zjištěno, že diploidní cytotyp produkuje v průměru okolo 61,9 pacibulek s průměrnou hmotností 29,6 mg a triploidní cytotyp produkuje v průměru 41,7 pacibulek s průměrnou hmotností 45,9 mg. Podobný trend jsem zaznamenala i já: s rostoucí ploidií klesala produkce pacibulek, přičemž diploidní jedinci měli v průměru 113 pacibulek, triploidní 97 pacibulek a tetraploidní 60 pacibulek. Produkce pacibulek souvisí s velikostí rostliny. Vyšší rostliny produkují více pacibulek než rostliny nižší (Karpavičienė 2017). Důvodem je počet květních pupenů, protože pacibulky se zakládají jako boční meristém těchto květních pupenů (Kamenetsky & Rabinowitch 2001). Tyto závěry se prokázaly i u druhu *Allium oleraceum* (Karpavičienė 2012, Fialová et al. 2014).

Otevřenou otázkou zůstává v řadě případů absentující vliv gigas efektu u tetraploidů. Ve velké většině studovaných znaků tetraploidní cytotyp nedosahoval nejvyšších, ale naopak nejnižších hodnot v rámci polyploidní řady. Vzhledem k menšímu počtu studovaných tetraploidních jedinců zatím nelze vyloučit, že dosud studované 4x populace jsou něčím odlišné od většiny ostatních (dosud nestudovaných) tetraploidů, ale možným a nyní pouze spekulativním vysvětlením může být i odlišný evoluční původ tetraploidů nebo stresové podmínky pokusné zahrady na tetraploidy, vedoucí k jejich menším rozměrům.

5.3 Otiskové preparáty: papily, průduchy

Jako vhodnou technikou pro taxonomické studium u rodu česnek se ukázalo použití otiskových preparátů (Pazourek 1963) z listů. Na nich lze pozorovat tvar a velikost epidermálních buněk, typ, velikost a denzita stomat, přítomnost mikropapil a jejich tvar (Krahulec 1980, Yousaf et al. 2008, Ulcay 2022). Především velikost a denzita stomat je přitom jedním z mikroznaků korelujících s ploidním stupněm, resp. velikostí genomu (Heslop-Harrison et al. 2023), a byly tedy předmětem i mé práce.

Allium scorodoprasum má epidermální buňky podlouhlé, všechny stejného typu nebo několik řad krátkých buněk v ose adaxiální strany a někdy vzácně krátké buňky mezi buňkami podlouhlými. Dále má mírně propadlé průduchy a na povrchu listu jsou viditelné mikropapily (Krahulec 1980). Tyto znaky se však mohou lišit mezi jednotlivými cytotypy, protože Krahulec (1980) neuvádí ploidní stupeň studovaného materiálu druhu. Otiskové preparáty se prokázaly jako užitečný znak pro odlišení jednotlivých cytotypů: délka průduchů se s rostoucí ploidí zvyšovala, zatímco hustota průduchů se snižovala. Tento výsledek je v souladu s dalšími pracemi (Beaulieu et al. 2008, Van Laere et al. 2011, Shala & Deng 2018, Sabzehzari et al. 2019, Veselý et al. 2020, Zakizadeh et al. 2020), které naznačují, že se s rostoucí ploidí zvyšuje délka a šířka průduchů a snižuje hustota průduchů. Avšak tento vztah nemusí platit obecně: například u polyploidní řady *Allium oleraceum* (4x, 5x, 6x) nebyla hustota průduchů ploidí ovlivněna (Ježilová et al. 2015).

Dalším zkoumaným taxonomickým znakem byl výskyt a tvar mikropapil na povrchu listu (Krahulec 1980). Mikropapily se na listu česneku ořešce nacházejí na povrchu, okraji i kýlu listu a jsou v hustém uspořádání, jsou často nepravidelné, různého tvaru a velikosti a směřují ke špičce i k bázi listu (Krahulec 1980). Hustotu a tvar mikropapil jsem studovala na dvou jasně definovaných místech listu, okraj a kýl. Z mých pozorování vyplývá, že hustota papil na okraji listu se s rostoucí ploidí snižovala. To by bylo možné vysvětlit tím, že s rostoucí ploidí roste velikost buněk a tím klesá jejich hustota. Tvar papil na okraji listu byl zaznamenán u všech cytotypů převážně prstovitý až tuberkulózní a tvar papil na kýlu listu byl v převaze zubatý u diploidního a triploidního cytotypu a cylindrický u tetraploidního cytotypu. Z tohoto pozorování vyplývá, že tvar papil na okraji listu se s rostoucí ploidí nijak zásadně nemění a tvar papil na kýlu listu se s rostoucí ploidí mění od tvaru zubatého až po tvar cylindrický. Důvodem by mohla být souvislost s velikostí a tvarem buněk. Tyto údaje však nelze porovnat s žádnou studií, která by se zabývala tvarem a velikostí mikropapil u *Allium scorodoprasum*.

6. ZÁVĚR

V rámci této bakalářské práce bylo cílem objasnit morfologické a anatomické odlišnosti, ověřit hypotézu gigas efektu a strategie rozmnožování mezi jednotlivými stupni ploidie u druhu *Allium scorodoprasum*. Na 90 jedincích z 31 populací, byly naměřeny a určeny morfologické znaky, které byly následně vyhodnoceny se vztahem k dané ploidii. Výsledky ukázaly odlišnosti v některých znacích mezi diploidním, triploidním a tetraploidním cytotypem. Jako významné znaky se ukázaly být výška rostliny, délka a šířka listu, délka průduchů, délka a šířka cibule, počet pacibulek, počet květů, znaky spojené s délkou a šířkou okvětních lístků, znaky studované na semeníku, délka květní stopky, barva nitky tyčinek a znaky spojené s vnitřními a vnějšími prašníky. Gigas efekt se potvrdil v řadě diploid-triploid. Avšak data předběžně ukazují, že tetraploidní rostliny nereflektují příliš „gigas efekt“, který je patrný při srovnání znaků na květech di- a triploidů. Pouze studované mikroznaky (délka průduchů a jejich denzita) vykazují očekávaný „gigas efekt“ s rostoucí ploidii u *A. scorodoprasum*. Ovšem tetraploidů bylo studováno méně než ostatních ploidii, proto výsledky u této ploidní kategorie jsou pouze předběžné. Strategie rozmnožování cytotypů ukázala, že *Allium scorodoprasum* se rozmnožuje asexuálně pomocí cibulí a pacibulek. Produkce semen je u tohoto druhu méně častá a bude vyžadovat další studium, věnované i studiu klíčivosti a cytotypu produkovaných semen.

