

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
BIOLOGICKÁ FAKULTA

**Variabilita *Melampyrum sylvaticum* agg. v části
Střední Evropy**



bakalářská diplomová práce

Jakub Těšitel
2005

školitel: ing. Milan Štech, PhD.
konzultant: doc. RNDr. Petr Šmilauer, PhD.

Těšitel J. (2005): Variabilita *Melampyrum sylvaticum* agg. v části Střední Evropy [Variation in *Melampyrum sylvaticum* group in a part of the Central European region, Bc. Thesis; in Czech]. – 49 p., Faculty of Biological Sciences, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Anotace:

Variation in *Melampyrum sylvaticum* group was studied in the region of Central Europe excluding the Alps and the western part of the Hercynian Massive. Variability of morphological traits was investigated using methods of both univariate and multivariate statistical analyses. Main trends in morphological variation are described and discussed. Emphasis on the traits connected to the seasonal variation and the traits used traditionally for delimiting of particular species was taken.

Tato práce byla financována z grantů „Mattoni Awards for Studies of Biodiversity and Conservation Biology 2004 a 2005“ (řešitel J. Těšitel).

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracoval samostatně, pouze s použitím citované literatury

.....

V Českých Budějovicích, v pátek 13. května 2005

Poděkování

Na tomto místě bych rád poděkoval všem, kteří mě podporovali a pomáhali mi během psaní této práce i při sběru dat v terénu. Můj vděk patří hlavně mému školiteli Milanovi Štechovi a konzultantu Petrovi Šmilauerovi za jejich cenné rady a připomínky a hlavně trpělivost během psaní této práce.

Děkuji mámě, tátovi a celé svojí rodině za jejich nejen morální podporu v průběhu celého studia, bez jejich pomoci by některé výsledky prezentované v této práci byly stěží dosažitelné. Děkuji také Tamaře, která se mnou bez zaváhání absolvovala náročnou (nejen z hlediska počasí) cestu do rumunských hor pro vzorky *Melampyrum saxosum* a byla mi velkou oporou nejen v době sepisování této práce. Jsem zavázán i všem svým kamarádům na fakultě, kteří zde vytvářeli a vytváří potřebnou tvůrčí a přátelskou atmosféru a nejdnou mi pomohli překonat nečekané problematické situace. Děkuji i Jolaně Kolářové za obstarání mikroskopavek pro uchovávání vzorků.

Poděkování bych rád vyjádřil i všem dobrým lidem, které jsem náhodně potkal během provádění sběrů v terénu a kteří mi mojí práci ulehčili, nebo mi pomohli ve svízelných situacích. Mezi ně patří zejména Katarína a Erika, které mi poskytly azyl, horký čaj a aspirin na informačním středisku Národního parku Nízké Tatry, když jsem na svých cestách promokl, prochládl a onemocněl. Děkuji však i neznámému (pravděpodobně častému) hostu restaurace na autobusovém nádraží v Popradě, který dbal na to, abych při své práci (zpracovávání vzorků) nebyl rušen jeho kolegy.

Obsah

1. Úvod	1
1.1 Skupina <i>Melampyrum sylvaticum</i> agg.	1
1.2 Typy variability	2
2. Cíle práce	3
3. Využití metod geometrické morfometrie při studiu variability rostlin	3
3.1 Geometrická morfometrie	3
3.2 Metody založené na význačných bodech	4
3.3 Metody založené na analýze obrysu – Fourierovy analýzy.	5
3.4 Zhodnocení přínosu geometrické morfometrie	7
4. Metodika	8
4.1 Materiál	8
4.2 Změny morfologie květu v rámci jedné rostliny v průběhu vegetační sezóny	12
4.3 Ekologická variabilita	12
4.4 Sezónní variabilita	12
4.5 Statistické zpracování dat	12
5. Výsledky	15
5.1 Změny morfologie květu v rámci jedné rostliny v průběhu vegetační sezóny	15
5.2 Ekologická variabilita - populace v Bielovodské dolině J Lysé Pořany	17
5.3 Sezónní variabilita	17
5.3.1. Šumava	24
5.3.2. Malá Fatra	24
5.3.3 Nízké Tatry	24
5.3.4 Vysoké a Západní Tatry	24
5.3.5 Hrubý Jeseník	24
5.3.6 Vztahy sezónních znaků k nadmořské výšce	24
5.4 Celková analýza morfometrických znaků	27
5.4.1 Rozložení variability znaků na hierarchické úrovně	27
5.4.2 Společná analýza všech měřených znaků	27
5.4.3 Analýza tvaru nejspodnějšího listenu	31
5.4.4 Analýza znaků na květu	31
5.4.5 Variabilita v délkách prašníku a koruny	31
6. Diskuse	36
6.1 Změny morfologie květu v rámci jedné rostliny v průběhu vegetační sezóny	36
6.2 Ekologická variabilita	36
6.3 Sezónní variabilita	37
6.3.1 Variabilita v počtu interkalárních článků	37
6.3.2 Variabilita v počtu lodyžních článků	38
6.3.3 Celková variabilita všech znaků (nesezónních)	39
6.3.4 Využití analýzy obrysu při studiu variability <i>Melampyrum sylvaticum</i> agg.	43
6.3.5 <i>Melampyrum sylvaticum</i> agg. v Železných horách	43
7. Závěr	44
8. Literatura	45
9. Fotografická příloha	48

1. Úvod

1.1 Skupina *Melampyrum sylvaticum* agg.

Melampyrum sylvaticum agg. patří mezi tzv. kritické skupiny, neboť vymezení jednotlivých druhů, které zahrnuje, není zcela ostré, existuje mnoho přechodných typů a znaky používané k oddělení druhů vykazují i vysokou vnitrodruhovou variabilitu. Efekty různých úrovní genetické variability na morfologii rostlin jsou od sebe těžko oddělitelné a navíc z velké části zastřeny odpovědí fenotypu na podmínky prostředí. Definovat rozdíly mezi druhy pomocí morfologických znaků je z těchto důvodů dosti komplikované.

Areál agregátu pokrývá v podstatě všechna evropská pohoří od Pyrenejí po Ural, v Severní Evropě potom sestupuje i do nižších poloh a vytváří zde souvislý výskyt (Meusel et al. 1978). Nejvyšší druhové variability dosahuje skupina v Karpatských pohořích.

V první polovině 20. století se několik autorů pokoušelo komplex *Melampyrum sylvaticum* agg. taxonomicky zpracovat (Beauverd 1916, Ronniger 1911, Soó 1926–27) v rámci studií celého rodu. Výsledkem však bylo pouze popsání velkého množství vnitrodruhových taxonů, které byly často oddělovány na základě znaků spojených se sezónní variabilitou (vysvětlení viz dále). Takové závěry jsou z dnešního pohledu stěží akceptovatelné. Přesto však práci těchto autorů nelze považovat za neplodnou, neboť se jim vcelku úspěšně podařilo popsat nepř. fenomén sezónní variability. Poněkud lépe mezidruhové rozdíly ve skupině kvantifikoval Jasiewicz (1958), který publikoval v obecných rysech dodnes platnou (alespoň na mezidruhové úrovni) taxonomickou koncepci. Nověji se systematikou *Melampyrum sylvaticum* agg. zabývali Štech, Šípošová a Drábková (Šípošová 1997, Štech 1998, Štech & Drábková 2005), kterým se podařilo nastínit základní zákonitosti ve variabilitě komplexu. Přesto zůstává mnoho nejasností.

Ve skupině *Melampyrum sylvaticum* agg. se tradičně na základě morfologie květních částí (velikost a barva koruny, délka prašníků) rozlišují tři druhy. Vlastní *Melampyrum sylvaticum* L. představuje typ s nejmenší korunou o délce (5–)7–9(–11) mm a nejkratšími prašníky, ty jsou (1,4–)1,6–2,1(–2,3) mm dlouhé (Jasiewicz 1958). Barva koruny je zlatožlutá. Areál tohoto druhu se v podstatě překrývá s areálem skupiny, vyskytuje se tedy v horách celé Evropy. Lze ho často nalézt ve smrčínách a vystupuje až k horní hranici lesa. *Melampyrum herbichii* WOŁOSZCZAK je předchozímu druhu do značné míry podobné. Koruna je opět zlatožlutá, ale větší, (7–)9–12,5(–14) mm dlouhá, i prašníky jsou delší – (2,0–)2,4–3,6(–4,2) mm (Jasiewicz 1958). Těžiště jeho výskytu jsou polohy při hranici lesa ve Východních a Jižních Karpatech. Zasahuje však i do Karpat Západních a četné typy morfologicky intermediárního charakteru mezi *M. sylvaticum* a *M. herbichii* zasahují i do Sudet (Štech 1998). Překryv morfologických znaků a areálů druhů *M. sylvaticum* a *M. herbichii* je tedy zjevný. Třetím druhem je *Melampyrum saxosum* BAUMG., které se liší od obou předchozích bílou barvou květů, kvantitativní morfologické charakteristiky se překrývají s *M. herbichii* (Jasiewicz 1958). Tento fakt je příčinou velmi obtížné klasifikace herbářových položek, jejichž barva květu bývá zpravidla již nerozeznatelná. Výskyt *M. saxosum* je omezen výhradně na oblast Východních a Jižních Karpat, dosti typická se zdá být vegetační vazba na klečový stupeň.

Štech (2000) navrhl použití rozdílů ve tvarech listenů (zejména poměr délky a šířky a přítomnost a tvar zubů) jako dalšího znaku pro odlišení *M. sylvaticum* a *M. herbichii* a to zejména

pro populace na území České republiky, jejichž velikosti korun a délky prašníků často dosahují intermediárních hodnot.

1.2 Typy variability

Jak bylo v předchozím textu naznačeno, *Melampyrum sylvaticum* agg. se vyznačuje vysokou morfologickou variabilitou komplikovanou vzájemnými interakcemi faktorů, které ji ovlivňují. Výslednou, velmi složitou celkovou strukturu variability se zatím nepodařilo postihnout dostatečně výstižným popisem.

Významnou součástí genetické variability nejen rodu *Melampyrum*, ale mnoha dalších rodů tribu *Rhinantheae* BENTH je tzv. sezónní, či přesněji pseudosezónní variabilita. Tímto pojmem se rozumí existence dvou či více morfologicky, fenologicky a často i ekologicky definovaných typů. Ty často nebývají zcela ostře odděleny díky existenci mezilehlých typů. Za hlavní znaky, které se pojí se sezónní variabilitou, se považuje počet lodyžních článků, počet interkalárních článků (tj. článků mezi nodem nesoucím nejhořejší větve a nodem nesoucím nejspodnější květy), počet bočních větví a přítomnost děložních listů v době květu (Štech 1998). Velmi podrobný rozbor tohoto tématu i s historickým přehledem literatury zpracoval Štech ve své disertační práci (Štech 1998). Časné (aestivální) typy se vyznačují malým počtem lodyžních i interkalárních článků a chudším větvením, zatímco pozdní (autumnální) typy spíše větším počtem lodyžních článků a bohatým větvením.

V případě *Melampyrum sylvaticum* agg. se často neprojevuje časový rozdíl v době kvetení – oba krajní typy mohou kvést v podstatě zároveň, rozdíl se promítá spíše do rozdílných ekologických preferencí obou typů. Časné typy primárně osidlují vyšší polohy na hranici lesa (mohou však místy sestupovat i do nižších poloh). Naopak pozdní typy jsou hojné ve smrčinách položených níže. Velmi dobře je to patrné např. na změně počtu lodyžních článků s nadmořskou výškou v Alpách (Štech 1998)

Nepochybně velký vliv na morfologii rostlin mají faktory prostředí, hlavně již zmiňovaná nadmořská výška (hlavní efekt zde má pravděpodobně délka vegetační sezóny), druh hostitelské rostliny a expozice vůči slunečnímu záření.

Kromě variability mezi rostlinami je důležitá i variabilita mezi květy téže rostliny, a to zejména kvůli tomu, že právě rozměry květních částí jsou tradičně považovány za diagnostické znaky pro rozlišení jednotlivých druhů.

Pro taxonomii skupiny jsou zvláště důležité interakce projevů genetické variability na nižších úrovních (v rámci regionu, typicky sezónní variabilita) a fenotypové plasticity s projevy genetické variability na vyšších úrovních. Jedině genetická variabilita na vyšších úrovních může totiž sloužit k vylišení typů na vyšší taxonomické úrovni (druhy, poddruhy).

2. Cíle práce

Cílem této práce je zachytit a popsat trendy v morfologické variabilitě ve skupině *Melampyrum sylvaticum* agg. v území, kde tato skupina dosahuje největší variability v rámci celého svého areálu. Důležitým dílčím cílem je kvantifikace složek variability, které odpovídají geografickým a populačním úrovním (mezi regiony – mezi populacemi v rámci regionu – vnitropopulační). Výsledky studie by též měly přispět ke zhodnocení použitelnosti znaků pro rozlišení jednotlivých druhů v rámci skupiny.

3. Využití metod geometrické morfometrie při studiu variability rostlin

K popisu složité morfologické variability rostlinných struktur lze přistupovat různými způsoby, které náleží do dvou rozdílných, ale zároveň vzájemně se doplňujících metodických přístupů. Prvním z nich jsou tradiční morfometrické metody, druhým potom metody spadající do tzv. geometrické morfometrie. Právě metody geometrické morfometrie by mohly být významným pomocníkem při popisu morfologické variability *Melampyrum sylvaticum* agg.

3.1 Geometrická morfometrie

Klasické morfometrické (nebo též biometrické) metody přistupují ke tvaru objektů pomocí rozkladu na omezené množství *a priori* zvolených rozměrů. Výsledky těchto analýz (obvykle ve formě tabulek, grafů, či dendrogramů) neobsahují v podstatě žádnou geometrickou informaci, nelze z nich např. zpětně zrekonstruovat původní tvary zkoumaných objektů (Macholán 1999). Tento „nedostatek“ řeší tzv. geometrická morfometrie, což je zcela odlišný přístup k variabilitě tvarů živých organismů, který zpracovává informaci obsaženou ve tvaru jako celku a během procesu analýzy nedochází k odstranění geometrické informace. I na konci analytického procesu jsme schopni rekonstruovat tvar, se kterým pracujeme, tzn. že kromě klasických výstupů (tabulky, dendrogramy, ordinační diagramy), můžeme z analýz získat i přímé zobrazení tvarů, jejich variability, rozdílů mezi skupinami apod. (Macholán 1999)

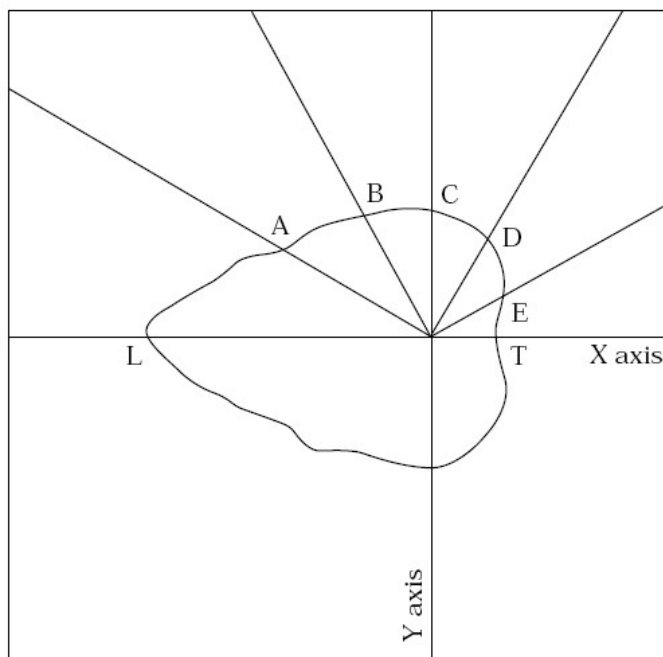
I přesto, že byly počátky geometrické morfometrie poněkud naivní (Macholán 1999), v průběhu 20. století (od 80.–90. let) se stala mocným nástrojem pro zachycení tvarových změn nejrůznějších biologických objektů. O tom svědčí i články s názvem „A Revolution in morphometrics“ apod. (např. Rohlf & Marcus 1993, Corti 1993) v odborném tisku v 90. letech. Časté jsou zejména aplikace v zoologii a antropologii (např. Lestrel et al. 2004), protože tvar natolik komplexních objektů, jako jsou třeba lebky, je tradičními metodami stěží postihnutelný. Je si však třeba uvědomit, že metody geometrické morfometrie neznamení konec tradičně používaných metod, jsou spíše jejich rozšířením (Jensen 2003). Konvenční metody (či jejich modifikace) navíc ve většině případů slouží jako nástroj k sumarizaci výsledků dosažených geometrickou morfometrikou.

V závislosti na charakteru tvaru studovaných objektů se využívají dva hlavní metodické přístupy. Buď je možné na objektech definovat význačné body (*landmarks*), které jsou navzájem homologické, anebo studované objekty takové body postrádají. V prvním případě využíváme metody, které analyzují rozdíly v polohách význačných bodů jednotlivých objektů. V případě druhém je možné definovat na obrysu zkoumaného objektu odvozené význačné body

(*pseudolandmarks*, viz obr. 1), anebo lze (častěji) využít metody pracující s celkovým obrysem objektu.

3.2 Metody založené na význačných bodech

Metody založené na analýze rozdílů mezi polohami význačných bodů tvoří jádro geometrické morfometrie (Zima et Macholán in Zima et al. 2004). Jejich nejjednodušší příklad představuje tzv. Prokrustova analýza. Ta je založená na hledání největší možné shody (měřeno pomocí sumy čtverců odchylek, *least squares*) mezi polohami význačných bodů dvou objektů pomocí jejich rotace, posunu a stejnoměrné změny velikosti (Macholán 1999). Pro větší počet objektů než dva lze použít Prokrustovu metodu založenou na *generalized least squares* (GLS), tato metoda se též označuje jako *generalized Procrustes method* (Podani 2000). Výstup této analýzy pak představuje znázornění rozdílů polohy význačných bodů. To lze provést vynesemím bodů, či vektorů znázorňujících polohu těchto bodů na jednotlivých objektech, případně je možné variabilitu polohy homologických bodů sumarizovat například pomocí analýzy hlavních komponent (Rohlf & Slice 1990) nebo shlukové analýzy (Jensen, Ciofani & Miramontes 2002).



obr. 1: Způsob definice význačných bodů na listu zástupce rodu *Nothofagus*. Písmeny L a T jsou označeny význačné body (*landmarks*), písmeny A–E odvozené význačné body (*pseudolandmarks*). *Pseudolandmarks* jsou definovány jako průsečíky obrysu listu a polopřímek, které vychází z bodu, ve kterém prochází osa listu jeho nejširším místem. Sousední polopřímky spolu svírají konstantní úhel 30°. Převzato z Premoli (1996).

Trochu odlišný přístup, který podává více informací o tvarových rozdílech zkoumaného a referenčního objektu (deformacích), představuje tzv. metoda ohebných pásek (*thin plate spline*), která v analogii s principy mechaniky přiřazuje změnám konstituce význačných bodů tzv. deformační energii (čím je změna lokálnější, tím je tato energie větší – obdobně delší pásek z plechu ohneme snáze než kratší). Pro větší počet objektů než dva lze použít analýzu relativních deformací (*thin plate spline relative warps*, TPSRW), která je z ní odvozena. Ta spočívá v sumarizaci matice

tzv. parciálních deformací každého bodu procesem obdobným analýze hlavních komponent (Zima et Macholán in Zima et al. 2004).

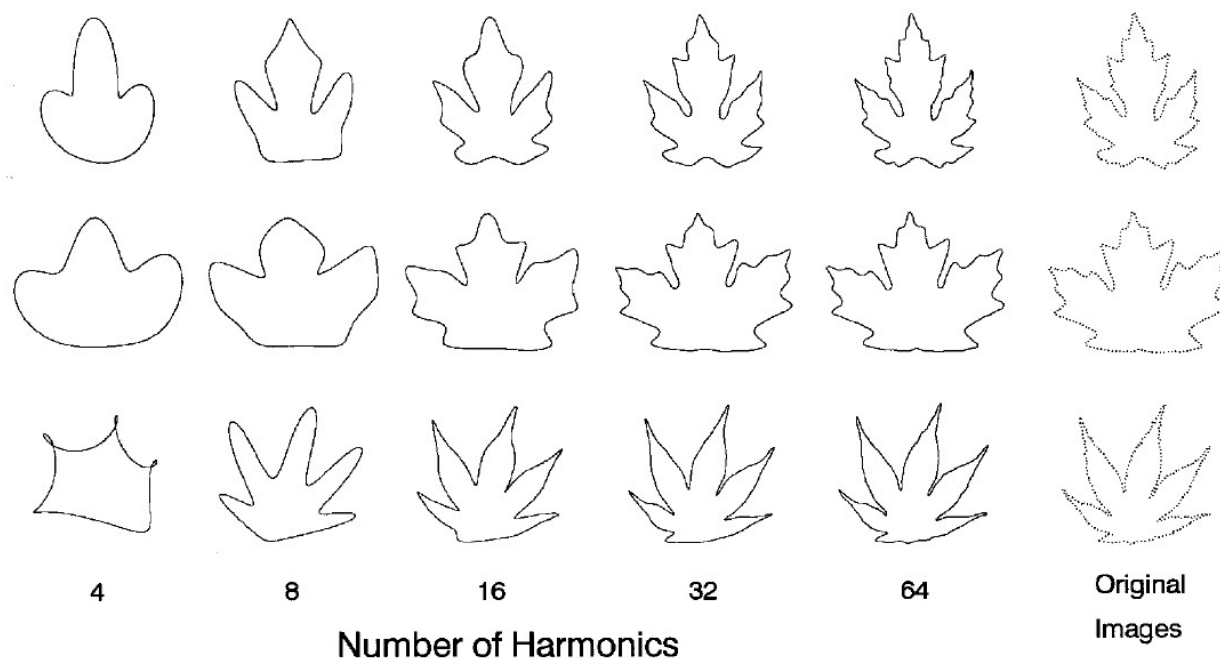
Jensen, Ciofani & Miramontes (2002) použili metodu ohebných pásků k morfometrické analýze listů *Acer rubrum* L. a *A. saccharum* MARSH. a jejich hybrida, přičemž porovnávali úspěšnost rozlišení těchto tří skupin objektů s metodami tradiční morfometrie i analýzou koeficientů eliptických Fourierových funkcí. Metoda ohebných pásků zde dosahovala nejlepších výsledků (obě zbylé metody však příliš nezaostávaly).