Nasbíraná data pocházejí ze zapěstovaných rostlin („common garden“), reprezentují tedy projev genotypu za standardizovaných podmínek prostředí. Získané údaje ukazují vliv ploidního stupně na morfologické a mikromorfologické rozdíly mezi studovanými cytotypy. Přesto se ukazuje, že k prokázání významnosti některých morfologických znaků by byl zapotřebí větší soubor dat na rozsáhlejší materiálu, který je plánován získat v navazující diplomové práci, a to především u tetraploidů. Vedle pokračování studia za využití již zkoumaných znaků bude vhodné se zaměřit na produkci dceřiných cibulí, ale také na fertilitu pylu jako na jeden z významných reprodukčních znaků. Získaná morfologická a mikromorfologická data pak bude vhodné srovnat s výsledky molekulárních analýz, které by měly pomoci odpovědět otázku původu této polyploidní série.

7. LITERATURA

- Åström, H., & Hæggröm, C. A. (2003). Chromosome numbers of *Allium scorodoprasum* and *Allium vineale* from SW Finland and W Ukraine. *Annales Botanici Fennici*, 1-3.
- Baduel, P., Bray, S., Vallejo-Marin, M., Kolář, F., & Yant, L. (2018). The Polyploid Hop: shifting challenges and opportunities over the evolutionary lifespan of genome duplications. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 6, 117.
- Balao, F., Herrera, J., & Talavera, S. (2011). Phenotypic consequences of polyploidy and genome size at the microevolutionary scale: a multivariate morphological approach. *New Phytologist*, 192, 256-265.
- Barker, M. S., Arrigo, N., Baniaga, A. E., Li, Z., & Levin, D. A. (2016). On the relative abundance of autopolyploids and allopolyploids. *New Phytologist*, 210, 391-398.
- Beaulieu, J. M., Moles, A. T., Leitch, I. J., Bennett, M. D., Dickie, J. B., & Knight, C. A. (2007). Correlated evolution of genome size and seed mass. *New Phytologist*, 173, 422.
- Beaulieu, J. M., Leitch, I. J., Patel, S., Pendharkar, A., & Knight, C. A. (2008). Genome size is a strong predictor of cell size and stomatal density in angiosperms. *New Phytologist*, 179, 975-986.
- Becker, F. W. (2021). The gigas effect: A reliable predictor of ploidy? Case studies in *Oxalis*. *Stellenbosch University*.
- Becker, F. W., Oberlander, K. C., Trávníček, P., & Dreyer, L. L. (2022). Inconsistent expression of the gigas effect in polyploid *Oxalis*. *American Journal of Botany*, 109, 1607-1621.
- Bennett, M. D. (2004). Perspectives on polyploidy in plants—ancient and neo. *Biological Journal of the Linnean Society*, 82, 411-423.
- Blakeslee, A. F. (1941). Effect of induced polyploidy in plants. *The American Naturalist*, 75, 117-135.
- Bretagnolle, F., & Lumaret, R. (1995). Bilateral polyploidization in *Dactylis glomerata* L. subsp. *lusitanica*: occurrence, morphological and genetic characteristics of first polyploids. *Euphytica*, 84, 197-207.
- Burton, T. L., & Husband, B. C. (2001). Fecundity and offspring ploidy in matings among diploid, triploid and tetraploid *Chamerion angustifolium* (*Onagraceae*): consequences for tetraploid establishment. *Heredity*, 8, 573-582.
- Catalano, C., Abbate, L., Motisi, A., Crucitti, D., Cangelosi, V., Pisciotta, A., Di Lorenzo, R., Carimi, F., & Carra, A. (2021). Autotetraploid emergence via somatic embryogenesis in *Vitis vinifera* induces marked morphological changes in shoots, mature leaves, and stomata. *Cells*, 10, 1336.

- Costa, L., Jimenez, H., Carvalho, R., Carvalho-Sobrinho, J., Escobar, I., & Souza, G. (2020). Divide to conquer: evolutionary history of *Allioideae* tribes (*Amaryllidaceae*) is linked to distinct trends of karyotype evolution. *Frontiers in Plant Science*, *11*, 320.
- Crow, K. D., & Wagner, G. P. (2005). What is the role of genome duplication in the evolution of complexity and diversity? *Molecular Biology and Evolution*, *23*, 887-892.
- Cui, L., Wall, P. K., Leebens-Mack, J. H., Lindsay, B. G., Soltis, D. E., Doyle, J. J., Soltis, P. S., Carlson, J. E., Arumuganathan, K., Barakat, A., Albert, V. A., Ma, H., & dePamphilis, C. W. (2006). Widespread genome duplications throughout the history of flowering plants. *Genome Research*, *16*, 738-749.
- Deka, B., Manna, P., Borah, J. C., & Talukdar, N. C. (2022). A review on phytochemical, pharmacological attributes and therapeutic uses of *Allium hookeri*. *Phytomedicine Plus*, 100262.
- Duchoslav, M., & Krahulec, F. (2009). Rozšíření druhů rodu česnek (*Allium*) v České republice. IV. Druhy sekce *Allium* (*Allium scorodoprasum*, *Allium rotundum*). *Zprávy České Botanické Společnosti*, *44*, 53-88.
- Edger, P. P., Heidel-Fischer, H. M., Bekaert, M., Rota, J., Glöckner, G., Platts, A. E., Heckel, D. G., Der, J. P., Wafula, E. K., Tang, M., Hofberger, J. A., Smithson, A., Hall, J. C., Blanchette, M., Bureau, T., Wright, S. I., dePamphilis, C. W., Schranz, M. E., Barker, M. S., Conant, G. C., Walhberg, N., Vogel, H., Pires, J. Ch., & Wheat, C. W. (2015). The butterfly plant arms-race escalated by gene and genome duplications. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *112*, 8362-8366.
- Fawcett, J. A., & Van de Peer, Y. (2010). Angiosperm polyploids and their road to evolutionary success. *Trends in Evolutionary Biology*, *2*.
- Fialová, R. (1996). Polyploidní komplexy u rodu *Allium*. Disertační práce, PŘF UP, Olomouc.
- Fialová, M., Jandová, M., Ohryzek, J., & Duchoslav, M. (2014). Biology of the polyploid geophyte *Allium oleraceum* (*Amaryllidaceae*): variation in size, sexual and asexual reproduction and germination within and between tetra-, penta- and hexaploid cytotypes. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, *209*, 312-324.
- Francis, D., Davies, M. S., & Barlow, P. W. (2008). A strong nucleotypic effect on the cell cycle regardless of ploidy level. *Annals of Botany*, *101*, 747-757.
- Friesen, N., Bolognini, G., & Nimis, P. L. (1993). Quantitative phytogeography of the genus *Allium* in Siberia and Mongolia. *Nordic Journal of Botany*, *13*, 295-307.
- Friesen, N., Fritsch, R. M., & Blattner, F. R. (2006). Phylogeny and new intrageneric classification of *Allium* (*Alliaceae*) based on nuclear ribosomal DNA ITS sequences. *Aliso: A Journal of Systematic and Floristic Botany*, *22*, 372-395.
- Fritsch, R. M., & Friesen, N. (2002). Evolution, domestication and taxonomy. In *I Allium Crop Science: Recent Advances*, 5-30.