Premoli (1996) v podobné studii srovnával využití metod geometrické morfometrie (analýza význačných bodů i eliptická Fourierova analýza) a tradičních morfometrických metod k rozlišení listů druhů rodu *Nothofagus* BLUME. Narozdíl od předcházející studie však dospěl k závěru, že pro popis těchto objektů je zdaleka nejvýhodnější využití analýzy obrysu, která byla s to správně klasifikovat 100% vzorků. Zbylé metody si v tomto případě vedly výrazně hůře.

Široké uplatnění těchto metod v rostlinné taxonomii je poněkud omezeno charakterem zkoumaných struktur, které povětšinou neumožňují definovat dostatečný počet význačných bodů.

3.3 Metody založené na analýze obrysu – Fourierovy analýzy.

Základním principem všech Fourierových analýz je převedení zkoumaných obrysů na funkci, která je definována jako série sinových a kosinových funkcí, tzv. harmonických složek. Každá následující harmonická složka popisuje menší detaily ve tvaru objektu (viz obr. 2). Jako předmět analýz pak slouží parametry harmonických složek nazývané koeficienty Fourierových funkcí (Zima & Macholán in Zima et al. 2004). Velkou výhodou představuje možnost vizualizace výsledků pomocí inverzní Fourierovy funkce (Yoshioka et al. 2004, Iwata & Ukai 2002, Zima et Macholán in Zima et al. 2004).



obr. 2: Rekonstrukce tvaru listů *Acer saccharinum* (nahore), *A. saccharum* (uprostřed) a *A. palmatum* (dole) v závislosti na počtu využitých harmonických složek eliptických Fourierových funkcí, které tvar listů popisují. Převzato z McLellan & Endler (1998).

Základní Fourierova analýza ani tangenciální Fourierova analýza (viz Zima et Macholán in Zima et al. 2004) se v morfometrii příliš nepoužívají. Naopak hojně využívanou metodou je tzv. eliptická Fourierova analýza, jejíž principy publikovali Kuhl a Giardina (1982).

Velmi jednoduché využití Fourierovy eliptické analýzy publikovali Yoshioka et al. (2004), kteří zkoumali rozdíly ve tvarech korunních plátků druhu *Primula sieboldii* E. MORREN. Jejich cílem bylo zhodnotit tvary různých kultivarů a separovat od sebe vlivy genetické variability a prostředí na tvar petalů. To provedli rozložením tvarové variability na hierarchické úrovně: květ – jedinec – kultivar – mezi kultivary, symetrické a asymetrické složky variability byly analyzovány odděleně. V rámci asymetrické složky zjistili největší variabilitu na úrovni květu (75%), naopak v případě symetrické složky byl nejvyšší podíl variability zjištěn mezi kultivary (70%). Z toho vyvodili, že symetrická složka variability je dána z větší části geneticky, zatímco asymetrická je spíše výsledkem interakce rostliny s prostředím. Metodicky obdobnou studii zhodnocení variability tvaru kořene *Raphanus sativus* L. publikovali Iwata et al. (1998).

Výše uvedené práce se nicméně zabývají spíše čistě praktickými otázkami (kultivary *Primula sieboldii* patří mezi velmi oblíbené zahradní rostliny v Japonsku). Z hlediska využití popisované metody při studiu variability rostlin jsou významnější následující studie, které odpovídají na otázky a interpretují výsledky ve více biologickém kontextu.

Na porovnání úspěšnosti Fourierovy analýzy obrysu a klasických přístupů (spočívajících v měření vzdáleností mezi body a počítání jednočíselných indexů popisujících komplexitu tvaru) v popisu tvaru listů stromů z rodů *Acer* L., *Liquidambar* L. a *Quercus* L., založili svoji studii i McLellan & Endler (1998). Analýza obrysu ve spojení s kanonickou a klasifikační diskriminační analýzou v tomto případě dospěla k velmi přesnému oddělení vzorků odlišných druhů. Podobně si vedly i jednočíselné indexy popisující komplexitu objektu (např. *dissection index*, tj. poměr mezi obvodem a odmocninou plošného obsahu standardizovaný takovým způsobem, aby jeho hodnota pro kruh byla rovna 1), když byly analyzovány společně pomocí mnohorozměrných metod. Klasický *distance-based* přístup v tomto případě zaostával (85–95% správně klasifikovaných objektů oproti 99–100%).

Z taxonomického hlediska je významná studie Olssona et al. (2000) analyzující tvary lístků známé kritické skupiny *Rosa* L. sect. *Caninae* (SÉR.) REHD. I v tomto případě byla data zpracovávána zároveň tradičními morfometrickými metodami a navíc byla provedena analýza RAPD markerů. Eliptická Fourierova analýza zde jednoznačně předčila tradiční morfometrii a oddělila od sebe jednotlivé drobné taxony v souladu se stávajícím taxonomickým konceptem skupiny. Naopak RAPD markery ukázaly vzájemnou příbuznost některých typů těsnější, než by vyplývalo z morfologie.

Významnou srovnávací práci publikovali Rumpunen & Bartish (2002), kteří studovali variabilitu tvaru listů v rodě *Chaenomeles* LINDL. (*Rosaceae*). Jejich cílem bylo zhodnotit schopnost jednotlivých metod podchytit morfologickou variabilitu na různých úrovních od mezidruhé až po rozdíly ve tvaru listu blízce příbuzných jedinců. Výsledky eliptických Fourierových analýz v tomto případě vykazovaly vysokou shodu s výsledky analýz molekulárních (RAPD) dat a to jak v zařazení vzorků do druhů a populací a skupin příbuzných jedinců v rámci populace, tak v rozložení

variability na jednotlivých úrovních. Výsledky dosažené analýzami klasických metrických deskriptorů v tomto případě vykazovaly mnohem menší schopnost oddělovat jednotlivé skupiny všech úrovní.

Dosti odlišných výsledků dosáhli Cannon & Manos (2001), kteří zkoumali evoluci morfologických znaků (žalud – receptakulum) plodů rodu *Lithocarpus* BLUME (*Fagaceae*) porovnáváním výsledků dosažených metodami geometrické morfometrie (kromě eliptické Fourierovy analýzy použili ještě tzv. analýzu vlastního tvaru (*eigenshape analysis*) – obě metody se ve výsledcích příliš nelišily) s výsledky sekvencí ITS regionu jaderné rDNA. Následně provedli rekonstrukci fylogeneze založenou na obou typech dat a porovnali výsledné fylogenetické stromy. Morfometrický přístup sice dokázal dobře podchytit rozdíly ve tvarech plodů jednotlivých druhů a byla dosažena poměrně dobrá shoda s platným taxonomickým dělením skupiny, jenže ITS sekvence ukázaly, že vše je nejspíše jinak. Fylogenetická historie skupiny podle nich není ve shodě s morfologickou podobností a změny tvarů plodu proběhly opakovaně. Jako možnou příčinu rozdílných výsledků získaných analýzami molekulárních a morfologických dat autoři předkládají silný selekční tlak preferující tlustostěnné receptakulum jakožto ochranu před predací semen.

3.4 Zhodnocení přínosu geometrické morfometrie

Geometrická morfometrie může představovat velmi mocný nástroj pro studium variability rostlin. Toto tvrzení platí jak pro metody založené na význačných bodech, tak pro metody založené na analýze obrysu. Ty první se zdají být vhodné spíše pro analýzy složitějších tvarů (např. listy druhů rodu *Acer*), síla analýzy obrysu se projevuje hlavně při popisu méně komplikovaných tvarů, kde je však třeba zachytit i rozdíly spočívající ve velmi jemných odchylkách proporcí (např. běžné listy vejčitého tvaru). V případě využití geometrické morfometrie k rekonstrukci fylogeneze je třeba analyzovat pouze objekty, jejichž tvar není pod selekčním tlakem, v opačném případě je nutno očekávat výsledky velmi zkresleně vypovídající o fylogenetické příbuznosti (viz Cannon & Manos 2001). Toto pravidlo však platí stejně i pro analýzu molekulárních dat.

4. Metodika

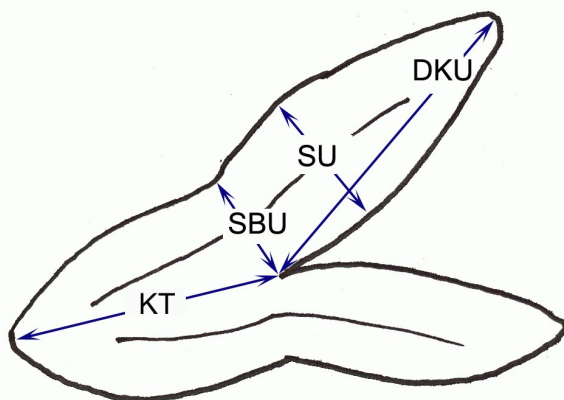
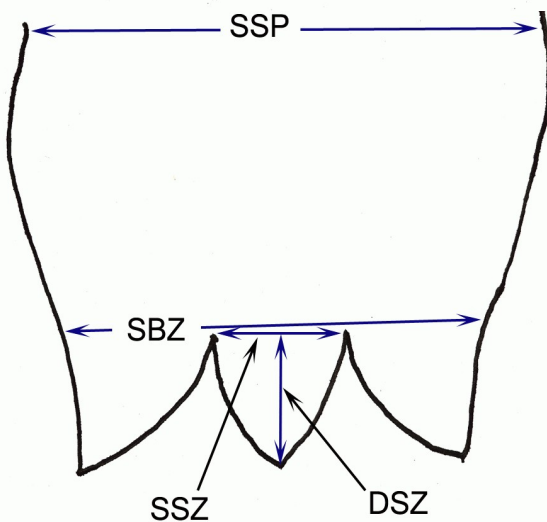
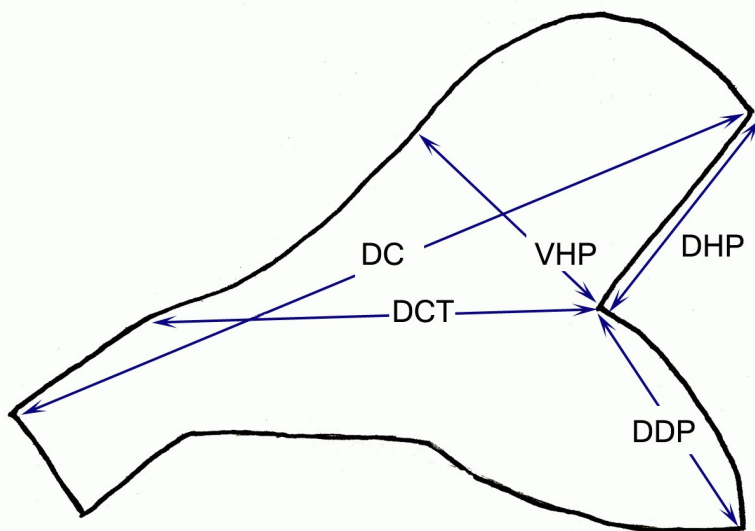
4.1 Materiál

Základní data byla získána zpracováním populačních vzorků *Melampyrum sylvaticum* agg. z 28 lokalit (tab. 2, obr. 4). Zkoumané lokality byly vybrány podle své geografické polohy tak, aby bylo možno podchytit jak morfologické rozdíly mezi populacemi v rámci většího geografického celku (pohoří), tak mezi jednotlivými pohořími. Toho bylo dosaženo zahrnutím sběrů z většího počtu lokalit v jednotlivých pohořích. Sběry probíhaly, pokud možno, ve velmi krátkém časovém úseku v průběhu sezóny, aby byl minimalizován vliv rozdílů velikostí květů v odlišných fenologických fázích a tedy odlišného postavení na rostlině.

Na každé lokalitě byl proveden výběr populačního vzorku 30 exemplářů, které byly poté zpracovány následujícím způsobem: Nejspodnější právě kvetoucí květ v květenství na hlavní lodyze na každé rostlině byl uložen do mikrozkuhavky s koncentrovaným roztokem denaturovaného lihu (koruna i kalich společně, ale odděleně). První a pátý listen byly pomocí průhledné lepicí pásky nalepeny do sešitu. Celá rostlina byla označena a zpracována jako standardní herbářová položka. Tyto položky jsou uloženy v soukromém herbáři autora. Konečný počet zpracovaných rostlin v jedné populaci je v některých případech poněkud nižší (většinou cca 26–28 rostlin), vinou zničení některých vzorků při skladování (otevření mikrozkuhavky apod.). Počet zničených vzorků by však neměl být natolik významný, aby mohl ovlivnit dosažené výsledky. V případě některých populací zpracovávaných v roce 2003, kdy sběry ještě neprobíhaly podle výše uvedené standardní metodiky, nebyl proveden úplný sběr vzorku a data o takových populacích pak nejsou kompletní.

Na každé rostlině byly změřeny morfologické znaky. Způsoby měření znaků a jejich seznam shrnují obr. 3 a tab. 1. Kromě znaků uvedených v tabulce byla provedena digitalizace tvaru nejspodnějších listenů na plošném skeneru (rozlišení 300 dpi). Z digitalizovaných tvarů listenů byly následně spočteny eliptické Fourierovy funkce (Kuhl & Giardina 1982) pomocí softwarového balíčku SHAPE ver. 1.2 (Iwata & Ukai 2002). Parametry těchto funkcí, tzv. harmonické složky, definované každá 4 koeficienty (2 pro symetrickou složku variability, 2 pro nesymetrickou složku), byly následně standardizovány hodnotou první eliptické harmonické složky. Tím byly odfiltrovány rozdíly ve tvaru způsobených odlišnou orientací, velikostí listenů a nestejnou polohou počátečního bodu pro eliptickou Fourierovu funkci na obrysu. U prvních 20 harmonických složek (každá následující složka popisuje tvar v menším měřítku než předchozí složka a vypovídá tedy o podrobnějších detailech tvaru) byly vybrány ty koeficienty, které odpovídají symetrické složce tvaru (koeficienty **a** a **d**). Ty byly následně využity jako vstupní data analýz.

Kromě terénních sběrů byly ke studiu využity i herbářové položky z herbářů PRC, PR, BRNM a BRNU. Ty sloužily hlavně k vyhledání vhodných lokalit *Melampyrum sylvaticum* agg., kde byly následně provedeny vlastní sběry populačních vzorků.

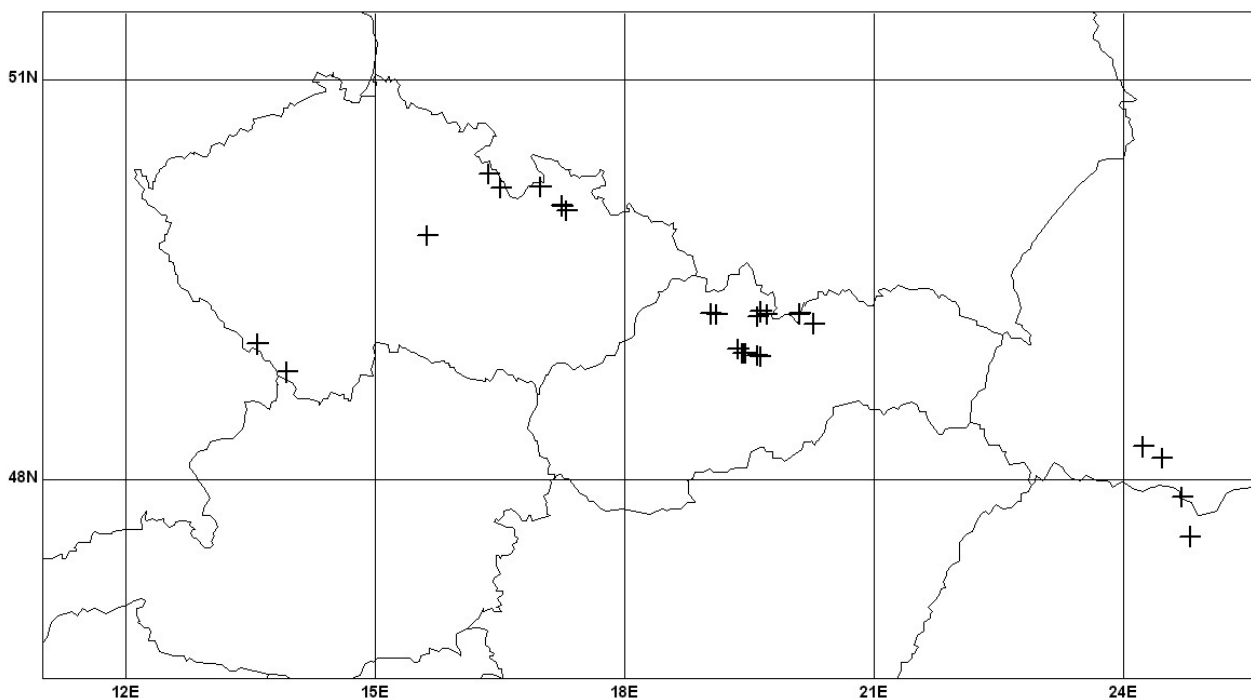


Obr. 3: Měřené rozměry na koruně (vlevo nahoře), na spodním pysku koruny (vlevo uprostřed), na kalichu (vlevo dole) a na listenu (vpravo nahoře).

Všechny rozměry na koruně byly měřeny posuvným měřítkem (přesnost 0,1 mm). Výjimkou jsou znaky DSZ a SSZ, které byly měřeny pomocí binokulární lupy s okulárovým měřítkem (přesnost 0,05 mm). Rozměry kalicha byly měřeny pomocí binokulární lupy. Rozměry listenu byly měřeny pomocí pravítka (přesnost 1 mm). Délka prašníku (na obrázku neuvedena) byla měřena pomocí binokulární lupy.

jméno znaku	popis
DPR	délka prašníku
DC	délka koruny
DCT	délka korunní trubky
VHP	výška horního korunního pysku
DHP	délka horního korunního pysku
DDP	délka spodního korunního pysku
SSP	šířka spodního korunního pysku
SBZ	šířka spodního korunního pysku na bázi zubů
SSZ	šířka středního zubu na spodním korunním pysku
DSZ	délka středního zubu na spodním korunním pysku
KT	délka kališní trubky
DKU*	délka horního kališního uštu
SU	šířka horního kališního uštu
SBU*	šířka horního kališního uštu na jeho bázi
D1	délka nejspodnějšího listenu
S1	šířka nejspodnějšího listenu
V1	vzdálenost nejširšího místa nejspodnějšího listenu od jeho báze
$V1/S1$	<i>poměr vzdálenosti nejširšího místa od báze a šířky nejspodnějšího listenu</i>
$D1/S1$	<i>poměr délky a šířky nejspodnějšího listenu</i>

tab.1: Celkový přehled znaků měřených na sbíraných rostlinách. Kurzívou jsou označeny odvozené poměrové znaky. Hvězdičkou označené znaky (DKU, SBU) byly na větším počtu populačních vzorků změřeny chybně (či vůbec) a nemohly být proto využity ve většině analýz.



obr. 4: Poloha lokalit *Melampyrum sylvaticum* agg. využitých ke sběru populačních vzorků.

číslo	stát	oblast	lokality	severní zeměpisná šířka	východní zeměpisná délka	nadmořská výška (m n. m.)	datum	počet rostlin
1	Česká rep.	Šumava	Ovesná: les v okolí železniční zastávky	48°48'26"	13°56'21"	739	10.7.2004	30
2	Česká rep.	Šumava	Kvilda: pahrbek v údolí potoka V obce	49°01'04"	13°35'02"	1043	11.7.2004	30
3	Slovensko	Malá Fatra	Severní úbočí Velkého Rozsutce	49°14'20"	19°06'20"	1384	22.6.2004	30
4	Slovensko	Malá Fatra	Terchová: SV úbočí masivu Sokolie	49°14'42"	19°02'11"	696	23.6.2004	30
5	Slovensko	Nízké Tatry	Trangoška: okraj cesty na Štefánikovu chatu	48°55'34"	19°37'58"	1377	25.6.2004	30
6	Slovensko	Nízké Tatry	Trangoška: J úbočí Chopku nad hotelem Kosodrevina	48°55'57"	19°35'28"	1526	26.6.2004	30
7	Slovensko	Nízké Tatry	Magurka: Městská hora V obce	48°56'51"	19°27'06"	1505	28.6.2004	29
8	Slovensko	Nízké Tatry	Magurka: Z úbočí hřebene V obce	48°56'46"	19°26'23"	1175	28.6.2004	25
9	Slovensko	Nízké Tatry	Magurka: samota Kapustisko pod obcí	48°56'50"	19°25'09"	962	29.6.2004	25
10	Slovensko	Nízké Tatry	Lužná: kopec Salatín nad obcí	48°58'53"	19°21'47"	1616	30.6.2004	30
11	Slovensko	Západní Tatry	Huty: východisko červené turistické stezky na Sivý vrch V obce	49°13'24"	19°35'59"	930	1.7.2004	30
12	Slovensko	Západní Tatry	Zuberec: okolí chaty Zverovka 4,5 km V obce	49°14'33"	19°42'36"	985	3.7.2004	28
13	Slovensko	Západní Tatry	Zuberec: okraj silnice na chatu Zverovka, cca 1 km V obce	49°15'37"	19°38'10"	818	3.7.2004	30
14	Slovensko	Vysoké Tatry	Lysá Poľana: lesík u turistického přístřešku na modré značce cca 2 km J obce	49°14'53"	20°06'07"	991	4.8.2004	28
15	Slovensko	Vysoké Tatry	Lysá Poľana: loučka u modré turistické značky S od hájovny cca 3 km J obce	49°14'27"	20°06'05"	1003	6.7.2004	30
16	Slovensko	Vysoké Tatry	Tatranská Lomnica: les na severním okraji obce	49°10'11"	20°16'31"	911	6.7.2004	26
17	Česká rep.	Hrubý Jeseník	Karlov: lesík na pravém břehu Moravice u silnice v J části obce	50°01'12"	17°18'12"	670	7.7.2004	21
18	Česká rep.	Hrubý Jeseník	Karlov: Velká kotlina: okraj cesty cca 300 m pod rozcestníkem na dně Velkého Kotle	50°03'10"	17°14'52"	1110	7.7.2004	29
19	Česká rep.	Hrubý Jeseník	Karlov: Velká kotlina: okraj stezky nad Velkým kotletem na V úbočí Vysoké Hole	50°03'31"	17°14'30"	1292	7.7.2004	30
20*	Česká rep.	Rychlebské hory	Velké Vrbno: okraj lesa cca 0,5 km Z nad obcí	50°11'56"	16°59'09"	842	6.6.2003	37
21*	Česká rep.	Orlické hory	Deštné v Orlických h.: okraj lesa mezi sjezdovkami na S svahu J obce	50°17'49"	16°21'59"	731	7.7.2003	37
22*	Česká rep.	Orlické hory	Hanička (nad Rokytnicí v O. h.): okraj lesa u cesty směr pevnost Hanička cca 100 m za posledním domem samoty	50°11'22"	16°30'38"	750	7.7.2003	37
23	Česká rep.	Železné hory	Seč: okraj lesní cesty u křižovatky na nejvyšším bodě silnice Seč - Běstvína	49°49'48"	15°37'38"	514	9.7.2004	30
24	Ukrajina	Hoverla	Lazeščina: sedlo mezi horami Hoverla a Pietros 12 km J obce	48°09'37"	24°27'50"	1570	11.7.2003	21
25	Ukrajina	Svidovec	Jasiňa: alpské louky na SV svazích hory Bliznica cca 1,75 km S vrcholu	48°14'25"	24°14'24"	1410	12.7.2003	30
26*	Ukrajina	Svidovec	Jasiňa: u spodních stanic lyžařských vleků nad "turbazou" 8 km Z obce	48°14'50"	24°14'11"	1376	12.7.2003	30
27	Ukrajina	Čivčinské hory	Čivčin: S úbočí hory	47°52'09"	24°42'08"	1639	9.7.2004	26
28	Rumunsko	Munții Rodnei	Statiunea Borsa: severní svah pod hřebem Munții Rodnei asi 6 km J obce	47°34'15"	24°48'00"	1848	12.8.2004	30

tab. 2: Seznam lokalit populačních vzorků *Melampyrum sylvaticum* agg. Hvězdičkou jsou označeny lokality, kde nebyl proveden sběr kompletních rostlin a některé údaje o rostlinách proto chybí (většinou tvar listů).

oblast	lokality	datum prvního sběru	datum druhého sběru	počet rostlin v prvním sběru	počet rostlin využitelných pro párová porovnání
Šumava	Ovesná: les v okolí železniční zastávky	2.6.2003	15.7.2003	33	16
Rychlebské hory	Velké Vrbno: okraj lesa cca 0,5 km Z nad obcí	6.6.2003	17.7.2003	37	7
Orlické hory	Deštné v Orlických h.: okraj lesa mezi sjezdovkami na S svahu J obce	7.6.2003	17.7.2003	37	8
Orlické hory	Hanička (nad Rokytnicí v O. h.): okraj lesa u cesty směr pevnost Hanička cca 100 m za posledním domem samoty	7.6.2003	17.7.2003	38	6

tab. 3: Populace využitá ke sledování změn v morfologické variabilitě v průběhu vegetační sezóny.

4.2 Změny morfologie květu v rámci jedné rostliny v průběhu vegetační sezóny

Za účelem zachycení změn rozměrů koruny a délky prašníků (tj. znaků tradičně používaných k rozlišení druhů, např. Jasiewicz 1958), ke kterým může docházet v průběhu vegetační sezóny, byl proveden opakovaný odběr květů na jedné rostlině. Ten probíhal v roce 2003 na čtyřech lokalitách: Ovesná (Šumava), Deštné v Orł. h. a Hanička (Orlické hory) a Velké Vrbno (Rychlebské hory), viz tab. 3. Při prvním odběru začátkem června byl každé rostlině odebrán květ a zároveň byla označena kroužkem z izolační pásky, aby bylo možné ji identifikovat i při druhém odběru v polovině července. Rostlinám přeživším do druhého odběru byl rovněž odebrán květ a celá rostlina byla zpracována jako standardní herbářová položka.

4.3 Ekologická variabilita

Změny fenotypu rostlin ovlivněné podmínkami prostředí byly zatím sledovány pouze za účelem vyzkoušení metodiky a otestování, zda je vůbec možné nějaké výraznější rozdíly zachytit. K jejich studiu byla využita rozsáhlá populace v Bielovodské dolině jižně od obce Lysá Pořana ve Vysokých Tatrách, kde byly provedeny dva sběry rostlin vyskytujících se v odlišných ekologických podmínkách (smrkový les, louka). Za předpokladu minimálních genetických rozdílů mezi rostlinami pocházejícími ze dvou velmi blízkých subpopulací, lze přičíst zjištěné morfologické rozdíly na vrub ekologické variability.

Cenná data o fenotypové plasticitě mělo přinést i experimentální pěstování rostlin, jejichž semena pocházejí z různých lokalit ve srovnatelných ekologických podmínkách. Tyto pokusy však (kromě jediného, který bude probrán v diskusi) končily doposud naprostým neúspěchem.

4.4 Sezónní variabilita

Zákonitosti týkající se sezónní variability byly zkoumány pomocí sběru vzorků na výškovém gradientu. Ke studiu sezónních vlastností rostlin byly vybrány populace z šesti regionů: Šumava, Malá Fatra, Hrubý Jeseník, Nízké Tatry, Vysoké a Západní Tatry. Kromě Vysokých a Západních Tater zahrnují vzorky z těchto regionů vždy populace z velmi rozdílných nadmořských výšek. Cílem bylo provést podobnou analýzu jako provedl Štech (1998) na populacích z Alp, Krkonoš a Velké Fatry, tentokrát však s větším počtem opakování v rámci Západních Karpat a Sudet, případně zjistit, zda existují rozdíly v sezónních znacích i mezi regiony, a výsledky této analýzy následně použít k zachycení korelací mezi sezónními znaky a morfologií listenů a květů.

Jako charakteristické znaky definující „sezónnost“ populace byly použity počet lodyžních článků (tj. počet článků mezi děložním nodem a nodem nesoucím první květ) a počet interkalárních článků (tj. počet článků mezi nodem nesoucí nejsvrchnější větev a nodem nesoucím nejspodnější květ). Za nodus nesoucí větev se v tomto případě považuje i nodus, v paždí jehož listů najdeme větev značně redukovanou, ta však nesmí být abortována zcela – v takovém případě je nodus považován za interkalární.

4.5 Statistické zpracování dat

Morfologické znaky využívané ve statistických analýzách je nutno rozdělit do dvou skupin. První tvoří sezónní znaky, tj. počet lodyžních a interkalárních článků, které patří mezi diskrétní proměnné

s Poissonovou distribucí. Tento typ distribuce je charakterizován pozitivní šikmostí (zejm. v případě nízkých hodnot) a rovností hodnot variance a průměru (Lepš 1996). Vzhledem k tomu, že distribuci těchto proměnných lze stěží aproximovat normálním rozdělením, byly ve všech analýzách sezónních znaků použity zobecněné lineární modely (GLM) pro Poissonovu distribuci v kombinaci s logaritmickou link funkcí (Lepš & Šmilauer 2003). Druhou skupinu tvoří rozměry měřené na květních částech a listenu. Zjištěný (vizuálním vyhodnocením histogramů) charakter jejich distribuce velmi dobře odpovídá normálnímu rozdělení, mohly tak být analyzovány pomocí obecných lineárních modelů, v mnohorozměrných analýzách nebyla aplikována transformace dat.

K vyhodnocení změn rozměrů v průběhu sezóny sloužil t-test pro párová pozorování, počítaný zvlášť pro rostliny z jednotlivých lokalit. Na výsledky byla následně aplikována Bonferroniho korekce (Legendre & Legendre 1998), za účelem kontroly pravděpodobnosti chyby 1. druhu při provádění více testů. Pro testování změn v rozměrech na všech lokalitách dohromady byl využit zobecněný lineární model, jehož závislou proměnnou byl rozdíl mezi délkami rozměrů na jednotlivých rostlinách a jako vysvětlující proměnná sloužila lokalita. Testována byla hodnota *interceptu*, tj. zda je rozdíl v délce při prvním a druhém odběru odlišný od nuly.

Pro testování rozdílů v sezónních znacích mezi populacemi v rámci regionu ve vztahu k nadmořské výšce sloužila analýza deviance (GLM obdoba analýzy variance). Hlavním cílem tohoto postupu bylo zjistit, zda se od sebe populace liší, nikoliv modelovat vztah počtu lodyžních článků k nadmořské výšce.

Celková závislost počtu článků na nadmořské výšce byla modelována opět pomocí GLM. Testování modelu nemohlo být provedeno přímo, neboť jednotlivá pozorování nejsou nezávislá (rozdíl mezi rostlinami ze stejné lokality je jiný než rozdíl mezi rostlinami z různých lokalit) a v podstatě by šlo o testování pseudoreplikací. Byl proto využit postup obdobný testování rozdílů na vyšších úrovních v hierarchické analýze variance. Byl vytvořen GLM model popisující rozdíly v počtu článků v závislosti na nadmořské výšce, jako další proměnná (kategoriální) byl použit identifikátor populace. F-statistika byla vypočítána jako poměr *mean square* odpovídajícího vlivu nadmořské výšky a *mean square* odpovídajícího rozdílu mezi lokalitami. Hladina významnosti byla určena jako pravděpodobnost chyby 1. druhu odpovídající příslušné hodnotě F-statistiky při 1 stupni volnosti modelu a počtu reziduálních stupňů volnosti rovnému počtu lokalit – 2 (tj. 17). Výpočty GLM a výsledný graf modelu byly zpracovány v programu R 2.01 (R Development Core Team 2004).

Rozklad variability morfologických znaků na vnitropopulační a mezipopulační úrovně byl proveden výpočtem odhadu variančních komponent v balíčku lme4 (Bates & Sarkar 2005) metodou *restricted maximum likelihood estimation* (REML) (Quinn & Keough 2002). Pro sezónní znaky byl tento odhad vypočten ze zobecněného lineárního modelu pro Poissonovu distribuci metodou *maximum likelihood estimation* (ML), protože metodu REML není možno (alespoň při použití výše uvedeného software) aplikovat na výpočet variančních komponent zobecněného lineárního modelu. Odhad variančních komponent pro mnohorozměrná data byl vypočten metodou *expected mean squares* (Quinn & Keough 2002).

K mnohorozměrné analýze znaků byly využity především analýza hlavních komponent (*principal component analysis*, PCA) a *redundancy analysis* (RDA). PCA byla využita pro analýzu

celkové variability znaků, zatímco pomocí RDA byla oddělena a následně analyzována pouze mezipopulační složka variability. Signifikance RDA os byla testována pomocí Monte-Carlo permutačního testu. Hodnoty všech naměřených znaků byly před vlastním zpracováním centrovány a standardizovány směrodatnou odchylkou, aby měly jednotlivé znaky v analýzách přidělenou stejnou váhu. Tento postup nebyl aplikován při analýze koeficientů eliptických Fourierových funkcí, protože by to znamenalo ztrátu informace o celkovém tvaru, neboť čím menších hodnot daný koeficient nabývá, tím menší detaily ve tvaru popisuje. Tato data byla pouze centrována. PCA i RDA byly prováděny v programu Canoco for Windows ver. 4.52 (ter Braak & Šmilauer 2002).

Morfologické rozdíly mezi populačními vzorky z Bielowodské doliny byly zjišťovány pomocí lineární diskriminační analýzy a přímé gradientové analýzy RDA v programu Canoco for Windows ver. 4.52 (ter Braak & Šmilauer 2002). Marginální i parciální efekty jednotlivých rozměrů byly testovány pomocí Monte-Carlo permutačního testu, na jehož výsledky byla aplikována Bonferroniho korekce (Legendre & Legendre 1998).

Pro základní statistické postupy (výpočet korelací, vytváření grafů) byl využit softwarový balík Statistica 6.0 for Windows (StatSoft Inc. 2001).

5. Výsledky

5.1 Změny morfologie květu v rámci jedné rostliny v průběhu vegetační sezóny

Srovnání opakovaných odběrů květů na jedné rostlině výrazně negativně ovlivnila vysoká mortalita označených rostlin v časovém intervalu mezi odběry. Výsledný počet rostlin, pro které jsou k dispozici data z obou odběrů tak značně poklesl a počet pozorování je na samé hranici statistické zpracovatelnosti.

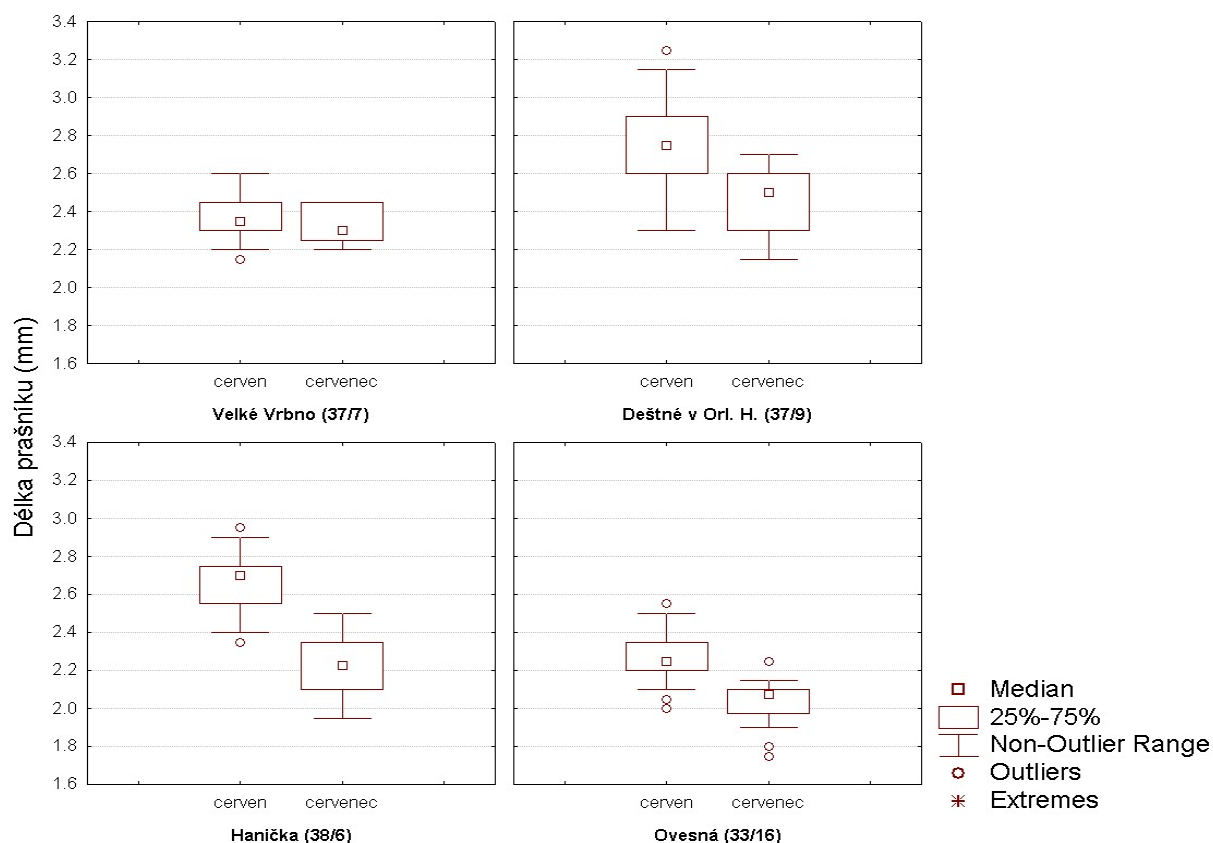
Variabilita v délkách prašníků a koruny na květech odebíraných v různých obdobích vegetační sezóny je znázorněna na obr. 5 a 6. Z grafů je patrné, že květy kvetoucí později se vyznačují kratšími prašníky i korunami. Výsledky párových t-testů, které testují rozdíly v délkách rozměrů v rámci jedné rostliny, shrnuje tabulka 4. Rozdíly mezi květy odebranými na téže lokalitě v červnu a v červenci ve sledovaných rozměrech jsou většinou vysoce průkazné. Jedinými výjimkami jsou délky prašníků na lokalitě Velké Vrbno, kde byl zachycen minimální rozdíl, a dále délka koruny na lokalitě Hanička. V druhém případě je však nutno poznamenat, že se zjištěná odchylka pohybuje na hranici průkaznosti.

Délka prašníku					
lokality	počet rostlin	df	t	p	Bonferroni p
Ovesná	16	15	9,58	< 10⁻⁶	< 10⁻⁶
Hanička	6	5	8,00	0,0005	0,002
Deštné v O. h.	8	7	5,61	0,0008	0,0032
Velké Vrbno	7	6	-0,275	0,793	1

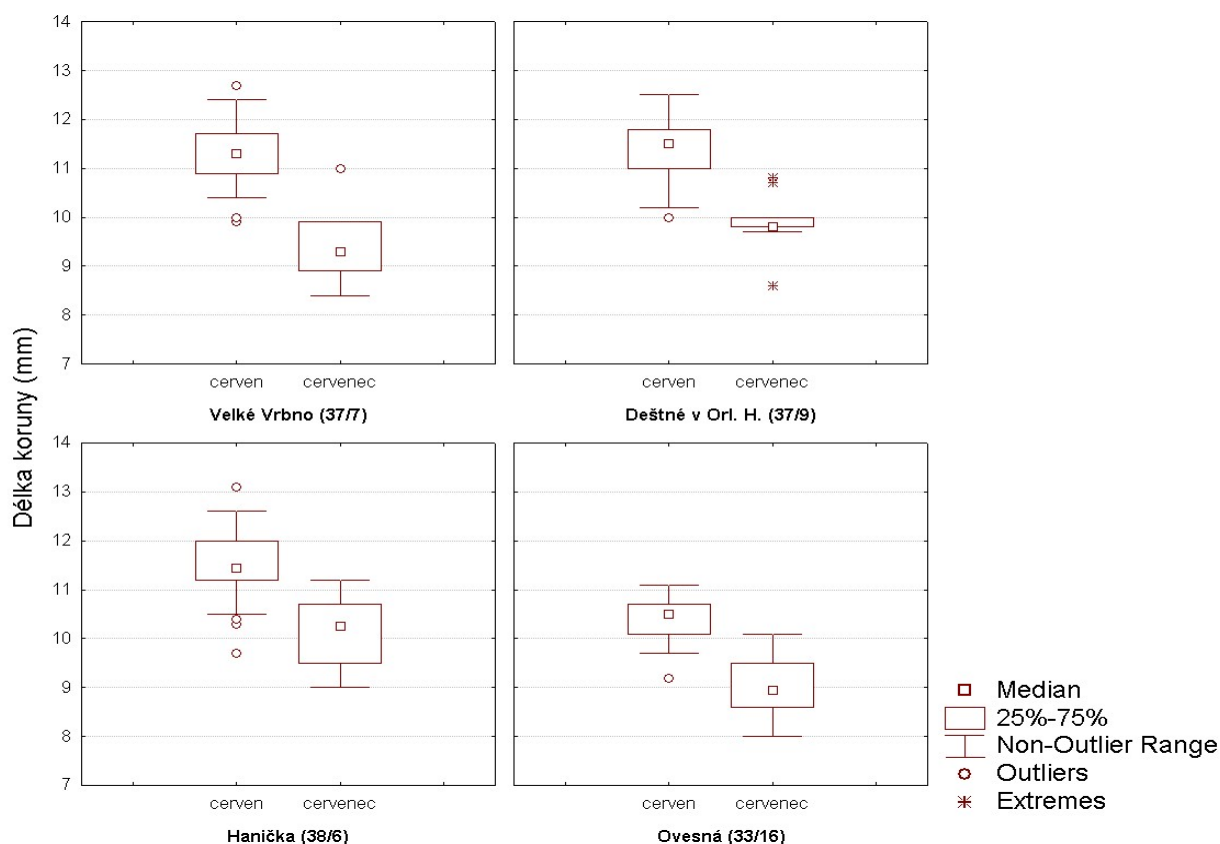
Délka koruny					
lokality	počet rostlin	df	t	p	Bonferroni p
Ovesná	16	15	8,69	< 10⁻⁶	< 10⁻⁵
<i>Hanička</i>	6	5	3,08	0,028	0,112
Deštné v O. h.	8	7	4,61	0,0025	0,01
Velké Vrbno	7	6	3,79	0,0091	0,036

Celkové rozdíly				
znak	počet rostlin	df	t	p
Délka prašníku	37	34	6,736	< 10⁻⁶
Délka koruny	37	34	4,891	< 10⁻⁴

tab. 4: Výsledky párových t-testů zachycující rozdíly v délce zkoumaných rozměrů mezi květy odebíranými v červnu a v červenci na různých lokalitách a výsledky testu rozdílnosti *interceptu* od nuly pro obecný lineární model závislosti rozdílů délek rozměrů na lokalitě. Tučně jsou znázorněny průkazné výsledky testů na hladině významnosti 0,05 po aplikaci Bonferroniho korekce zvláště na testy pro každý rozměr (dosažené hladiny významnosti jsou tedy násobeny čtyřmi), na testy celkových rozdílů nebyla Bonferroniho korekce aplikována. Kurzívou jsou zvýrazněny výsledky testů dosahujících dané hladiny významnosti jen před aplikací Bonferroniho korekce.



obr. 5: Variabilita v délkách prašníků na květech odebraných v červnu a v červenci u rostlin z jednotlivých lokalit. V závorce za jménem lokality je uvedena velikost vzorku sběrů v červnu a v červenci.



obr. 6: Variabilita v délkách korun na květech odebraných v červnu a v červenci u rostlin z jednotlivých lokalit. V závorce za jménem lokality je uvedena velikost vzorku sběrů v červnu a v červenci.