- Gadella, T. W., & Kliphuis, E. (1963). Chromosome numbers of flowering plants in the Netherlands. *Acta Botanica Neerlandica*, 12, 195-230.
- Ghanbari, M. A., Jowkar, A., Salehi, H., & Zarei, M. (2019). Effects of polyploidization on petal characteristics and optical properties of *Impatiens walleriana* (Hook.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 138, 299-310.
- Halkka, L. (1985). Chromosome counts of Finnish vascular plants. *Annales Botanici Fennici*, 22, 315–317.
- Hanelt, P., Schultze-Motel, J., Fritsch, R., Kruse, J., Maass, H. I., Ohle, H., & Pistrick, K. (1992). Infrageneric grouping of *Allium* – the Gatersleben approach. *Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research*, 107-123.
- Han, T. S., Zheng, Q. J., Onstein, R. E., Rojas-Andrés, B. M., Hauenschild, F., Muellner-Riehl, A. N., & Xing, Y. W. (2020). Polyploidy promotes species diversification of *Allium* through ecological shifts. *New Phytologist*, 225, 571-583.
- Hassanzadeh, F., Zakaria, R. A., & Azad, N. H. (2020). Polyploidy induction in *Salvia officinalis* L. and its effects on some morphological and physiological characteristics. *Cytologia*, 85, 157-162.
- Herben, T., Suda, J., & Klimešová, J. (2017). Polyploid species rely on vegetative reproduction more than diploids: a re-examination of the old hypothesis. *Annals of Botany*, 120, 341-349.
- Heslop-Harrison, J. S., Schwarzacher, T., & Liu, Q. (2023). Polyploidy: its consequences and enabling role in plant diversification and evolution. *Annals of Botany*, 131, 1-10.
- Huang, R., Liu, D., Zhao, M., Li, Z., Li, M., & Sui, S. (2015). Artificially induced polyploidization in *Lobularia maritima* L. Desv. and its effect on morphological traits. *HortScience*, 50, 636-639.
- Husband, B. C., & Sabara, H. A. (2004). Reproductive isolation between autotetraploids and their diploid progenitors in fireweed, *Chamerion angustifolium* (Onagraceae). *New Phytologist*, 161, 703-713.
- Husband, B. C., Ozimec, B., Martin, S. L., & Pollock, L. (2008). Mating consequences of polyploid evolution in flowering plants: current trends and insights from synthetic polyploids. *International Journal of Plant Sciences*, 169, 195-206.
- Cheshmedzhiev, I. V. (1970). A contribution to the cyto-systematics of certain species of *Allium* L. *Flora of Bulgaria*, 55, 1100-1110.
- Ježilová, E., Nožková-Hlaváčková, V., & Duchoslav, M. (2015). Photosynthetic characteristics of three ploidy levels of *Allium oleraceum* L. (Amaryllidaceae) differing in ecological amplitude. *Plant Species Biology*, 30, 212-224.
- Jiang, Y., Liu, S., Hu, J., He, G., Liu, Y., Chen, X., Lei, T., Li, Q., Yang, L., Li, W., Hu, D., Li, J., & Gao, S. (2020). Polyploidization of *Plumbago auriculata* Lam. in vitro and its characterization including cold tolerance. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 140, 315-325.

- Jiao, Y., Wickett, N. J., Ayyampalayam, S., Chanderbali, A. S., Landherr, L., Ralph, P. E., Tomsho, L. P., Hu, Y., Liang, H., Soltis, P. S., Soltis, D. E., Clifton, S. W., Schlarbaum, S. E., Schuster, S. C., Ma, H., Leebens-Mack J., & Depamphilis, C. W. (2011). Ancestral polyploidy in seed plants and angiosperms. *Nature*, *473*, 97-100.
- Kamenetsky, I. (1992). Morphological types and root systems as indicators of evolutionary pathways in the genus *Allium*. In Hanelt, P., Hammer, K., Knupffer, H. (Eds.), *The Genus Allium – Taxonomic Problems and Genetic Resources*, 129-135.
- Kamenetsky, R., & Rabinowitch, H. D. (2001). Floral development in bolting garlic. *Sexual Plant Reproduction*, *13*, 235-241.
- Karpavičienė, B., & Karanauskaitė, D. (2010). Variation in reproductive modes of *Allium oleraceum*, *Allium scorodoprasum* and *Allium vineale* in field collection. *Acta Biologica Universitatis Daugavpiliensis*, *10*, 1-9.
- Karpavičienė, B. (2012). Morphological, reproductive and karyological variability in *Allium oleraceum* in Lithuania. *Biologia*, *67*, 278-283.
- Karpavičienė, B. (2017). Causes of variation in sexual and asexual reproduction in diploid and triploid populations of *Allium scorodoprasum*. *Plant Systematics and Evolution*, *303*, 105-115.
- Keusgen, M. (2011). Volatile compounds of the genus *Allium* L. (Onions). Chemical Society, 183-214.
- Khan, M., Hassan, J., Biswas, M., Khan, H. I., Sultana, H., Suborna, M. N., Rajib, M., Akter, J., Gomasta, J., & Anik, A. A. M. (2023). Morphological and anatomical characterization of colchicine-induced polyploids in watermelon. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 1-14.
- Knight, C. A., & Beaulieu, J. M. (2008). Genome size scaling through phenotype space. *Annals of Botany*, *101*, 759-766.
- Krahulec, F. (1977). Poznámky k určování československých česneků (*Allium*) v nekvetoucím stavu. *Zprávy České Botanické Společnosti*, *12*, 145-159.
- Krahulec, F. (1980). Epidermal characters of *Allium* species autochthonous in Czechoslovakia: their pattern, taxonomic and ecological relationships. *Preslia*, *52*, 299-309.
- Krahulec, F., & Duchoslav, M. (2010). *Alliaceae* J. Agardh – česnekovitě. In Štěpánková J. (Eds.), *Květena České republiky*, *8*, 647-677.
- Kumar, G., & Dwivedi, K. (2014). Induced polyploidization in *Brassica campestris* L. (*Brassicaceae*). *Cytology and Genetics*, *48*, 103-110.
- Kurnia, D., Ajiati, D., Heliawati, L., & Sumiarsa, D. (2021). Antioxidant properties and structure-antioxidant activity relationship of *Allium* species leaves. *Molecules*, *26*, 7175.
- Kuzmanov, B. (1993). Chromosome numbers of Bulgarian angiosperms: An introduction to a chromosome atlas of the Bulgarian flora. *Flora Mediterranea*, *3*, 19-163.

- Lavergne, S., Muenke, N. J., & Molofsky, J. (2010). Genome size reduction can trigger rapid phenotypic evolution in invasive plants. *Annals of Botany*, *105*, 109-116.
- Levin, D. A. (1983). Polyploidy and novelty in flowering plants. *The American Naturalist*, *122*, 1-25.
- Levin, D. A. (2002). The role of chromosomal change in plant evolution. Oxford University Press.
- Levin, D. A. (2020). Has the polyploid wave ebbed? *Frontiers in Plant Science*, *11*, 251.
- Levy, A. A., & Feldman, M. (2002). The impact of polyploidy on grass genome evolution. *Plant Physiology*, *130*, 1587-1593.
- Love, A. (1982). IOPB chromosome number reports LXXVI. *Taxon*, *31*, 574-598.
- Mable, B. K., Schierup, M. H., & Charlesworth, D. (2003). Estimating the number, frequency, and dominance of S-alleles in a natural population of *Arabidopsis lyrata* (*Brassicaceae*) with sporophytic control of self-incompatibility. *Heredity*, *90*, 422-431.
- Mable, B. K. (2004). Why polyploidy is rarer in animals than in plants: myths and mechanisms. *Biological Journal of the Linnean Society*, *82*, 453-466.
- Mandáková, T., Li, Z., Barker, M. S., & Lysak, M. A. (2017). Diverse genome organization following 13 independent mesopolyploid events in *Brassicaceae* contrasts with convergent patterns of gene retention. *The Plant Journal*, *91*, 3-21.
- Masterson, J. (1994). Stomatal size in fossil plants: evidence for polyploidy in majority of angiosperms. *Science*, *264*, 421-424.
- Mathew, B. (1992). A taxonomic review of *Allium* section *Allium*. *Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research*, *359*, 191.
- Mathew, B. (1996). A review of *Allium* sect. *Allium*. *Royal Botanic Gardens, Kew*, 182 p.
- McKain, M. R., Tang, H., McNeal, J. R., Ayyampalayam, S., Davis, J. I., Depamphilis, C. W., Pires, J. Ch., Stevenson, D. W., & Leebens-Mack, J. H. (2016). A phylogenomic assessment of ancient polyploidy and genome evolution across the *Poales*. *Genome Biology and Evolution*, *8*, 1150-1164.
- Mifsud, S., & Mifsud, O. (2018). A revision of *Allium* subsect. *Allium* (*Amaryllidaceae*) for the Maltese Islands. *Flora Mediterranea*, *28*, 27-51.
- Ming, R., VanBuren, R., Wai, C. M., Tang, H., Schatz, M. C., Bowers, J. E., Lyons, E., Wang, M., Chen, J., Biggers, E., Zhang, J., Huang, L., Zhang L., Miao, W., Zhang, J., Ye, Z., Miao, Ch., Lin, Z., Wang, H., Zhou, H., Yim, W. C., Priest, H., Zheng, Ch., Woodhouse, M., Edger, P. P., Guyot, R., Guo, H., Guo, H., Zheng, G., Singh, R., Sharma, A., Min, X., Zheng, Y., Lee, H., Gurtowski, J., Sedlazeck, F. J., Harkess, A., McKain, M. R., Liao, Z., Fang, J., Liu, J., Zhang, X., Zhang, Q., Hu, W., Qin, Y., Wang, K., Chen, L., Shirley, N., Lin., Y., Liu, L., Hernandez, A., Wright, Ch., Bulone, V., Tuskan, G. A., Heath, K., Zee, F., Moore, P. H., Sunkar, R., Leebens-Mack, J., Mockler, T., Bennetzen, J. L., Freeling, M., Sankoff, D., Paterson, A. H.,

- Zhu, X., Yang, X., Smith J. A. C., Paull, R., & Yu, Q. (2015). The pineapple genome and the evolution of CAM photosynthesis. *Nature Genetics*, 47, 1435-1442.
- Murin, A., & Feráková, V. (1988). Karyological variability of the species *Allium scorodoprasum* L. *Acta Botanica Universitatis Comenianae*, 36, 65-77.
- Neykov, S., Lozanov, I., & Ceschmedziev, I. (1992). National collection of genus *Allium* L. in Bulgaria and statistical analysis of some quantitative characters. In Hanelt, P., Hammer, K., Knapffer, H. (Eds.), *The Genus Allium – Taxonomic Problems and Genetic Resources* 359, 215-220.
- Novák, F. J., & Havránek, P. (1975). Attempts to overcome the sterility of common garlic (*Allium sativum* L.). *Biologia Plantarum*, 17, 376-379.
- Ohri, D., & Pistrick, K. (2001). Phenology and genome size variation in *Allium* L. a tight correlation? *Plant Biology*, 3, 654-660.
- Osborn, T. C., Pires, J. C., Birchler, J. A., Auger, D. L., Chen, Z. J., Lee, H. S., Comai, L., Madlung, A., Doerge, R. W., Colot, V., & Martienssen, R. A. (2003). Understanding mechanisms of novel gene expression in polyploids. *Trends in Genetics*, 19, 141-147.
- Oswald, B. P., & Nuismer, S. L. (2011). Neopolyploidy and diversification in *Heuchera grossulariifolia*. *Evolution*, 65, 1667-1679.
- Özhatay, N. (1990). The genus *Allium* in European Turkey and around Istanbul. *Annales Musei Goulandris*, 8, 115-128.
- Özhatay, N. (1993). Comparative morphological, karyological and chemical studies on *Allium scorodoprasum* complex in european Turkey. *Journal of the Faculty of Pharmacy of Istanbul University*, 29, 31-42.
- Özhatay, N., & Johnson, M. A. (1996). Some karyological remarks on Turkish *Allium* sect. *Allium*, *Bellevalia*, *Muscari*, and *Ornithogalum* subg. *Ornithogalum*. *Bocconea*, 5, 239-249.
- Parisod, C., Holderegger, R., & Brochmann, C. (2010). Evolutionary consequences of autopolyploidy. *New Phytologist*, 186, 5-17.
- Parisod, C. (2012). Polyploids integrate genomic changes and ecological shifts. *New Phytologist*, 193, 297-300.
- Pazourek, J. (1963). Studium listové epidermis mikroreliefovou metodou. *Preslia*, 35, 210-216.
- Pecrix, Y., Rallo, G., Folzer, H., Cigna, M., Gudin, S., & Le Bris, M. (2011). Polyploidization mechanisms: temperature environment can induce diploid gamete formation in *Rosa* sp. *Journal of Experimental Botany*, 62, 3587-3597.
- Peruzzi, L., Carta, A., & Altinordu, F. (2017). Chromosome diversity and evolution in *Allium* (*Allioideae*, *Amaryllidaceae*). *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 151, 212-220.