5.2 Ekologická variabilita – populace v Bielovodské dolině J od Lysé Pořany

Podíly jednotlivých znaků na variabilitě mezi populacemi a testy signifikance rozdílů získané pomocí diskriminační analýzy shrnuje tab. 5.

marginální efekty

rozměr	F	p	% vysvětlivé variability
D1	12,72	< 0,021	19,4
DDP	12,47	< 0,042	19,0
S1	11,55	< 0,021	17,9
SBU	8,93	< 0,021	14,5
SU	6,73	< 0,042	11,3

parciální efekty (*forward selection*)

rozměr	F	p	% vysvětlivé variability
D1	12,72	< 0,021	19,4
DDP	11,75	< 0,042	14,9

tab. 5 : Shrnutí výsledků kanonické diskriminační analýzy znázorňující rozdíly mezi subpopulacemi v Bielovodské dolině. Uvedena je pravděpodobnost chyby 1. druhu (p) po aplikaci Bonferroniho korekce. Uvedeny jsou pouze znaky s $p < 0,05$, další znaky tuto hodnotu výrazně přesahují.

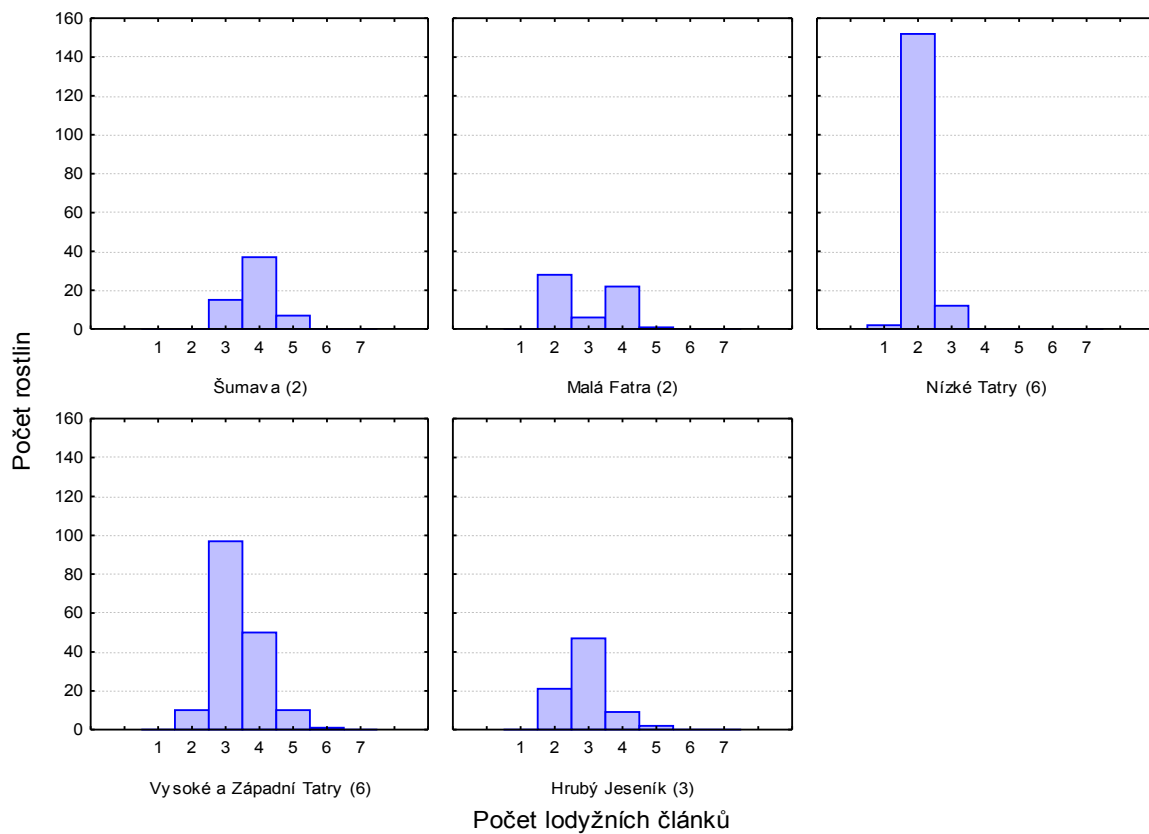
Výsledkem RDA koeficientů eliptických Fourierových funkcí je velmi slabé rozdělení obou subpopulací na základě relativních rozměrů listů. Jediná kanonická osa vysvětluje pouze 4,7% celkové variability, Monte Carlo permutační test pro tuto osu je neprůkazný ($F = 2,75$, $p = 0,061$).

5.3 Sezónní variabilita

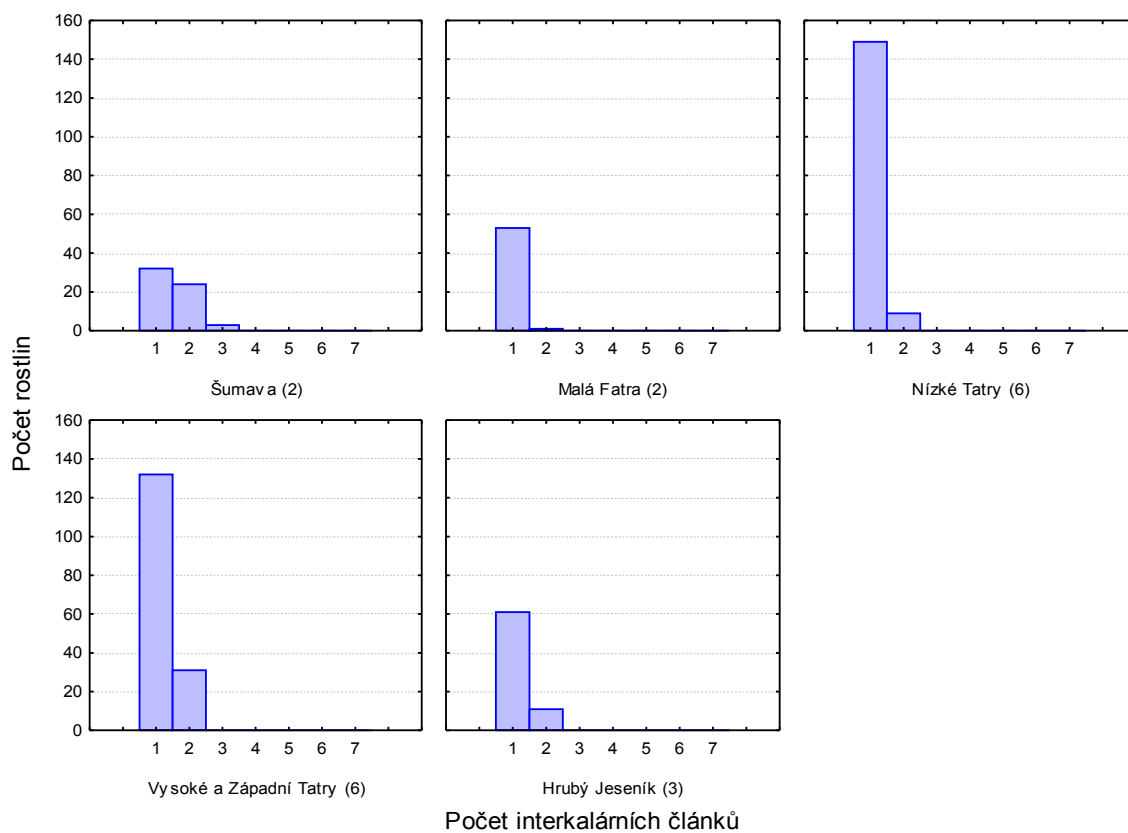
Ve všech analýzách sezónní variability jsou zahrnuty pouze regiony, kde byla sbírána více než jedna populace a pro které jsou k dispozici počty lodyžních a interkalárních článků.

Obrázek 7 znázorňuje variabilitu v počtu lodyžních článků v jednotlivých regionech a rozdíly mezi nimi. Populace z Vysokých Tater jsou svými morfologickými vlastnostmi dosti blízké rostlinám ze Západních Tater, proto jsou analyzovány společně. Rostliny z Malé Fatry, Hrubého Jeseníku a Vysokých a Západních Tater pokrývají v podstatě celé zjištěné spektrum stavů tohoto znaku. V těchto regionech se nacházejí jak časně rostliny se 2 lodyžními články, tak pozdní rostliny se 4–5(–6) články. Ve Vysokých a Západních Tatrách a Hrubém Jeseníku najdeme i rostliny s 3 lodyžními články, které na Malé Fatře takřka nebyly zaznamenány. Šumavské populace se vyznačují absencí časných rostlin se 2 články, zatímco v Nízkých Tatrách kompletně převažují časně rostliny se 2 lodyžními články, rostliny se 3 články jsou zde spíše výjimkou.

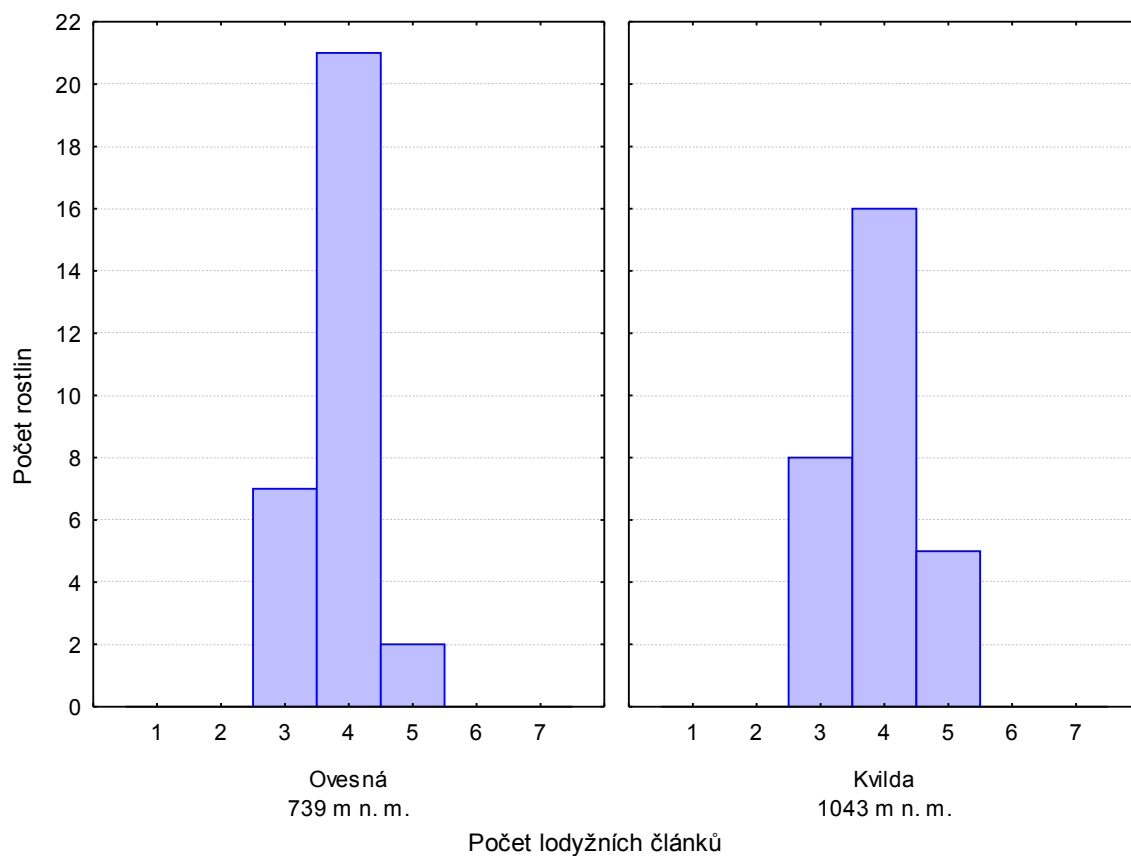
Z grafu zobrazujícího počty interkalárních článků (obr. 8) je patrné, že zdaleka nejhojnější jsou ve všech regionech rostliny s 1 interkalárním článkem, spíše zřídka lze nalézt i rostliny se 2 články, rostliny se 3 články se vyskytují pouze velmi vzácně na Šumavě.



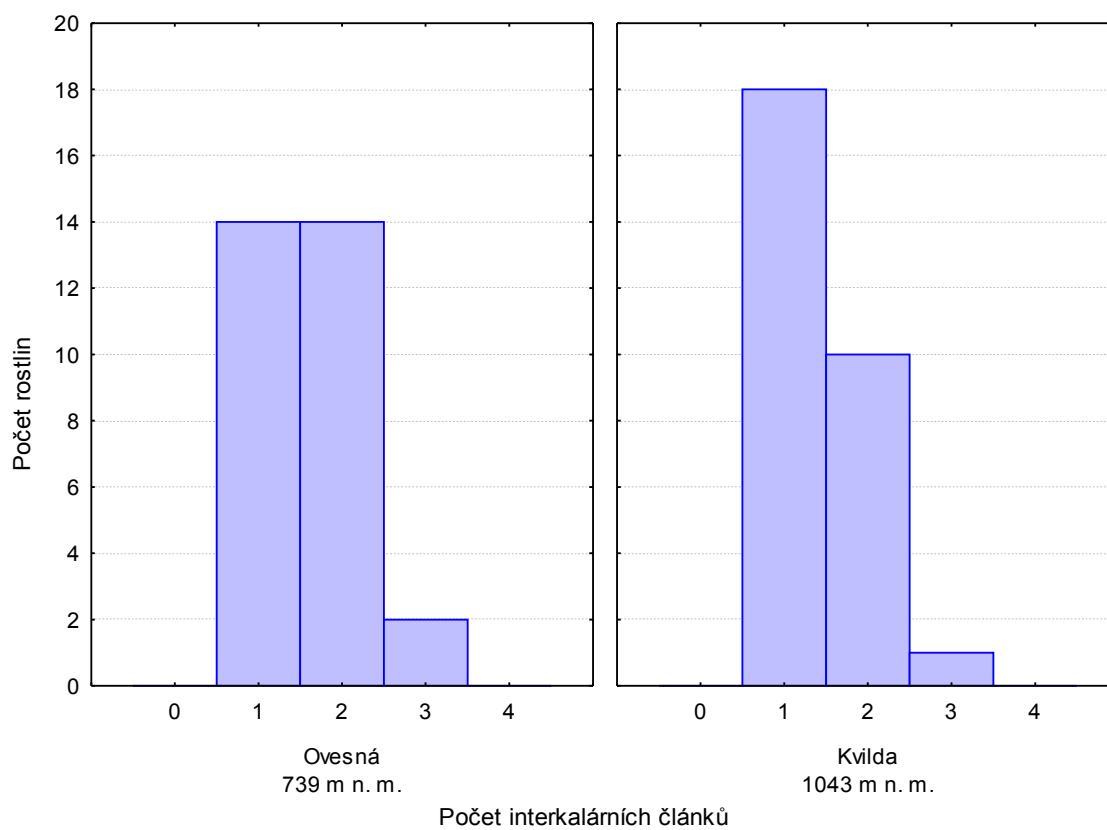
obr. 7: Variabilita počtu lodyžních článků mezi regiony a v rámci jednotlivých regionů. V závorce za jménem regionu jsou uvedeny počty populačních vzorků z daného regionu.



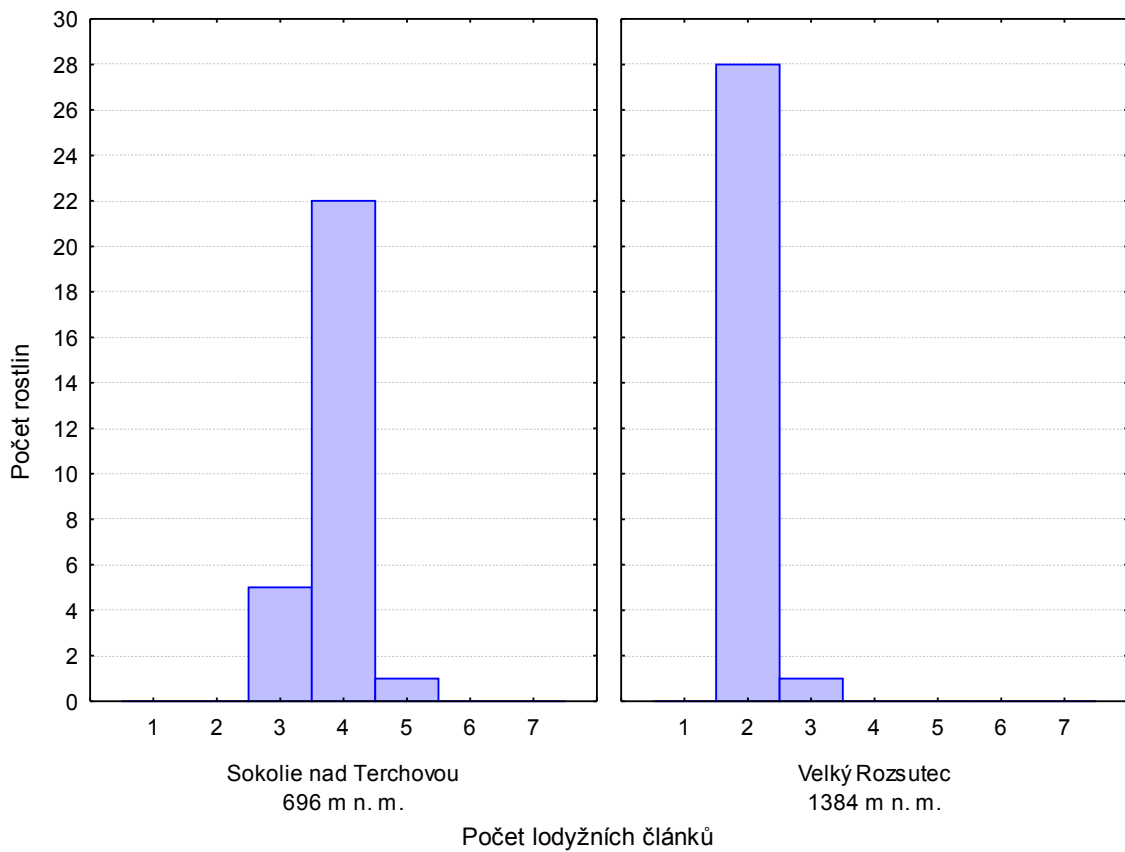
obr. 8: Variabilita počtu interkalárních článků mezi regiony a v rámci jednotlivých regionů. V závorce za jménem regionu jsou uvedeny počty populačních vzorků z daného regionu.



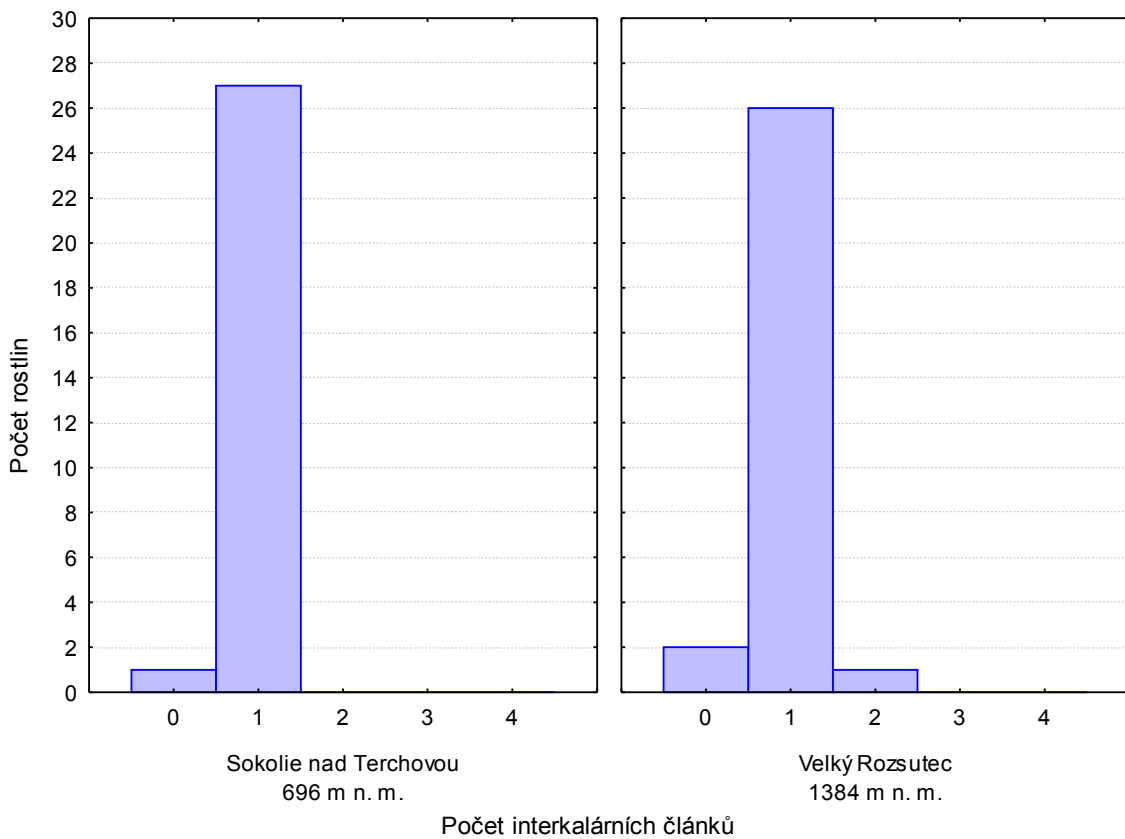
obr. 9: Počty lodyžních článků v Šumavských populacích.