- Porturas, L. D., Anneberg, T. J., Curé, A. E., Wang, S., Althoff, D. M., & Segraves, K. A. (2019). A meta-analysis of whole genome duplication and the effects on flowering traits in plants. *American Journal of Botany*, *106*, 469-476.
- Powo, R. B. G. (2019). Plants of the world online. *Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew*.
- Rabinowitch, H. D. (1990). Onions and allied crops. Central Recovery Press.
- Ramsey, J., & Schemske, D. W. (1998). Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, *29*, 467-501.
- Ramsey, J., & Schemske, D. W. (2002). Neopolyploidy in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, *33*, 589-639.
- Ramsey, J. O., Hooker, G., Campbell, D., & Cao, J. (2007). Parameter estimation for differential equations: a generalized smoothing approach. *Journal of the Royal Statistical Society Series*, *69*, 741-796.
- Ramsey, J., & Ramsey, T. S. (2014). Ecological studies of polyploidy in the 100 years following its discovery. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, *369*, 20130352.
- Ranney, T. G. (2006). Polyploidy: From evolution to new plant development. *International plant propagators' society*, *56*, 137-142.
- Rasband, W. (2009): ImageJ. National Institute of Health, Bethesda, Maryland, USA. <http://imagej.nih.gov/ij>
- Ren, R., Wang, H., Guo, C., Zhang, N., Zeng, L., Chen, Y., Ma, H., & Qi, J. (2018). Widespread whole genome duplications contribute to genome complexity and species diversity in angiosperms. *Molecular Plant*, *11*, 414-428.
- Rice, A., Šmarda, P., Novosolov, M., Drori, M., Glick, L., Sabath, N., Meiri, S., Belmaker, J., & Mayrose, I. (2019). The global biogeography of polyploid plants. *Nature Ecology & Evolution*, *3*, 265-273.
- Robinson, D. O., Coate, J. E., Singh, A., Hong, L., Bush, M., Doyle, J. J., & Roeder, A. H. (2018). Ploidy and size at multiple scales in the *Arabidopsis* sepal. *The Plant Cell*, *30*, 2308-2329.
- R-Studio (2023, 16. dubna). R-Studio 9.2 build 191144. https://rstudio-pubs-static.s3.amazonaws.com/231816_04f09095405645a8b80116a3373580ce.html
- Sabzehzari, M., Hoveidamanesh, S., Modarresi, M., & Mohammadi, V. (2019). Morphological, anatomical, physiological, and cytological studies in diploid and tetraploid plants of *Plantago psyllium*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, *139*, 131-137.
- Sattler, M. C., Carvalho, C. R., & Clarindo, W. R. (2016). The polyploidy and its key role in plant breeding. *Planta*, *243*, 281-296.

- Segraves, K. A. (2017). The effects of genome duplications in a community context. *New Phytologist*, 215, 57-69.
- Shala, A., & Deng, Z. (2018). Investigation of morphological and anatomical changes in *Catharanthus roseus* L., G. Don due to colchicine induced polyploidy. *Scientific Journal of Flowers and Ornamental Plants*, 5, 233-243.
- Skalická, K. (2005). Polyploidie dokáže s rostlinnými genomy pěkně zatřást. *Živa*, 2, 50.
- Soltis, P. S., & Soltis, D. E. (2000). The role of genetic and genomic attributes in the success of polyploids. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97, 7051-7057.
- Soltis, D. E., Soltis, P. S., & Tate, J. A. (2004). Advances in the study of polyploidy since plant speciation. *New Phytologist*, 161, 173-191.
- Soltis, D. E., Buggs, R. J., Doyle, J. J., & Soltis, P. S. (2010). What we still don't know about polyploidy. *Taxon*, 59, 1387-1403.
- Soltis, P. S., Liu, X., Marchant, D. B., Visger, C. J., & Soltis, D. E. (2014). Polyploidy and novelty: Gottlieb's legacy. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 369, 20130351.
- Soltis, P. S., Marchant, D. B., Van de Peer, Y., & Soltis, D. E. (2015). Polyploidy and genome evolution in plants. *Current Opinion in Genetics & Development*, 35, 119-125.
- Speta, F. (1984). Über Oberösterreichs wildwachsende Laucharten (*Allium* L., *Alliaceae*). *Linzer Biologische Beiträge*, 16, 45-81.
- Spoelhof, J. P., Soltis, D. E., & Soltis, P. S. (2020). Habitat shape affects polyploid establishment in a spatial, stochastic model. *Frontiers in Plant Science*, 11, 592356.
- Stearn, W. T. (1978). European species of *Allium* and allied genera of *Alliaceae*: a synonymic enumeration. *Annales Musei Goulandris*, 4, 83-198.
- Stearn, W. T. (1980). *Allium* L. In: Tutin T. G. et al. (eds) *Flora Europaea*, 5, 49-69.
- Stearn, W. T. (1981). The genus *Allium* in the Balkan Peninsula. *Botanische Jahrbucher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie*, 102, 201-213.
- Stearn, W. T. (1992). How many species of *Allium* are known? *The Kew Magazine*, 9, 180-182.
- Stebbins, G. L. (1971). Chromosomal evolution in higher plants. *Chromosomal evolution in higher plants*, 216.
- Suda, J. (2009). Darwinova “odporná záhada” po 130 letech aneb souvisí polyploidie s rozmanitostí krytosemenných rostlin. *Živa*, 5, 204.
- Sugiyama, S., Yamaguchi, K., & Yamada, T. (2002). Intraspecific phenotypic variation associated with nuclear DNA content in *Lolium perenne* L. *Euphytica*, 128, 145-151.
- Sugiyama, S. I. (2005). Polyploidy and cellular mechanisms changing leaf size: comparison of diploid and autotetraploid populations in two species of *Lolium*. *Annals of Botany*, 96, 931-938.

Suzuki, M., & Chatterton, N. J. (1993). Science and technology of fructans. Central Recovery Press.

Štajner, D., Milić, N., Čanadanović-Brunet, J., Kapor, A., Štajner, M., & Popović, B. M. (2006). Exploring *Allium* species as a source of potential medicinal agents. *Phytotherapy Research An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 20, 581-584.

Tavan, M., Mirjalili, M. H., & Karimzadeh, G. (2015). In vitro polyploidy induction: changes in morphological, anatomical and phytochemical characteristics of *Thymus persicus* (Lamiaceae). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 122, 573-583.

Te Beest, M., Le Roux, J. J., Richardson, D. M., Brysting, A. K., Suda, J., Kubešová, M., & Pyšek, P. (2012). The more the better? The role of polyploidy in facilitating plant invasions. *Annals of Botany*, 109, 19-45.

Tekleyohans, D. G., Mao, Y., Kägi, C., Stierhof, Y. D., & Groß-Hardt, R. (2017). Polyspermy barriers: a plant perspective. *Current Opinion in Plant Biology*, 35, 131-137.

The R Project for Statistical Computing. (2023, 21. března). <https://www.r-project.org>

Toda, E., & Okamoto, T. (2020). Polyspermy in angiosperms: its contribution to polyploid formation and speciation. *Molecular Reproduction and Development*, 87, 374-379.

Ulçay, S. (2022). Anatomy, palynology, seed and leaf micromorphology of Turkish endemic *Allium brevicaulis* Boiss. & Balansa and *Allium scorodoprasum* ssp. *rotundum* (L.) Stearn. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 64, 27-38.

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

Van Laere, K., França, S. C., Vansteenkiste, H., Van Huylenbroeck, J., Steppe, K., & Van Labeke, M. C. (2011). Influence of ploidy level on morphology, growth and drought susceptibility in *Spathiphyllum wallisii*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33, 1149-1156.

Vanstechelman, I., Vansteenkiste, H., Eeckhaut, T., Van Huylenbroeck, J., & Van Labeke, M. C. (2009). Morphological and anatomical characterisation of chemically induced polyploids in *Spathiphyllum wallisii*. In *XXIII International Eucarpia Symposium, Section Ornamentals: Colourful Breeding and Genetics 836*, 79-84.

Van de Peer, Y., Mizrachi, E., & Marchal, K. (2017). The evolutionary significance of polyploidy. *Nature Reviews Genetics*, 18, 411-424.

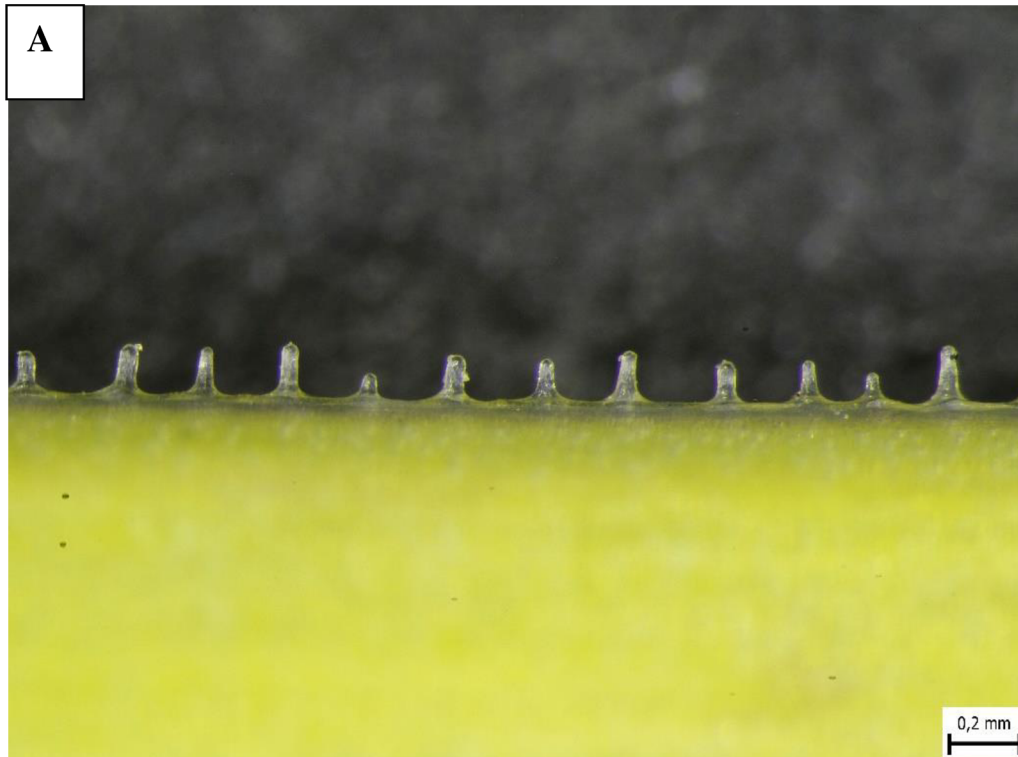
Vekemans, D., Proost, S., Vanneste, K., Coenen, H., Viaene, T., Ruelens, P., Maere, S., Van de Peer, Y., & Geuten, K. (2012). Gamma paleohexaploidy in the stem lineage of core eudicots: significance for MADS-box gene and species diversification. *Molecular Biology and Evolution*, 29, 3793-3806.

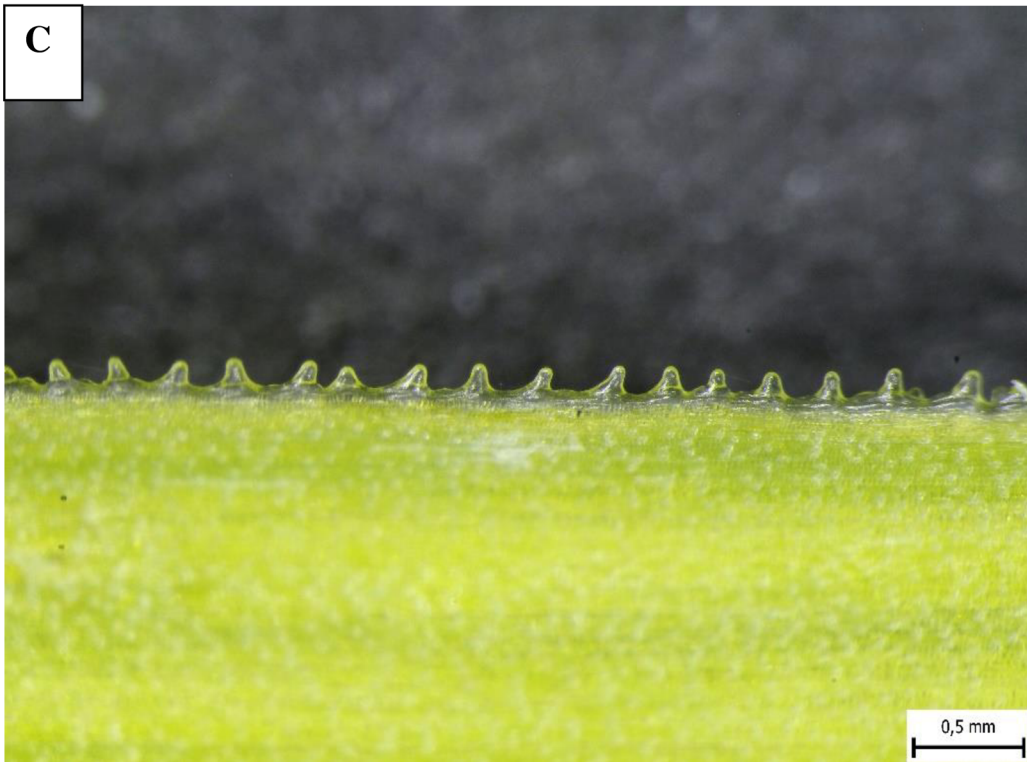
Veselý, P., Šmarda, P., Bureš, P., Stirton, C., Muasya, A. M., Mucina, L., Horová, L., Veselá, K., Šilerová, A., Šmerda, J., & Knápek, O. (2020). Environmental pressures on stomatal size