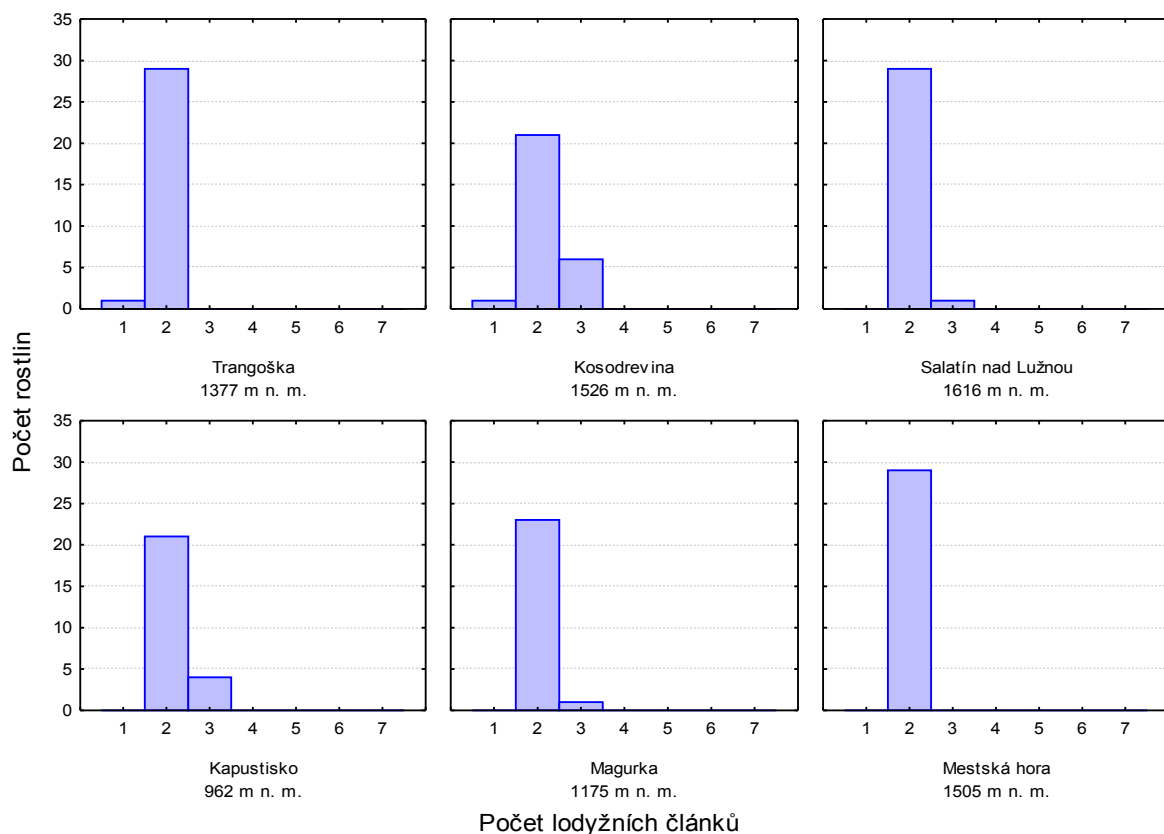
obr. 10: Počty interkalárních článků v Šumavských populacích.



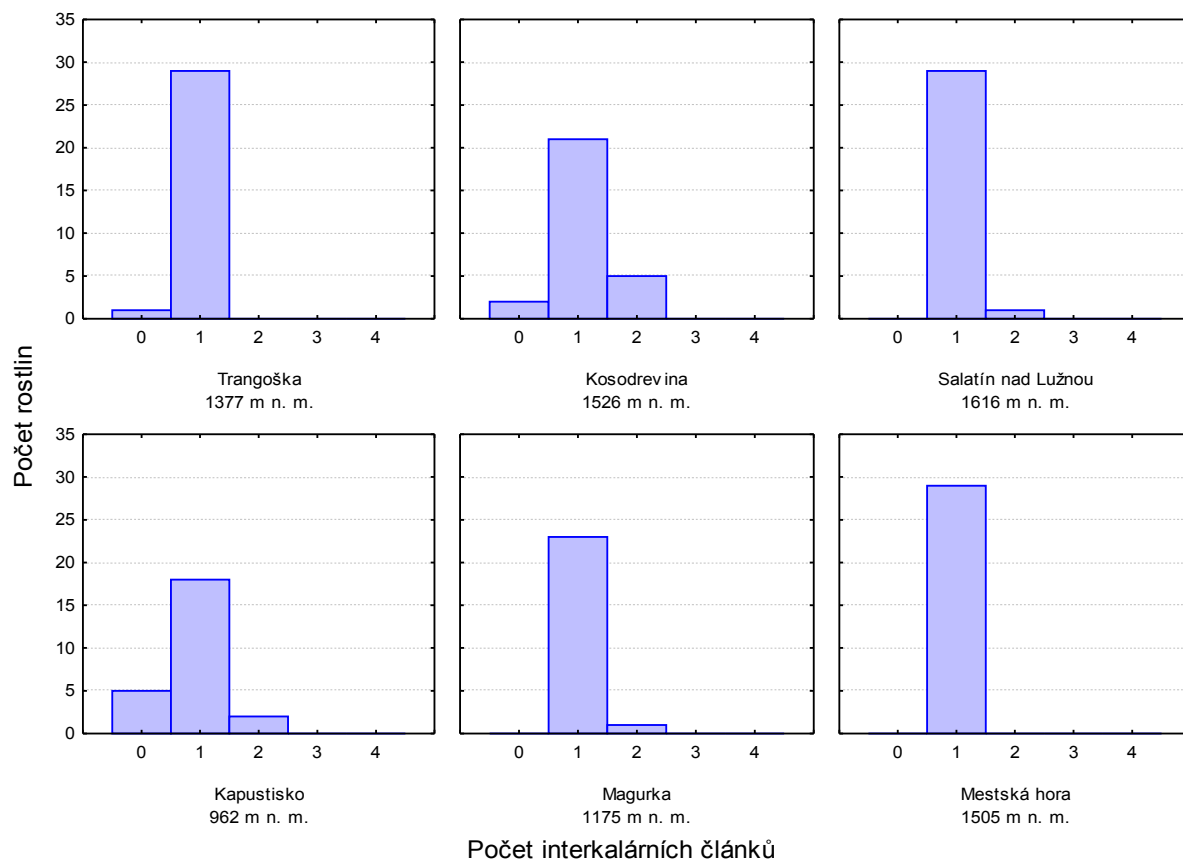
obr. 11: Počty lodyžních článků v populacích na Malé Fatře.



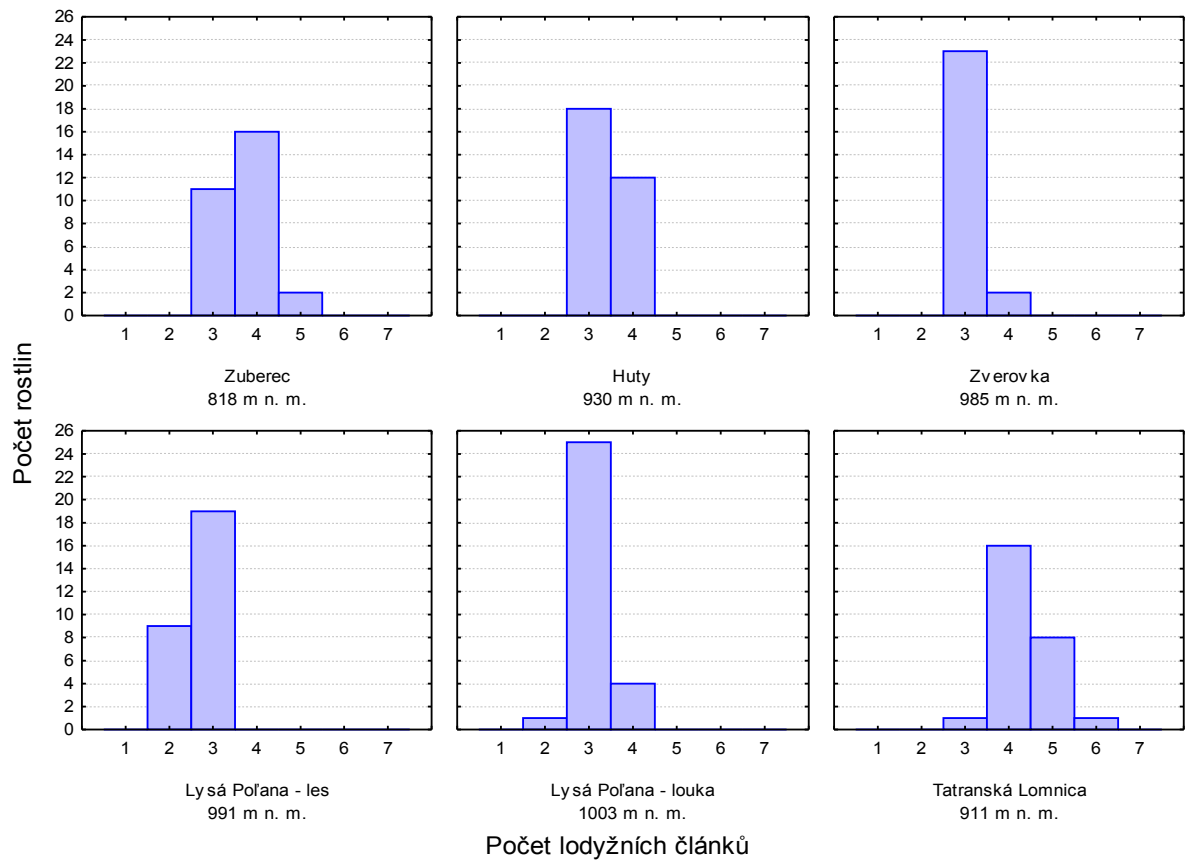
obr. 12: Počty interkalárních článků v populacích na Malé Fatře.



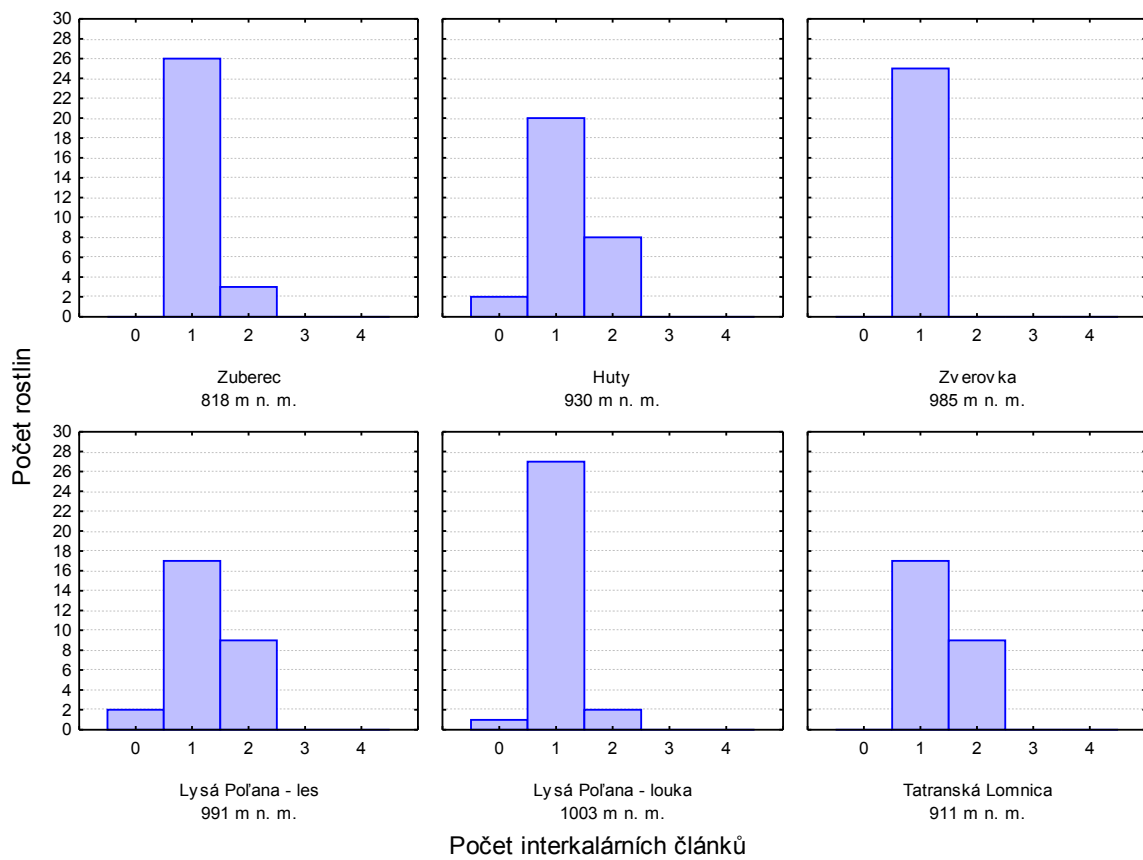
obr. 13: Počty lodyžních článků v populacích v Nízky Tatrách.



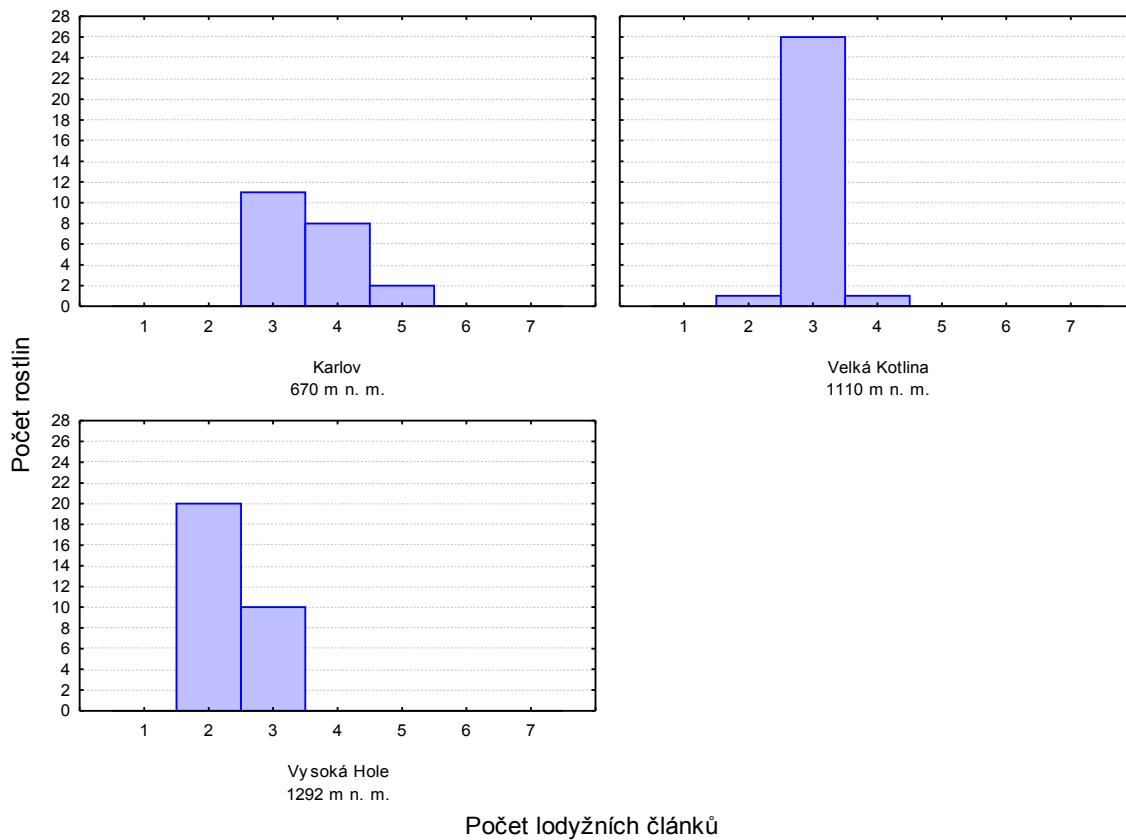
obr. 14: Počty interkalárních článků v populacích v Nízky Tatrách.



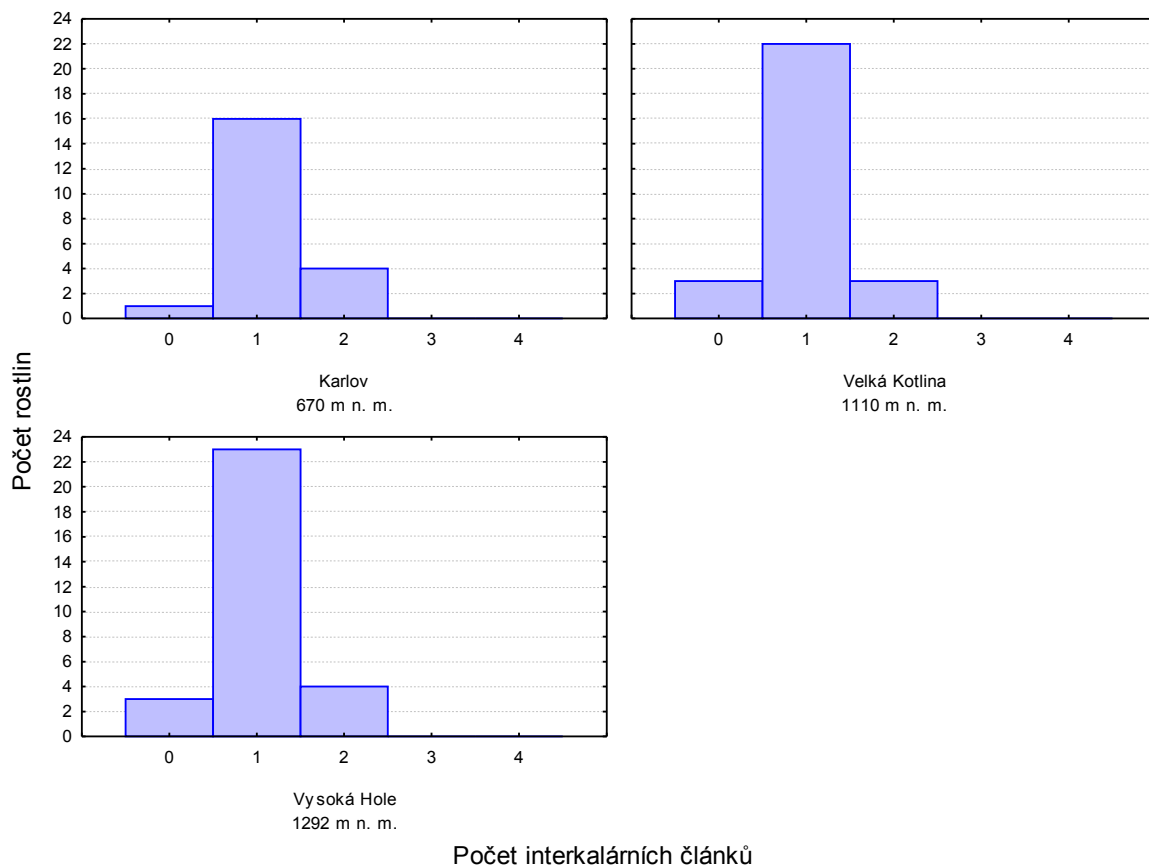
obr. 15: Počty lodyžních článků v populacích v Západních (1. řádek) a Vysokých Tatrách (2. řádek).



obr. 16: Počty interkalárních článků v populacích v Západních (1. řádek) a Vysokých Tatrách (2. řádek).



obr. 17: Počty lodyžních článků v populacích v Hrubém Jeseníku.



obr. 18: Počty interkalárních článků v populacích v Hrubém Jeseníku.

5.3.1. Šumava

Šumavské populace (obr. 9, 10) jsou z hlediska sezónní variability nápadně minimálním rozdílem v počtu lodyžních článků, ačkoliv se obě lokality dosti liší svojí nadmořskou výškou. Zřetelnější je rozdíl v počtu interkalárních článků. Poněkud pozdnější populace v Ovesné obsahuje vyšší podíl rostlin se 2 a 3 interkalárními články než populace z Kvildy, avšak ani tato odchylka není průkazná (viz tab. 6).

5.3.2. Malá Fatra

Na Malé Fatře (obr. 11, 12) byly sbírány pouze dva populační vzorky. Jejich sezónní vlastnosti jsou nápadně malou vnitropopulační variabilitou a minimálním vzájemným překryvem. Časná populace ze severního úbočí Velkého Rozsutce zahrnuje až na jednu výjimku pouze rostliny se 2 lodyžními články, v pozdní populaci ze skalního masivu Sokolie převažují rostliny se 4 články (podíl rostlin se 3 články je relativně nízký, jediná rostlina má 5 článků). Mezi populacemi nejsou žádné rozdíly v počtu interkalárních článků, i vnitropopulační variabilita v tomto znaku je zcela zanedbatelná.

5.3.3 Nízké Tatry

V západní části Nízkých Tater bylo sebráno celkem 6 populací (obr. 13, 14). Všechny se vyznačují relativně velkou uniformitou v sezónních znacích, mezipopulační variabilita je rozněž minimální. Ve studované čáti Nízkých Tater nebyly nalezeny žádné pozdní populace, ani jednotlivé rostliny a jen vzácně lze potkat rostliny se 3 lodyžními články.

5.3.4 Vysoké a Západní Tatry

Na populacích z Vysokých a Západních Tater (obr. 15, 16) je nejnápadnější absence čistě časně populace rostlin se 2 lodyžními články. V populacích od Lysé Poľany jsou tyto rostliny sice zastoupeny, jejich podíl je však menšinový.

Sezónní vlastnosti ostatních populací jsou si navzájem dosti podobné. Vzájemné rozdíly spočívají ve většině případů pouze v odlišných poměrech zastoupení rostlin se 3 a 4 (příp. 5) články.

5.3.5 Hrubý Jeseník

Na třech populačních vzorcích sbíraných v Hrubém Jeseníku (obr. 17, 18) je velmi dobře patrný trend ke snižování počtu lodyžních článků s rostoucí nadmořskou výškou. Populace ze spodní části Karlova zahrnuje rostliny se 3–4(–5) články. Vzorek ze dna Velké Kotliny potom obsahuje v podstatě pouze rostliny se 3 články a nakonec v populaci z hranice lesa na úbočí Vysoké Hole převažují rostliny se 2 články.

5.3.6 Vztahy sezónních znaků k nadmořské výšce

Výsledky zobecněných lineárních modelů popisujících vztahy počtu lodyžních a interkalárních článků s nadmořskou výškou (tab. 6) jasně ukazují, že jednotlivé znaky se svojí odpovědí na nadmořskou výšku značně liší. V žádném regionu nebyly zachyceny průkazné rozdíly v počtu interkalárních článků mezi populacemi ve vztahu k nadmořské výšce. Ani celkový model odpovědi tohoto znaku na nadmořskou výšku není průkazný, i když dosažená hladina významnosti hodnotu

0,05 příliš nepřevyšuje. S neprůkaznými výsledky testů souvisí i v tomto případě i nízké hodnoty vysvětlené variability.

Naopak rozdíly v počtu lodyžních článků ve vztahu k nadmořské výšce jsou silně průkazné v Malé Fatře, v dalších dvou regionech (Vysoké a Západní Tatry, Hrubý Jeseník) potom test rozdílů dosahuje hodnot na hranici průkaznosti (neprůkazné jsou pouze díky Bonferroniho korekci), přičemž vysvětlená variabilita se pohybuje v desítkách procent. Celkový model (obr. 19) závislosti počtu článků na nadmořské výšce je průkazný a vysvětluje přes 50% celkové variability tohoto znaku. Uvažujeme-li pouze mezipopulační variabilitu, pak tento model vysvětluje přes 70% variability.