- may drive plant genome size evolution: evidence from a natural experiment with Cape geophytes. *Annals of Botany*, *126*, 323-330.
- Wang, X., Wang, H., Wang, J., Sun, R., Wu, J., & Liu, S. (2011). The genome of the mesopolyploid crop species *Brassica rapa*. *Nature Genetics*, *43*, 1035–9.
- Wickham, H. (2011). Ggplot2. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics*, *3*, 180-185. <https://doi.org/10.1002/wics.147>
- Wickham, H., Chang, W., & Wickham, M. H. (2016). Package ggplot2. Create elegant data visualisations using the grammar of graphics. *Version*, *2*, 1-189.
- Xie-Kui, C., Ao, C. Q., Zhang, Q., Chen, L. T., & Liu, J. Q. (2008). Diploid and tetraploid distribution of *Allium przewalskianum* Regel. (*Liliaceae*) in the Qinghai-Tibetan Plateau and adjacent regions. *Caryologia*, *61*, 192-200.
- Yousaf, Z., Shinwari, Z. K., Asghar, R., & Parveen, A. (2008). Leaf epidermal anatomy of selected *Allium* species, family *Alliaceae* from Pakistan. *Pakistan Journal of Botany*, *40*, 77.
- Yousaf, Z., Umer, A., Younas, A., Khan, F., & Wang, Y. (2012). Allelopathic plants: 24. Genus *Allium*. *L. Allelopathy Journal*, *29*, 1-12.
- Yusupov, Z., Ergashov, I., Volis, S., Makhmudjanov, D., Dekhkonov, D., Khassanov, F., Tojibaev, K., Deng, T., & Sun, H. (2022). Seed macro-and micromorphology in *Allium* (*Amaryllidaceae*) and its phylogenetic significance. *Annals of Botany*, *129*, 869-911.
- Zakizadeh, S., Kaviani, B., & Hashemabadi, D. (2020). In vivo-induced polyploidy in *Dendrobium Sonia* in a bubble bioreactor system using colchicine and oryzalin. *Brazilian Journal of Botany*, *43*, 921-932.
- Zona, S., & Howard, C. C. (2022). Aerial vegetative diaspores of angiosperms: terminology, organography, and dispersal. *Flora*, *287*, 151989.
- Zozomová-Lihová, J., Malánová-Krásná, I., Vít, P., Urfus, T., Senko, D., Svitok, M., Kempa, M. & Marhold, K. (2015). Cytotype distribution patterns, ecological differentiation, and genetic structure in a diploid–tetraploid contact zone of *Cardamine amara*. *American Journal of Botany*, *102*, 1380-1395.

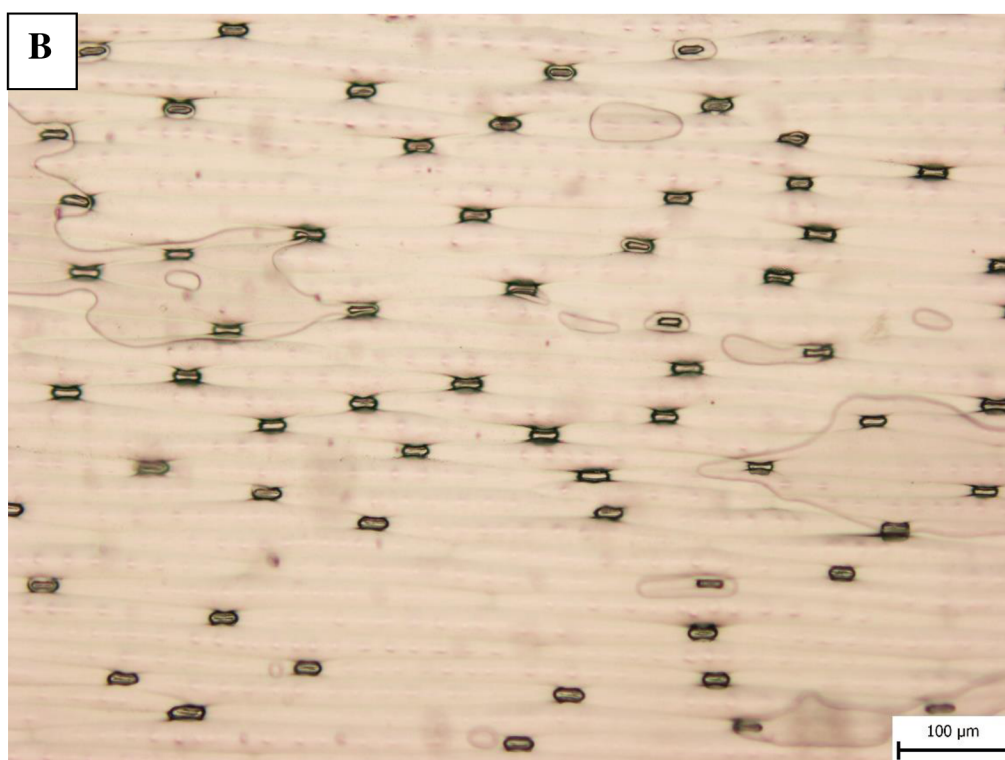
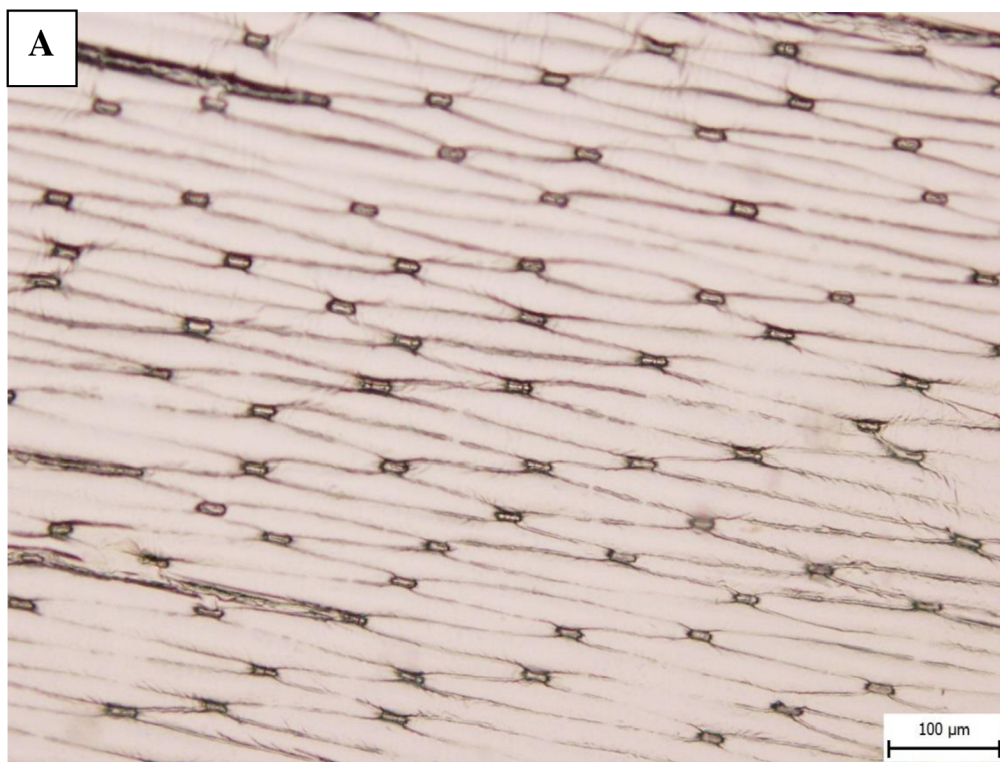
8. PŘÍLOHY

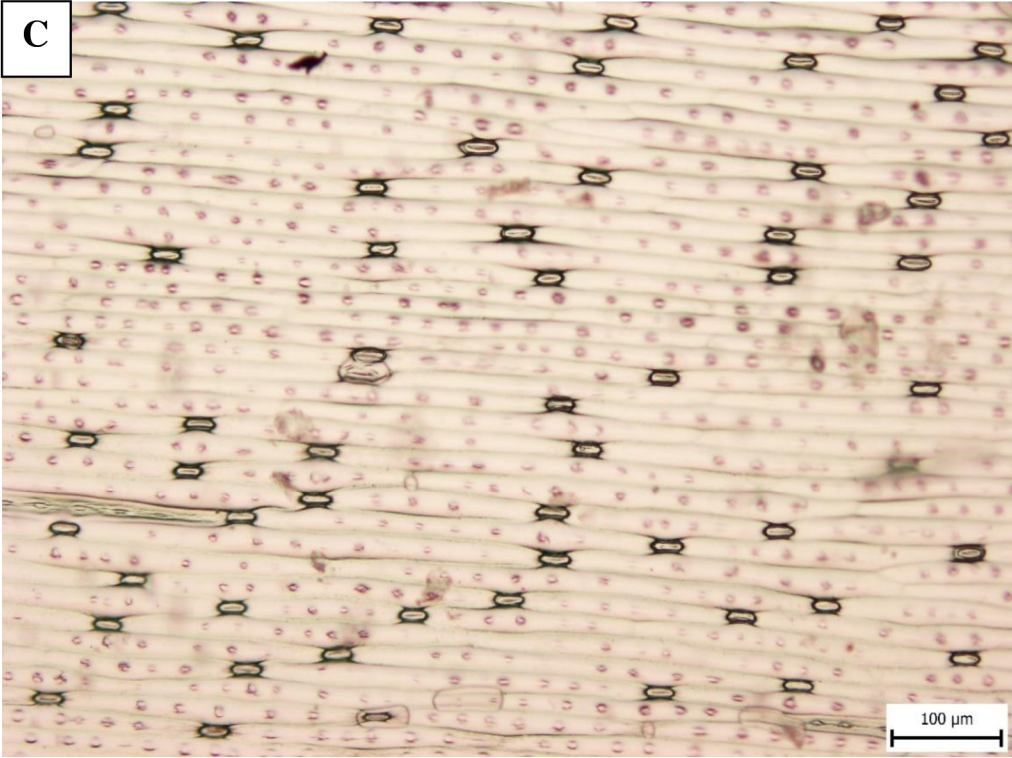
Příloha 1: Snímky tvarů papil u *Allium scorodoprasum* (A – prstovité až tuberkulózní, B – kulovité, C – zubaté, D – malé cylindrické; klasifikace dle Mifsud & Mifsud 2018).



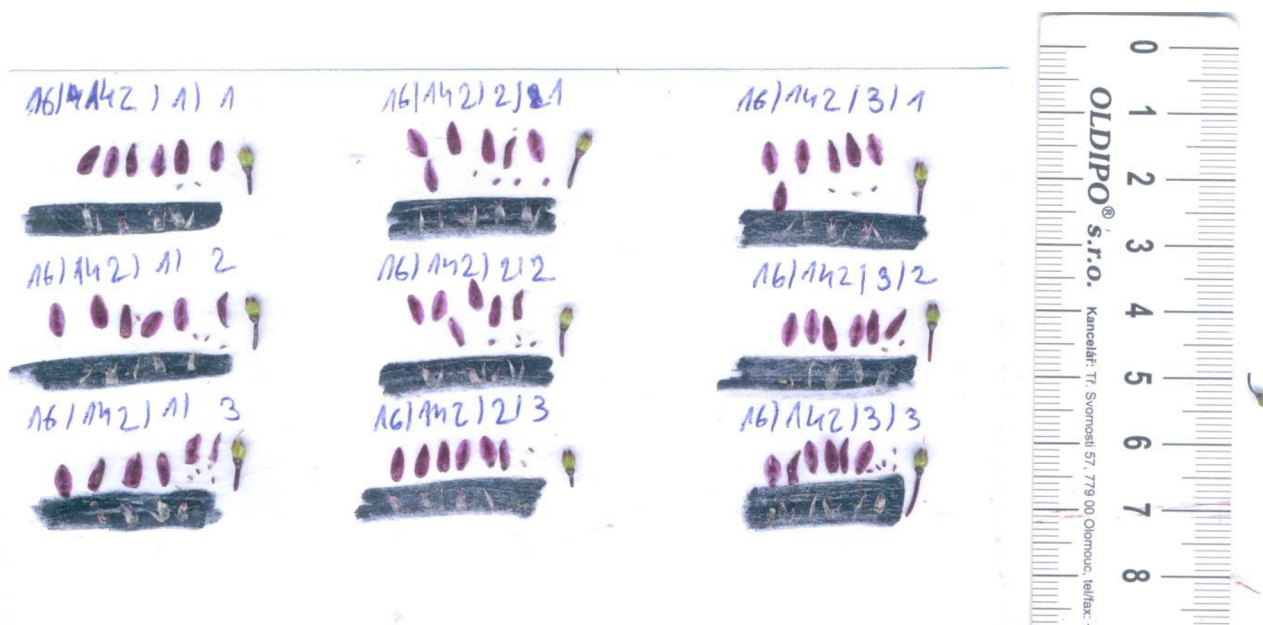


Příloha 2: Ukázka uspořádání epidermálních buněk epidermis u *Allium scorodoprasum*.
A – diploid, B – triploid, C – tetraploid.





Příloha 3: Ukázka částí preparovaných květů u *Allium scorodoprasum*. Číslo označuje kód jedince, jeho populaci a stupeň ploidie.



Příloha 4: Ukázka tvaru a povrchu semen u *Allium scorodoprasum*.