Lodyžní články

region	počet populací	% vysvětlené variability	df1	df2	F	p	Bonferroni p
Šumava	2	0,3%	1	58	0,0152	0,902	1
Malá Fatra	2	89,7%	1	56	16,362	5,23*10⁻⁵	2,62*10⁻⁴
Nízké Tatry	6	0,7%	1	165	0,045	0,832	1
<i>Vysoké a Západní Tatry</i>	<i>6</i>	<i>26,7%</i>	<i>1</i>	<i>165</i>	<i>4,769</i>	<i>0,029</i>	<i>0,145</i>
<i>Hrubý Jeseník</i>	<i>3</i>	<i>46,9%</i>	<i>1</i>	<i>78</i>	<i>5,906</i>	<i>0,015</i>	<i>0,075</i>

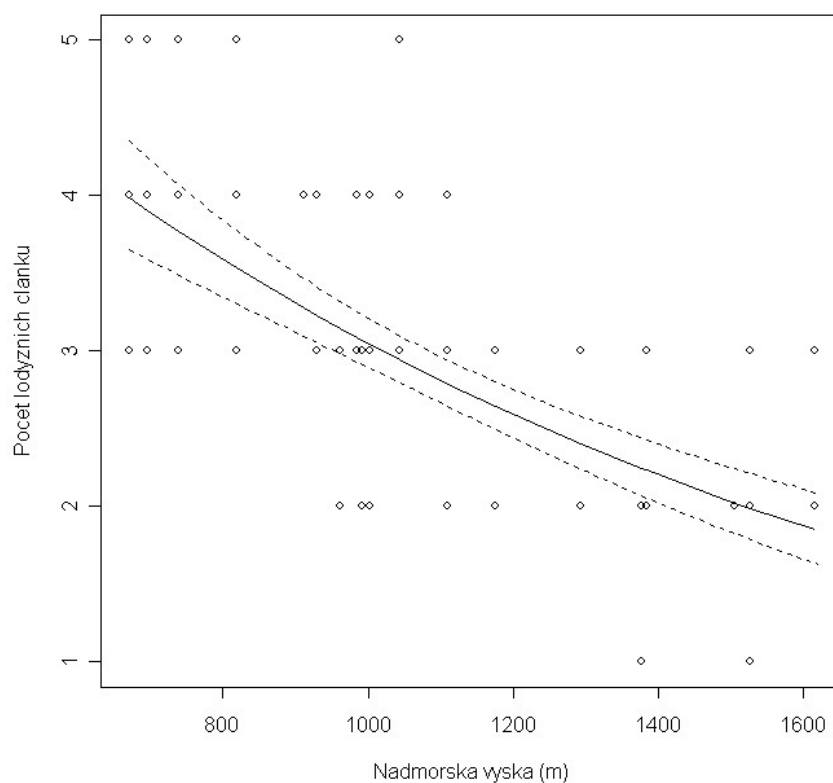
interkalární články

region	počet populací	% vysvětlené variability	df1	df2	F	p	Bonferroni p
Šumava	2	2,6%	1	58	0,339	0,560	1
Malá Fatra	2	3,34*10 ⁻⁴ %	1	56	2,24*10 ⁻⁵	0,996	1
Nízké Tatry	6	1,6%	1	165	0,372	0,542	1
Vysoké a Západní Tatry	6	0,2%	1	165	0,0643	0,226	1
Hrubý Jeseník	3	0,47%	1	78	0,092	0,762	1

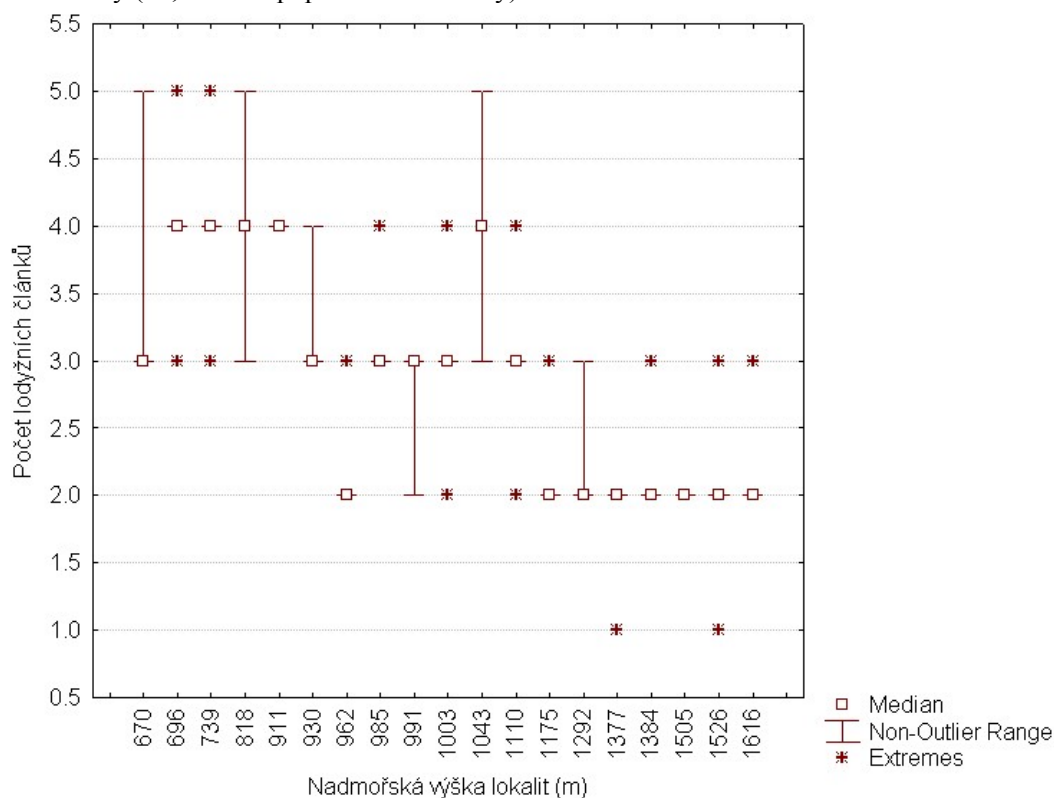
Celkové modely

znak	počet populací	% vysvětlené variability	df1	df2	F	p
lodyžní články	19	56,20%	1	17	42,017	6*10⁻⁶
<i>interkalární články</i>	<i>19</i>	<i>2,4%</i>	<i>1</i>	<i>17</i>	<i>3,482</i>	<i>0,0794</i>

tab. 6: Výsledky analýz deviance v modelech závislosti počtu lodyžních a interkalárních článků na nadmořské výšce. Bonferroniho korekce byla aplikována na každý znak zvlášť a nebyla aplikována na celkové modely. Tučně jsou zvýrazněny průkazné výsledky testů na hladině významnosti 0,05. Kurzívou jsou zvýrazněny výsledky blízké se této hladině významnosti (zejm. průkazné před aplikací Bonferroniho korekce). Počet stupňů volnosti modelu je uveden jako df1, počet reziduálních stupňů volnosti je uveden jako df2.



obr. 19: Závislost počtu lodyžních článků na nadmořské výšce. Grafem je proložena křivka zobecněného lineárního modelu, čárkovaně je zobrazen 95% konfidenční interval pro průměr. Model vysvětluje 56,2% celkové variability (71,2% mezipopulační variability).



obr. 20: Rozložení počtu lodyžních článků na lokalitách ve vztahu k jejich nadmořské výšce. Na ose x (není kartézská) jsou vyneseny jednotlivé lokality reprezentované svou nadmořskou výškou.

5.4 Celková analýza morfologických znaků

5.4.1 Rozložení variability znaků na hierarchické úrovně

Z rozkladu variability jednotlivých morfologických znaků i jejich skupin (tab. 7 a obr. 21) je patrná značná míra vnitropopulační variability, která dosahuje pro všechny znaky 49,6% celkové variability. Skupiny znaků se od sebe příliš neliší v rozložení variability na vnitropopulační a mezipopulační složku. Poněkud jiná je situace v případě jednotlivých znaků, kde se nejnižší vnitropopulační variabilitou vyznačuje délka prašníku, následovaná několika dalšími znaky měřenými na koruně (DDP, SBZ, DC, ...). Větší část mezipopulační variability v případě těchto znaků spočívá v rozdílech mezi regiony, a nikoliv v rozdílech mezi populacemi v rámci regionu. Vnitropopulační variabilita ostatních znaků i jejich skupin se povětšinou pohybuje okolo 50 %. Výrazné výjimky jsou pouze počet interkalárních článků a šířka nejspodnějšího listenu, jejichž vnitropopulační variabilita převyšuje 85 (resp. 70)% celkové variability.

5.4.2 Společná analýza všech měřených znaků

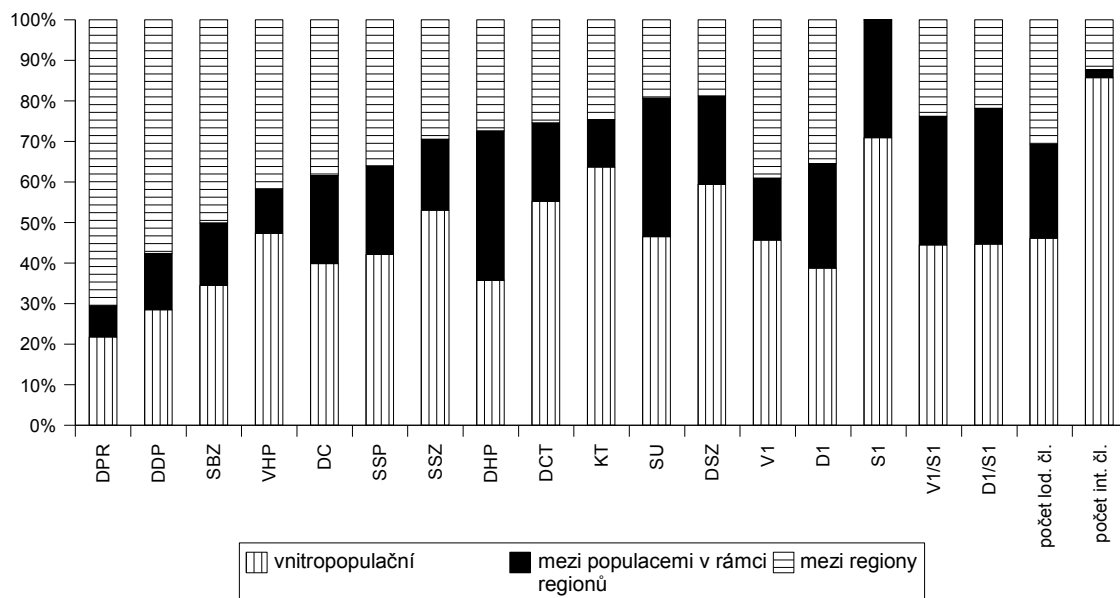
Do společné analýzy všech měřených znaků mohly být zahrnuty pouze rostliny, pro něž byly k dispozici hodnoty všech znaků, rostliny z regionů Rychlebské hory, Orlické hory a některé rostliny z Ukrajiny tak musely být vyřazeny.

Z výsledků analýzy hlavních komponent (PCA, obr. 23–26) je patrné rozdělení měřených znaků na dvě skupiny korelované s první resp. druhou ordinační osou. První skupina zahrnuje znaky měřené na květu a je korelována s první PCA osou, zatímco druhá skupina zahrnuje znaky měřené na listenech a je korelována s druhou PCA osou. Podobný obrázek poskytuje i diagram RDA, která zohledňuje pouze mezipopulační variabilitu. Dvě důležité odlišnosti oproti PCA představují negativní korelace mezi znaky měřenými na listenech a znaky měřenými na kalichu a zejména o něco vyšší korelace znaků měřených na listenech i s první ordinační osou.

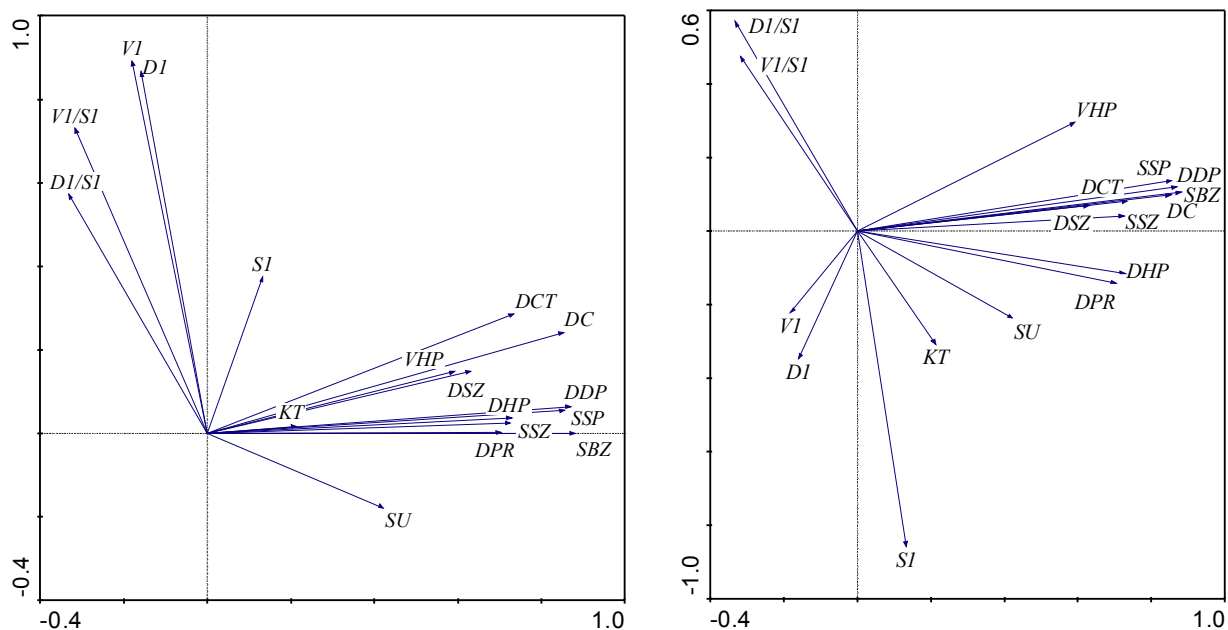
Na RDA diagramu je patrné, že jednotlivé skupiny znaků nejsou navzájem zcela nezávislé, zřetelná je slabá negativní korelace znaků na listenu se znaky na květu.

znak	mezi regiony	mezi populacemi v rámci regionů	mezipopulační celkem	vnitropopulační
DPR	70,6%	7,6%	78,2%	21,8%
DDP	57,6%	13,9%	71,5%	28,5%
SBZ	50,1%	15,4%	65,5%	34,5%
VHP	41,7%	10,9%	52,6%	47,4%
DC	38,4%	21,7%	60,1%	39,9%
SSP	36,1%	21,8%	57,8%	42,2%
SSZ	29,5%	17,5%	46,9%	53,1%
DHP	27,4%	36,8%	65,2%	35,8%
DCT	25,4%	19,3%	44,8%	55,2%
KT	24,6%	11,7%	36,3%	63,7%
SU	19,3%	34,2%	43,5%	46,5%
DSZ	18,8%	21,7%	40,5%	59,5%
V1	39,1%	15,2%	54,3%	45,7%
D1	35,5%	25,8%	61,2%	38,8%
V1/S1	23,8%	31,7%	55,5%	44,5%
D1/S1	21,8%	33,5%	55,4%	44,6%
S1	~ 0,0%	29,1%	29,1%	70,9%
květ			52,6%	47,4%
listeny EFC			57,5%	42,5%
listeny – poměrové znaky			51,1%	49,9%
všechny znaky			50,4%	49,6%
počet lodyžních článků	30,7%	23,2%	53,9%	46,1%
počet interkalárních článků	12,3%	*2,0%	14,3%	85,7%

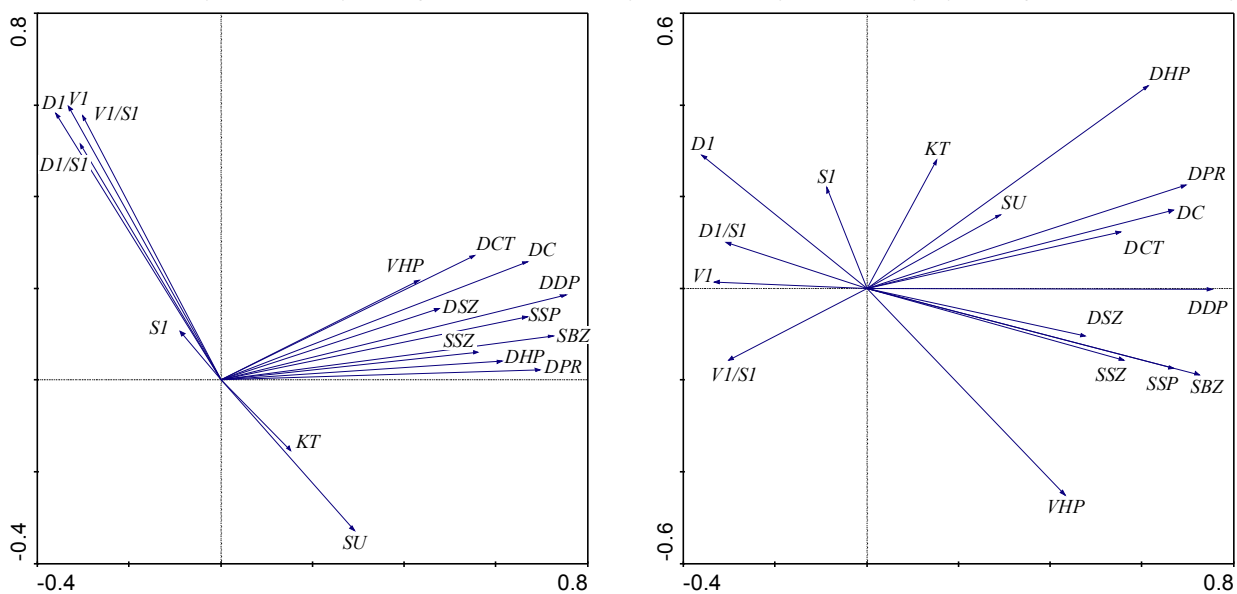
tab. 7: Tabulka rozkladu morfologické variability na úrovně: mezi regiony, mezi populacemi v rámci regionů, uvnitř populací. Znaky jsou rozříděny do skupin podle orgánu, z jehož tvaru jsou odvozeny. V rámci těchto skupin jsou seřazeny sestupně podle podílu variability na meziregionální úrovni. V posledních dvou řádcích jsou uvedeny znaky spojené se sezónní variabilitou. Variabilita všech jednorozměrných znaků na jednotlivých úrovních je průkazně odlišná od 0 na hladině významnosti $p < 10^{-4}$ při testování *likelihood-ratio* testem. Hodnota označená kurzívou je průkazná pouze na hladině významnosti $p = 0,0042$ (při aplikaci Bonferroniho korekce by tedy průkazná nebyla). Hodnota označená hvězdičkou je neprůkazná ($p = 0,493$).



obr. 21: Grafické znázornění rozložení variability jednorozměrných znaků na úrovně.

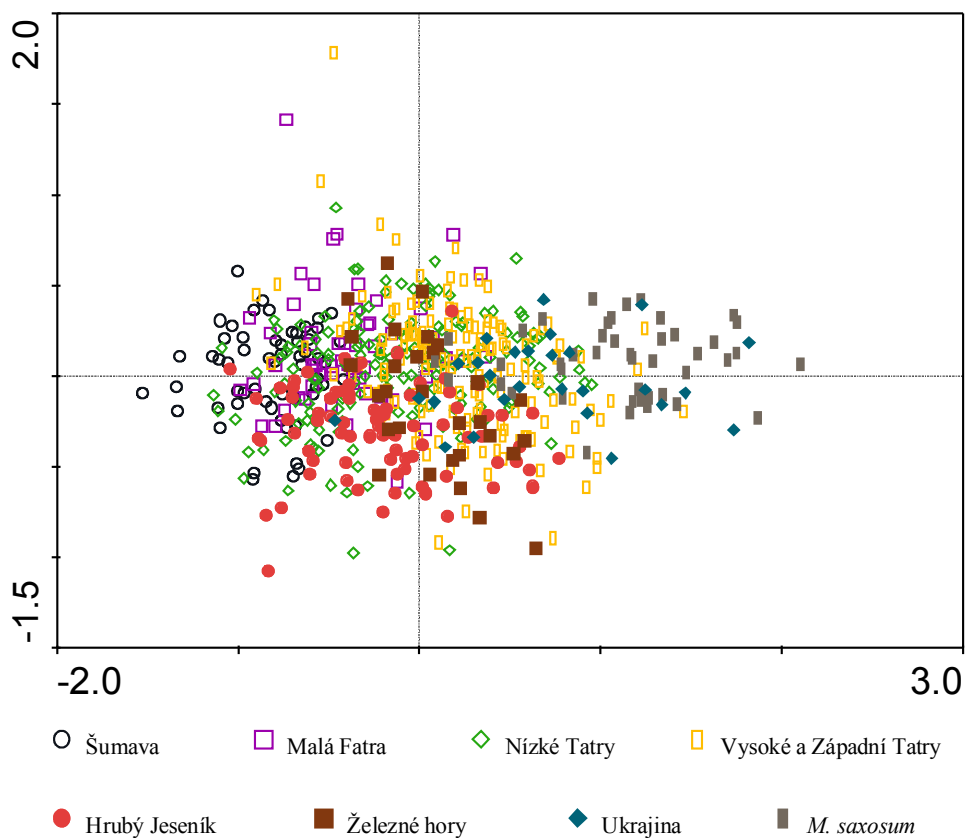


obr. 23: Analýza hlavních komponent na všech měřených znacích. Na diagramu vlevo jsou zobrazeny první dvě ordinační osy, na diagramu vpravo první a třetí ordinační osa. První PCA osa vysvětluje 37,3% variability, druhá osa 16,3% variability, třetí osa vysvětluje 10,6% variability. První tři osy dohromady vysvětlují 64,2% variability.

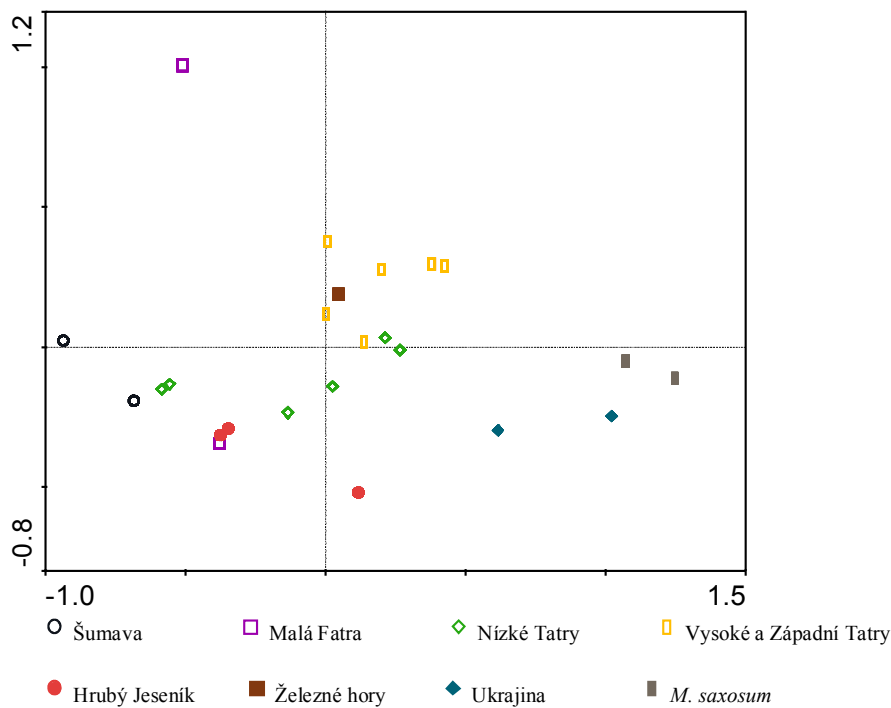


obr. 24: RDA mezipopulační variability všech měřených znaků, kanonické osy jsou omezené identifikátory populací. Na diagramu vlevo jsou zobrazeny první dvě ordinační osy, na diagramu vpravo první a třetí ordinační osa. První kanonická osa vysvětluje 50,8% mezipopulační (26,0% celkové) variability, druhá osa 29,7% (10,1%) variability, třetí osa vysvětluje 9,9% (5,1%) variability. Všechny kanonické osy společně vysvětlují 51,2% celkové variability.

Výsledek Monte-Carlo permutačního testu pro všechny kanonické osy: $F = 27,554$, $p < 0,001$ (999 permutací).



obr. 25: Rozmístění jednotlivých rostlin v ordinačním prostoru PCA všech měřených znaků. Zobrazeny jsou první dvě ordinační osy. První PCA osa vysvětluje 37,3% variability, druhá osa 16,3% variability.



obr. 26: Rozmístění populací v ordinačním prostoru RDA všech měřených znaků. Zobrazeny jsou první dvě ordinační osy. První ordinační osa vysvětluje 50,8% mezipopulační (26,0% celkové) variability, druhá osa 29,7% (10,1%) variability.

5.4.3 Analýza tvaru nejspodnějšího listenu

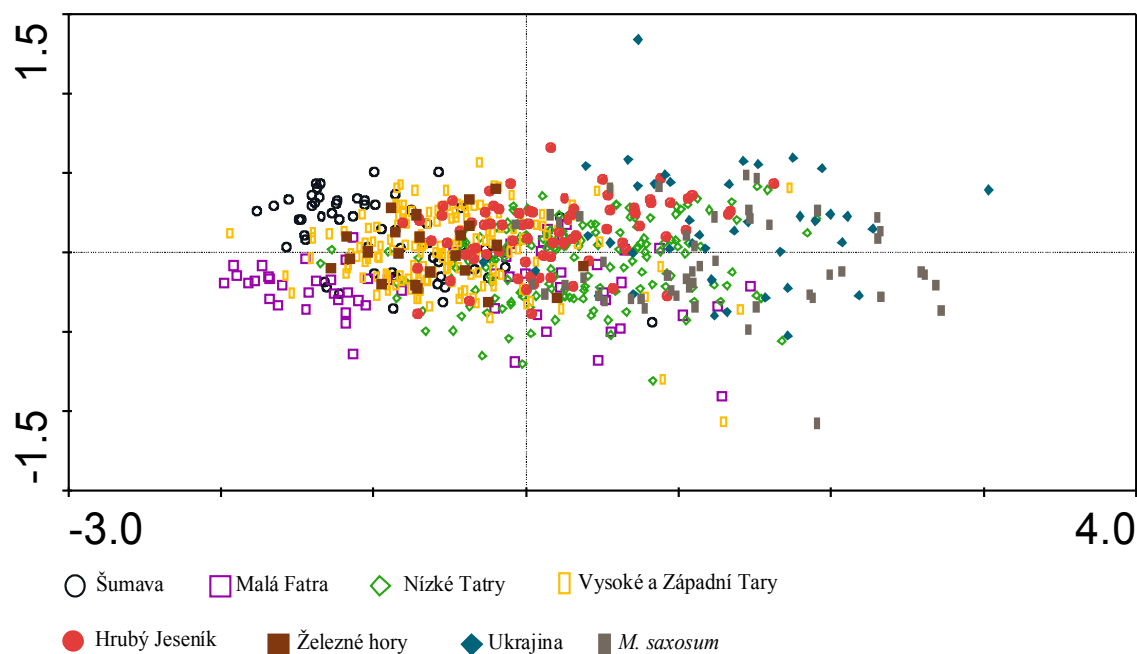
Variabilita ve tvaru nejspodnějšího listenu byla studována pomocí PCA koeficientů eliptických Fourierových funkcí, které tento tvar popisují. Výsledky této analýzy jsou shrnuty na obr. 27. Nápadná většina variability je soustředěna na gradientu první PCA osy, příspěvek dalších os je minimální. Obdobné jsou i výsledky RDA (obr. 28), pomocí které byla studována mezipopulační složka variability. Na levé straně gradientu první ordinační osy se v obou případech nacházejí rostliny ze Šumavy, které náleží do druhu *Melampyrum sylvaticum*. Prostor na opačném konci zauímají rostliny z Ukrajiny (tedy populace z klasických lokalit *M. herbichii*) a rostliny náležící do druhu *M. saxosum*. Uprostřed se nacházejí rostliny z Nízkých, Vysokých a Západních Tater, Hrubého Jeseníku a Železných hor, které jsou považovány za přechodné typy mezi těmito druhy. Populace z jednotlivých regionů tvoří více či méně výrazné skupiny, pouze populace z Malé Fatry jsou od sebe v ordinačním prostoru výrazně oddělené.

5.4.4 Analýza znaků na květu

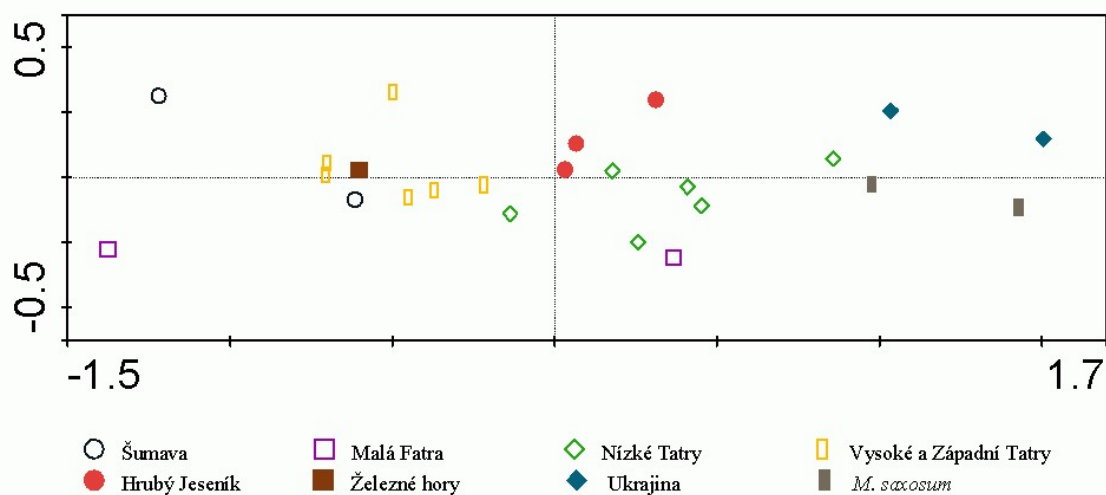
Výsledky PCA a RDA znaků měřených na květních částech jsou znázorněny na obr. 29, 30. Variabilita je v tomto případě rozdělena mezi ordinační osy o něco rovnoměrněji, pokles vysvětlené variability mezi první a druhou osou není tak propastný jako v předchozím případě. Stejně jako v předchozí analýze se na opačných stranách gradientu nacházejí populace ze Šumavy a z Východních Karpat. Rozdílné je však postavení přechodných populací na tomto gradientu. Rostliny (populace) z jednoho regionu se v ordinačním prostoru opět seskupují, a to včetně populací z Malé Fatry, které narozdíl od předcházející analýzy netvoří dva zcela oddělené shluky.

5.4.5 Variabilita v délkách prašníku a koruny

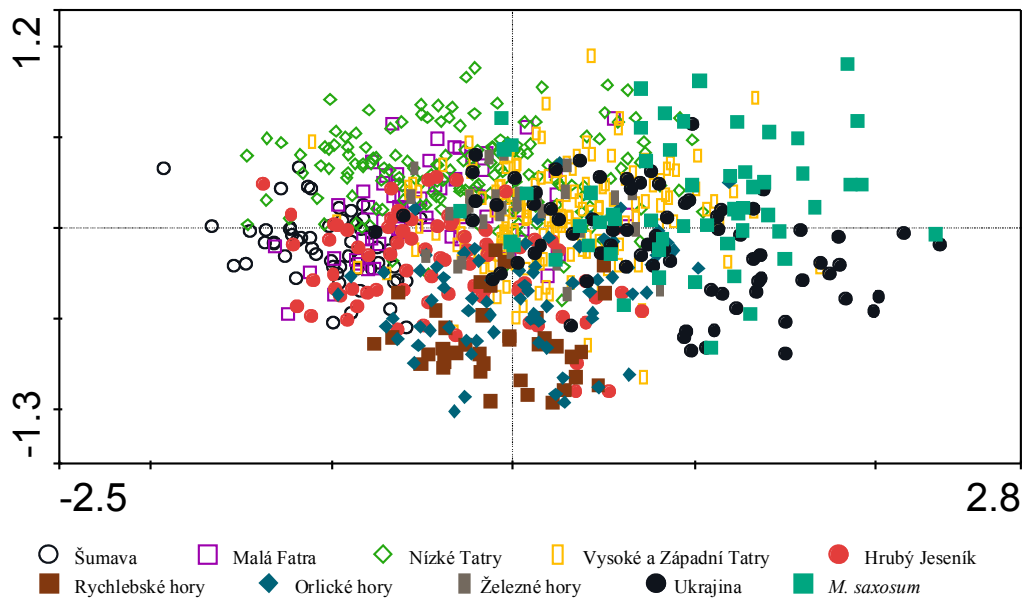
Délka koruny a délka prašníku představují znaky, které jsou tradičně využívány k rozlišení druhů *Melampyrum sylvaticum* a *M. herbichii*. Rozklad jejich variability na úroveň region – populace – uvnitř populací je uveden v tab. 7. Variabilita těchto dvou znaků v jednotlivých populacích i regionech je znázorněna na obr. 31–34.



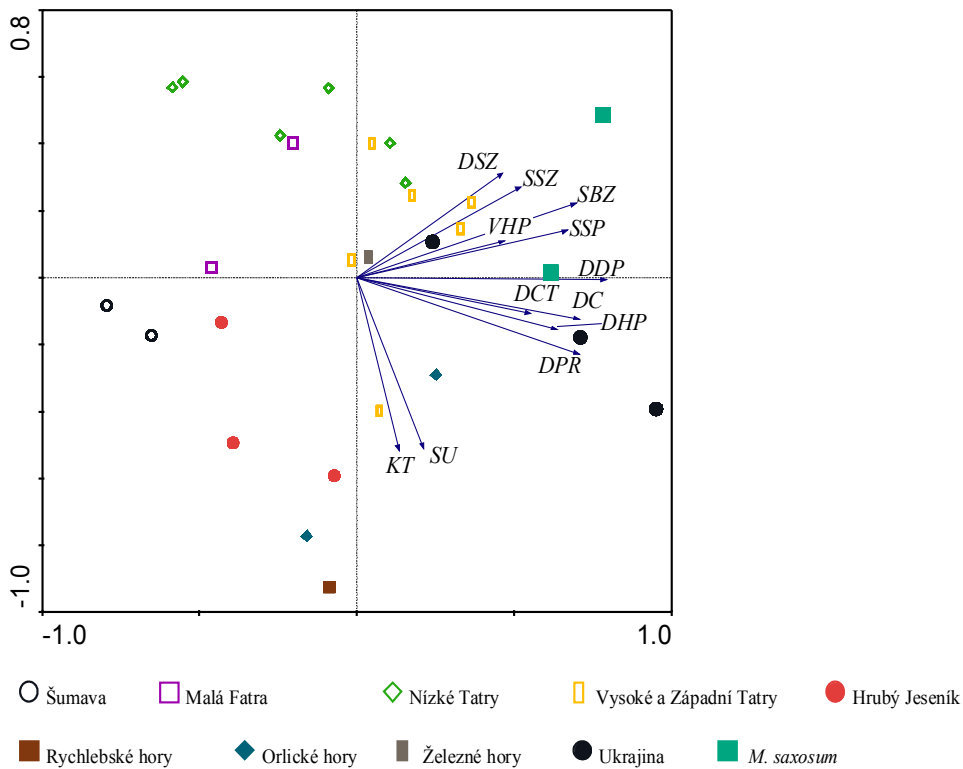
obr. 27: PCA diagram jednotlivých rostlin, jejichž tvar listu je popsán pomocí eliptických Fourierových koeficientů. Různými symboly jsou odlišeny regiony, odkud vzorky pochází. První PCA osa vysvětluje 82,0% variability, druhá osa vysvětluje 6,8% variability.



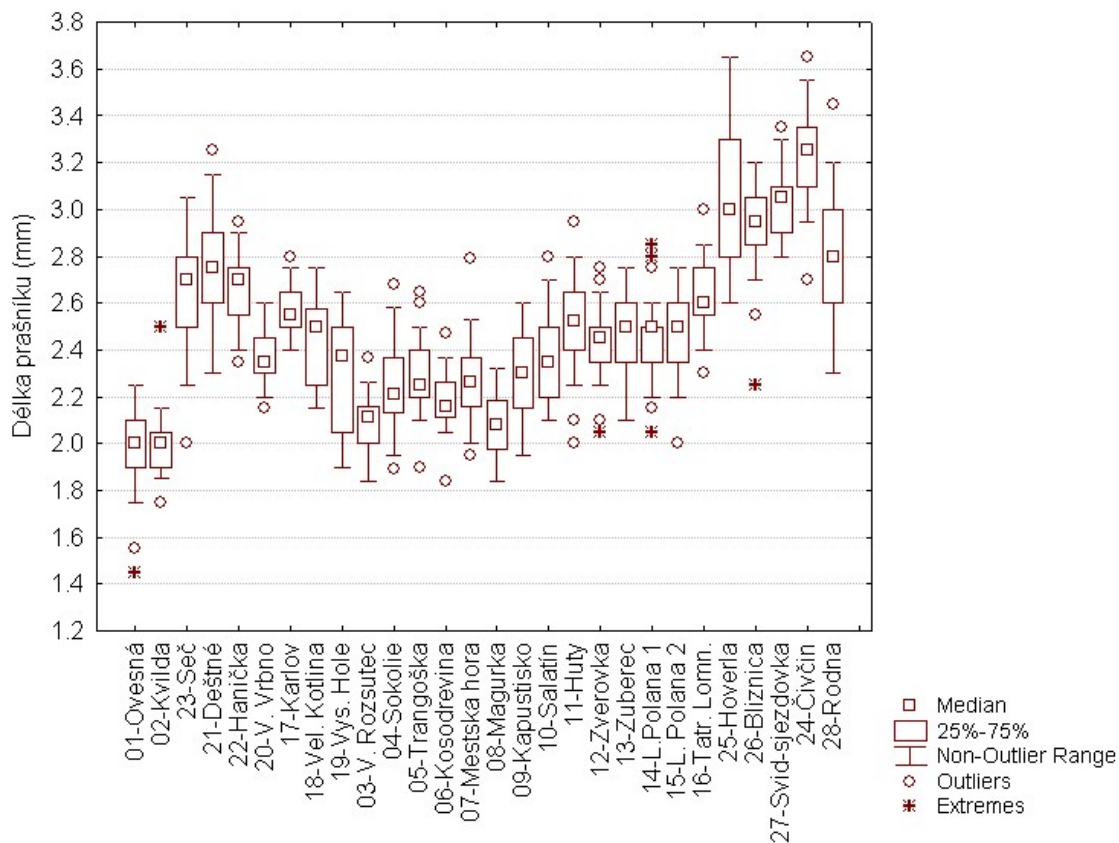
obr. 28: RDA diagram mezipopulační variability ve tvaru nejspodnějšího listu. První RDA osa vysvětluje 94,3 % mezipopulační (54,7% celkové) variability, druhá osa vysvětluje 3,3% (1,9%) variability. Všechny kanonické osy dohromady vysvětlují 58,0% variability. Výsledek Monte-Carlo permutačního testu pro všechny kanonické osy: $F = 37,411$, $p < 0,001$ (999 permutací).



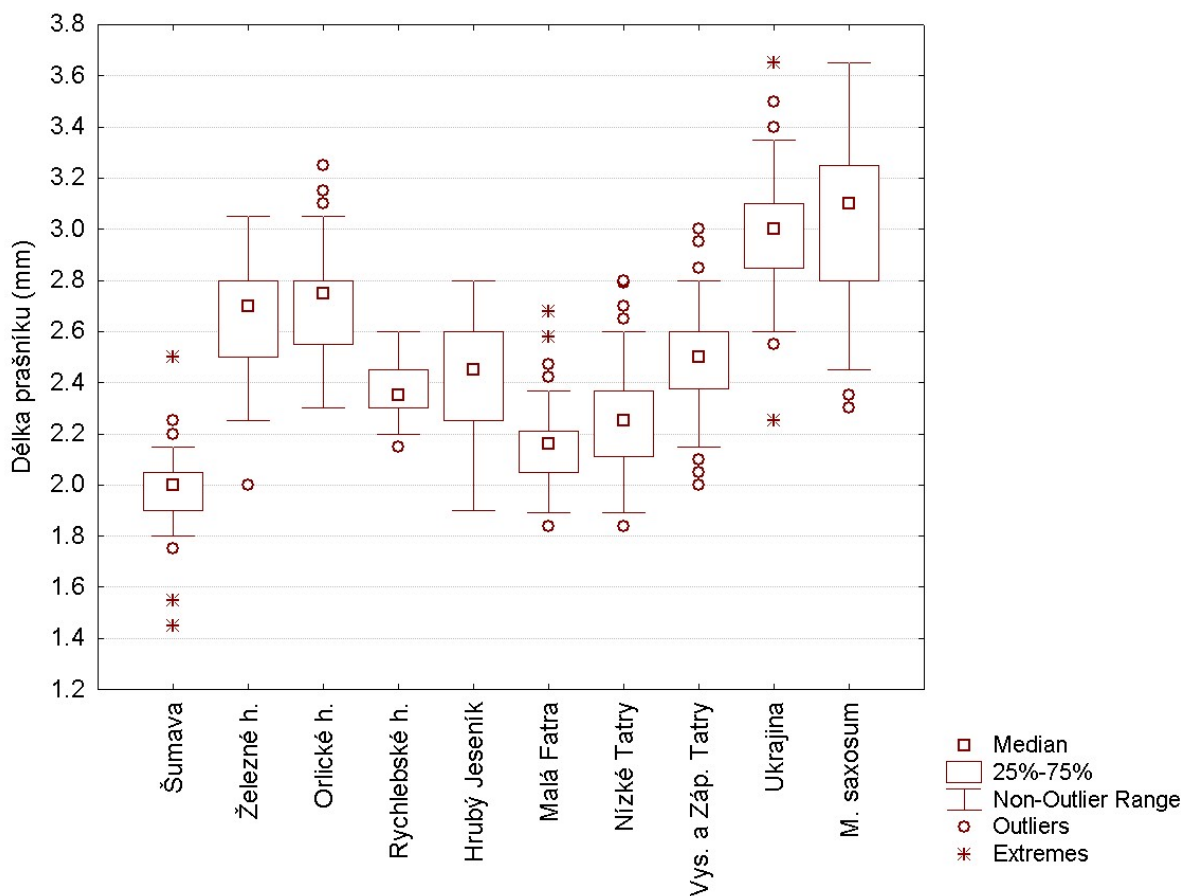
obr. 29: PCA diagram zobrazující variabilitu ve znacích na květních částech. První PCA osa vysvětluje 50% variability, druhá osa 12,3% variability. První tři osy vysvětlují dohromady 69,4% variability.



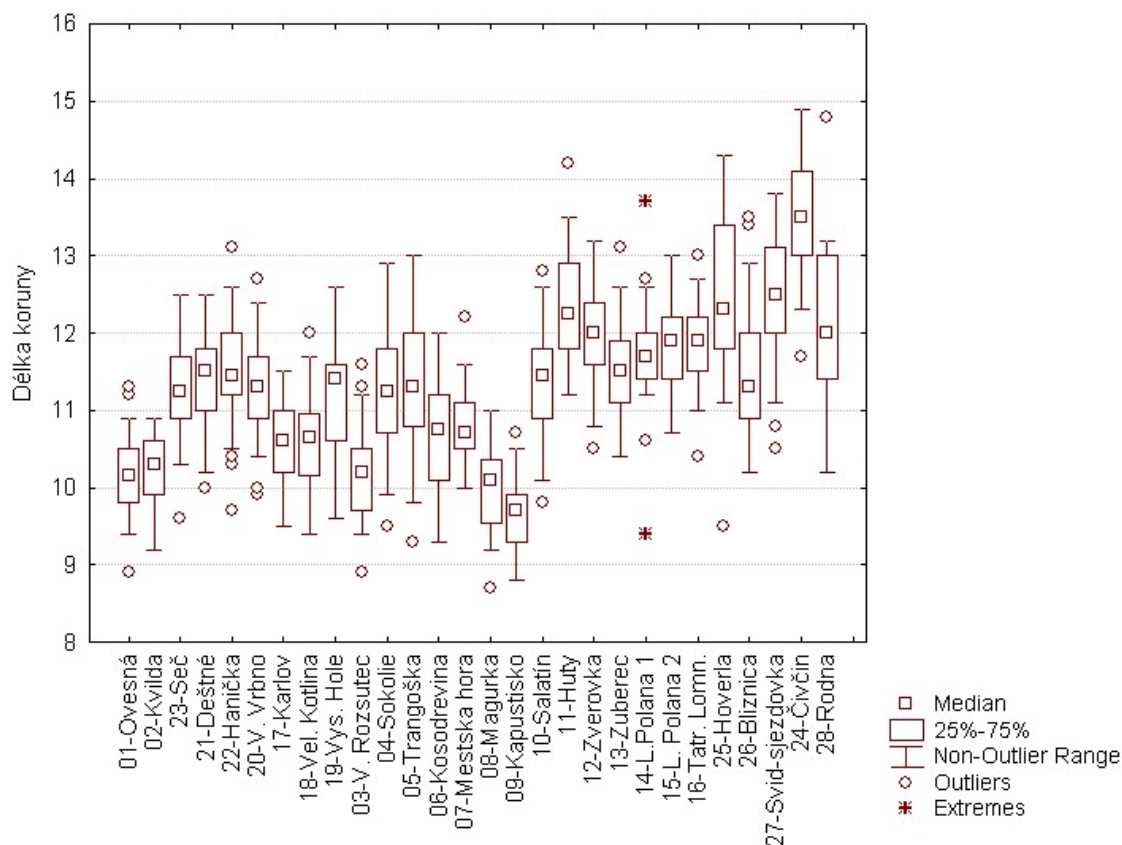
obr. 30: RDA diagram mezipopulační variability ve znacích na květních částech. První RDA osa vysvětluje 63,2% mezipopulační (33,7% celkové) variability, druhá osa vysvětluje 13,8% (7,4%) variability. Všechny kanonické osy vysvětlují dohromady 53,3% variability. Výsledek Monte-Carlo permutačního testu pro všechny kanonické osy: $F = 32,637$, $p < 0,001$ (999 permutací).



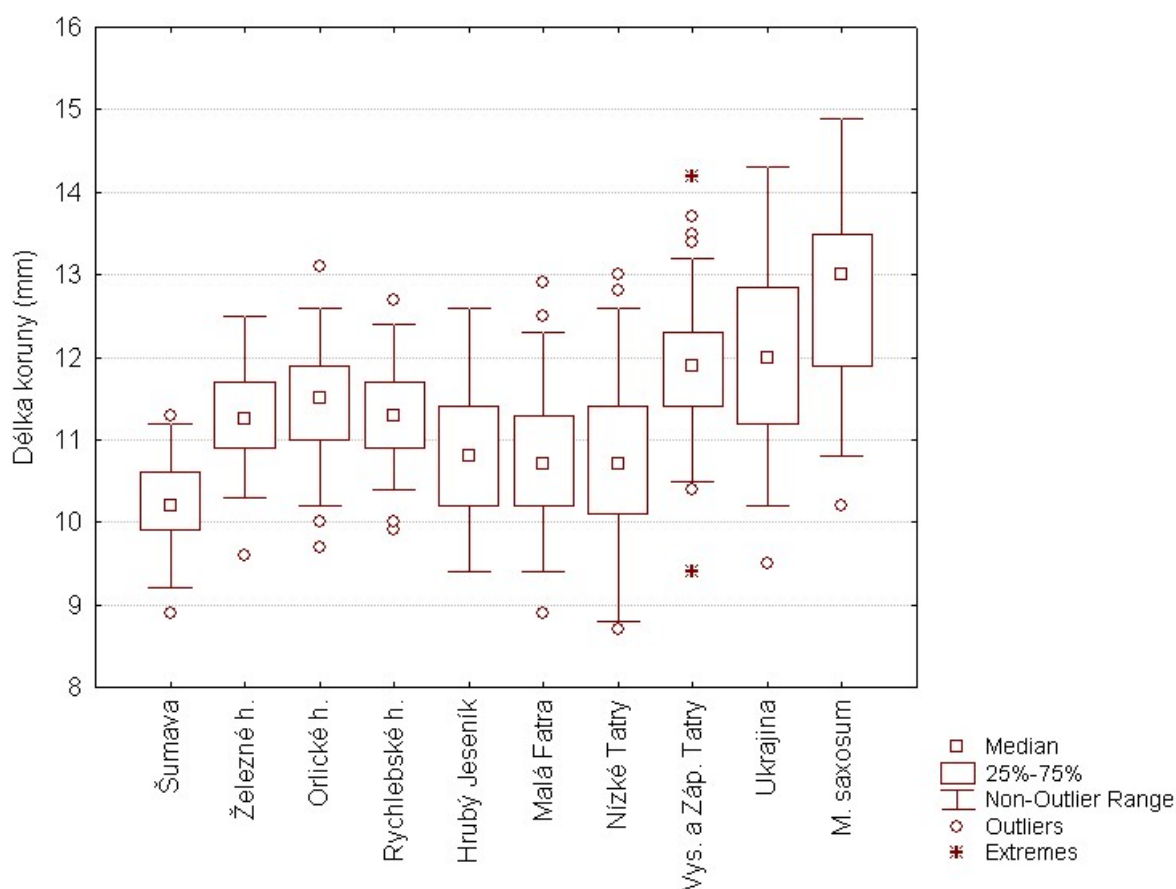
obr. 31: Variabilita délky prašníku na jednotlivých lokalitách. Lokality jsou označeny číslem a (zkráceným) jménem.



obr. 32: Variabilita délky prašníku v jednotlivých regionech.



obr 33: Variabilita délky koruny na jednotlivých lokalitách. Lokality jsou označeny číslem a (zkráceným) jménem.



obr. 34: Variabilita délky koruny v jednotlivých regionech.

6. Diskuse

6.1 Změny morfologie květu v rámci jedné rostliny v průběhu vegetační sezóny

Z analýz rozdílů v délkách koruny a prašníků se zdá, že se oba sledované rozměry v průběhu sezóny významně zkracují. Je však nutné uvědomit si, že tyto výsledky jsou poznamenány malým počtem pozorování. Další problém představuje i jistá nevyrovnanost prvního a opakovaného odběru, neboť do druhého výběru byly, byť nikoliv ve velké míře, zařazeny i květy, které by byly při prvním výběru považovány za nedovyvinuté, či špatně vyvinuté a jako takové by do výběru nebyly zařazeny. Interpretovat výsledky opakovaného odběru lze tedy pouze s nejvyšší opatrností a to i v situaci, kdy jsou zjištěné rozdíly vysoce průkazné.

Na základě výsledků opakovaných odběrů byly všechny další populační sběry prováděny na začátku reprodukčního období *Melampyrum sylvaticum* agg. a vždy byly vybírány květy na hlavní lodyze. Ve většině případů se podařilo sbírat květy nacházející se na 1.–3. nodu květenství.

Problém změny rozměrů v průběhu vegetační sezóny si jistě zaslouží větší pozornost, než mu byla doposud věnována. Kromě změn na jedné rostlině by bylo zajímavé provést obdobná srovnání na různých rostlinách v populaci a zjistit, zda by se sběr na začátku reprodukčního období lišil svými morfologickými znaky od sběru v jeho druhé polovině.

Zjištěné změny ve znacích považovaných za důležité pro rozlišení jednotlivých druhů v průběhu sezóny komplikují i porovnání výsledků analýz celkové variability s výsledky starších prací zabývajících se problematikou *Melampyrum sylvaticum* agg., protože v těchto studiích chybí ve většině případů datace sběrů z nichž byla morfometrická data získána (např. Sáo 1926–27, Jasiewicz 1958). Výjimku v tomto směru představují pouze nejnovější studie (Štech 1998, 2000, Štech & Drábková 2005).

6.2 Ekologická variabilita

Zjištěné rozdíly v hodnotách morfologických znaků mezi dvěma blízkými subpopulacemi lze interpretovat jen s velkou opatrností. A to zejména proto, že se jedná pouze o porovnání na jediné lokalitě a jeho výsledky lze stěží jakkoliv zobecnit. Porovnání dvou subpopulací je navíc založené na předpokladu, že se tyto mezi sebou neliší svými genetickými vlastnostmi. To je sice pravděpodobné, lze si však představit i situaci, kdy rozdílné genotypy osidlují různá prostředí a zjištěné rozdíly tak mohou mít i genetický základ.

Asi jediným relativně dobře interpretovatelným rozdílem je rozdíl v šířce a délce listenu, tedy v absolutních rozměrech listenu. Ty se zdají být silně závislé na podmínkách prostředí. Tuto skutečnost víceméně potvrzují i výsledky rozkladu variability (tab. 7; nelze zde rozlišit, zda jsou tyto rozměry závislé na genetické variabilitě na nižších úrovních, nebo na ekologických podmínkách prostředí).

Přestože lze z provedeného porovnání subpopulací vyčíst jen málo informací o fenotypové plasticitě *Melampyrum sylvaticum* agg., je zřejmé, že jisté rozdíly se projeví a ukázalo se tak, že tato metoda by mohla přinést přínosné výsledky. Bude však nutné zvýšit počet odebíraných vzorků z jedné velké populace, s čímž souvisí i nezbytnost snížení počtu rostlin v jednom vzorku. Design sběru by potom mohl vypadat asi takto: cca 5 sběrů v relativně uzavřené, homogenní oblasti (např. horské údolí), každý sběr by sestával ze vzorku ze dvou odlišných biotopů (typicky les – louka, či

obecně bezlesí). V případě provedení takovýchto sběrů v cca 3–4 opakováních v různých částech studovaného území lze očekávat získání cenných informací o fenotypové plasticitě (zvláště pak v případné kombinaci s molekulárními metodami).

Z tohoto pohledu se jako slibné jeví i experimentální výsevy rostlin v umělých podmínkách. Následné srovnání morfologie rostlin vypěstovaných ze semen s rostlinami z rodičovské populace poskytne zajisté velmi cenná data o morfologické proměnlivosti v různých ekologických podmínkách.

6.3 Sezónní variabilita

6.3.1 Variabilita v počtu interkalárních článků

Studium variability ve znacích spojovaných se sezónní variabilitou ukázalo, že ve většině případů nelze zachytit žádný nebo jen velmi slabý trend ve změně počtu interkalárních článků mezi populacemi. Ani v jednom případě nebyl rozdíl v tomto znaku mezi populacemi v rámci regionu ve vztahu k nadmořské výšce signifikantní (dokonce se signifikanci ani nepřibližoval). Naprostá většina populací (rostlin) se vyznačuje jedním interkalárním článkem. Z tohoto pravidla se vymykají pouze šumavské populace a částečně též některé populace z Vysokých Tater. Zajímavý je rozdíl v počtu interkalárních článků mezi subpopulacemi od Lysé Poľany z louky a z lesa. Tento rozdíl sice není průkazný ($F = 0,676$, $p = 0,411$), přesto je znatelný na grafech tohoto znaku (obr. 16) pro oba vzorky (zvláště v kontextu minimálních rozdílů mezi většinou ostatních populací). Pakliže by se opravdu jednalo o nějaký trend, znamenalo by to ovlivnění tohoto znaku ekologickými podmínkami prostředí (v tomto konkrétním případě jsou zřejmé rozdíly mezi oběma biotopy v hostitelských rostlinách a v množství dostupného světla). Vzhledem k tomu, že interkalární články mohou vznikat abortací nejspodnějších květů, či nejhořejších větví (to se nejspíše děje za nepříznivých podmínek), nebylo by zjištění (alespoň částečné) odpovědi tohoto znaku na podmínky prostředí žádným překvapením. Otázkou však je, jak velká je míra této odpovědi a naopak nakolik je počet interkalárních článků ovlivněn genotypem, či přesněji sezónní variabilitou.

Štech (1998) studoval rozdíly v počtu interkalárních článků na výškových gradientech v Alpách, Krkonoších a Velké Fatře. Vysoce signifikantní rozdíl v počtu interkalárních článků ve vztahu k nadmořské výšce zjistil pouze mezi populacemi v Alpách. Signifikantní, ale již méně výrazný rozdíl mezi nejkrajnějšími (z hlediska nadmořské výšky tj. 670 vs. 1380 m n. m.) populacemi zachytil i na Velké Fatře. Tyto populace se však od sebe poněkud liší i typem biotopu (křoviny vs. rozvolněná smrčina, Štech 1998), nelze tedy jednoznačně říci, zda je tento rozdíl způsoben genetickými odlišnostmi spojenými se sezónní variabilitou nebo odpovědí na podmínky prostředí.

Pro rozřešení otázky, do jaké míry je počet interkalárních článků ovlivněn podmínkami prostředí, je klíčová práce Zopfiho (1995), který studoval sezónní variabilitu druhu *Rhinanthus glacialis* PERSONNAT. Ve své práci prováděl experimentální výsevy různých sezónních typů na lokality reprezentující jeden typ biotopu a následně porovnával morfologické charakteristiky experimentálně vysetých rostlin a rodičovské populace. Zatímco zjištěné rozdíly v počtu lodyžních článků byly velmi nízké, oba vzorky se dosti lišily počtem interkalárních článků. Počty interkalárních článků navíc dosahovaly výrazně vyšší variability v rámci vzorku než počty

lodyžních článků. Zde je však nutno poznamenat, že zjištěný rozdíl ve variabilitě je (minimálně částečně) artefaktem aproximace Poissonova rozdělení hodnot, kterých tento znak nabývá, normálním rozdělením.

Je zjevné, že variabilita v počtu interkalárních článků má odlišné vlastnosti oproti variabilitě v počtu lodyžních článků. Lze se tedy domnívat, že tento znak je ovlivňován z velké části odlišnými faktory, než je tomu v případě počtu lodyžních článků. Komplikace je ovšem v tom, že efekty těchto faktorů se zřejmě do jisté míry překrývají a hodnoty obou znaků jsou následkem toho pozitivně korelovány. Navíc je evidentní, že počet interkalárních článků je již ze své definice shora omezen počtem lodyžních článků, a je tedy na tomto znaku závislý. Definitivní rozřešení tohoto problému snad přiblíží vyhodnocení experimentálních výsevů *Melampyrum sylvaticum* agg. založených v loňském roce. Potvrzení domněnky, že počet interkalárních článků není ovlivňován přímo geny zodpovědnými za sezónní variabilitu, ale pouze zprostředkovaně omezením počtem lodyžních článků, by bylo poměrně převratné ve vztahu k pracem jiných autorů (např. Soó 1926–27, Štech 1998), kteří tento znak považují za jeden z hlavních sezónních znaků.

6.3.2 Variabilita v počtu lodyžních článků

Z výsledků analýz počtu lodyžních článků je zřejmá především výrazná vazba tohoto znaku na nadmořskou výšku. Je však třeba si uvědomit, že tato vazba je dobře patrná až ve větších měřítkách. Rozdíly mezi populacemi v rámci jednotlivých pohoří jsou často neprůkazné, naopak v některých případech jsou patrné rozdíly v počtech lodyžních článků mezi jednotlivými pohořími (které však ve většině případů jdou ruku v ruce s rozdíly v nadmořských výškách sbíraných populačních vzorků).

Celkem typický případ této situace představují populace sbírané v Nízkých Tatrách a Vysokých a Západních Tatrách. V Nízkých Tatrách byly zaznamenány pouze populace, kde zcela převažovaly rostliny se 2 lodyžními články. V okolí obce Magurka, kde byly sbírány populace na gradientu nadmořské výšky (lokality Mestská hora, Magurka, Kapustisko), lze pozorovat sestupování časných rostlin i do nižších nadmořských výšek. Tento sestup byl nejspíše umožněn až lidskou činností, na což lze usuzovat z hojné přítomnosti rostlin *Melampyrum sylvaticum* agg. v zarůstajícím průseku na úbočí Mestské hory nad Magurkou a naopak jejich naprostou absencí v okolním smrkovém lese. I ve spodních partiích (pod 1000 m n. m.) se rostliny nápadně vyhýbají lesnímu porostu (buť třeba i mírně rozvolněnému), který je v těchto polohách obvyklým biotopem druhu. I to by mohlo svědčit pro nepřilíš dávnou migraci (spíše světlomilných) rostlin z vyšších poloh na hranici lesa.

Naopak ve Vysokých a Západních Tatrách v podstatě nebyly nalezeny rostliny se 2 lodyžními články (jedinou výjimkou je v tomto ohledu populace z lesa od Lysé Poľany). Zároveň zde nebyly nalezeny ani žádné populace v biotopech ve vyšších nadmořských výškách na hranici lesa. Vzhledem k tomu, že takové populace nebyly zjištěny ani při studiu herbářového materiálu, lze se domnívat, že ve Vysokých a Západních Tatrách mohou časné populace rostoucí na hranici lesa a v klečovém stupni chybět.

Na Malé Fatře se vyskytují populace pokrývající celou zjištěnou škálu variability v počtu lodyžních článků. Byly zde zaznamenány dvě navzájem dosti vyhraněné populace, existenci

sezónně mezilehlých populací však nelze vyloučit. Naopak v Hrubém Jeseníku, kde byla též zachycena celá pozorovaná škála variability v počtu článků, je možno sledovat plynulé ubývání lodyžních článků (resp. zvyšování frekvence rostlin s nižším počtem článků v populaci) se zvyšující se nadmořskou výškou.

Otázkou však zůstává, zda se sezónně odlišné typy v těchto pohořích vyvinuly ze společného předka, v sezónních vlastnostech víceméně uniformního, nebo zda je jejich výskyt podmíněn dávnou imigrací rostlin náležících do více sezónních typů, resp. nesoucích geny pro různé počty lodyžních článků. Absence čistě časných populací ve Vysokých Tatrách a pozdních rostlin ve studované části Nízkých Tater by hovořily spíše pro nutnost imigrace sezónních typů a tedy spíše relativně pomalé evoluce genů ovlivňujících sezónní znaky (jakkoliv rychlost i účinnost selekce, která na jednotlivé alely těchto genů působí, se zdá být vysoká).

6.3.3 Celková variabilita všech znaků (nesezónních)

Rozklad variability na vnitropopulační a mezipopulační složky dobře koresponduje s výsledky analýzy RAPD markerů, kterou provedli Štech & Drábková (2005), nikoliv však s analýzou variability morfologických znaků zahrnuté v téže studii. Oproti nyní zjištěným 49,6% vnitropopulační variability dosahují jimi zjištěné hodnoty 47,6% pro RAPD markery a 68,5% pro morfologické znaky. Tento vysoký podíl morfologické vnitropopulační variability může být způsoben sběrem populačních vzorků nejen na začátku, ale v průběhu celé (resp. větší části) reprodukční sezóny rostlin. Zvláště, budeme-li uvažovat vliv zjištěných změn morfologie květních částí v průběhu vegetační sezóny (viz části 5.1, 6.1), nebude nelogické očekávat, že populační vzorky sbírané na konci července či v srpnu se budou vyznačovat i o něco vyšší morfologickou variabilitou než populace sbírané v červnu příp. na začátku července.

Z ordinačních analýz (PCA i RDA) všech znaků společně i ze samostatných analýz skupin znaků vyplývá, že gradienty zachycující variabilitu ve tvaru listenů i ve znacích na květech jsou si navzájem dosti podobné. Hlavní rozdíly představují jednak rozmístění populací z Malé Fatry v ordinačním prostoru, jednak obrácené vzájemné postavení populací (rostlin) z Vysokých a Západních Tater oproti populacím z Nízkých Tater. Populace z Nízkých Tater se tvarem nejspodnějšího listenů blíží populacím z Ukrajiny, naopak rozměry květů tyto populace umisťují na opačnou stranu gradientu, blíže populacím ze Šumavy a Malé Fatry. Populace z Vysokých Tater se na obou gradientech umisťují v podstatě naopak. Hlavní problém tedy je, který z těchto dvou gradientů morfologických znaků lépe odpovídá genetickým rozdílům na meziregionální úrovni a je tedy možné se o něj opřít při taxonomickém hodnocení skupiny.

Štech (1998) dosáhl při statistickém zpracování morfologických dat velmi podobných (v některých ohledech takřka identických) výsledků v porovnání s těmi, které jsou předkládány v této studii. Na základě terénních pozorování usoudil, že jak rozměry květu, tak i délka prašníku jsou do jisté míry korelovány s typem biotopu, výsledné rozměry těchto znaků jsou tedy do značné míry odrazem fenotypové plasticity. Naopak v případě tvarů listenů se zachycená variabilita zdála vykazovat výraznější geografické vazby a proto své taxonomické závěry podložil převážně variabilitou ve tvaru listenů, i když předpokládal určitý trend i v ostatních znacích (Štech 1998, Štech 2000). Poněkud odlišně se k problému staví ve své nejnovější studii (Štech & Drábková

2005), kde opírá své závěry o variabilitu jak znaků na listenech, tak i na květech, tvar listenů však má i v této studii velmi důležitou roli při klasifikaci přechodných populací ze Sudet a Západních Karpat.

Výsledky rozkladu variability znaků na hierarchické úrovni (tab. 7, obr. 21) a zejména zjištěná variabilita v délce prašníku (tab. 7, obr. 21, obr. 31, 32) jsou spíše v rozporu se závěry starších Štechových prací (Štech 1998, 2000). Některé znaky na koruně (především délka prašníku) v těchto analýzách totiž vykazují relativně nízkou variabilitu v rámci regionu a zároveň dosti vysokou úroveň variability mezi regiony (v porovnání se znaky na listenech), tedy zřejmou geografickou vazbu.

Zajímavé výsledky by mohlo ukázat i porovnání variability v obou skupinách znaků (na květech a na listenech) s gradientem nadmořské výšky, která představuje zcela zřetelný a jasně definovaný gradient ekologických podmínek prostředí. Korelace ordinačních os z analýz založených na variabilitě ve tvaru listenů a na variabilitě v rozměrech květních částí (viz kapitola 5.4.3 a 5.4.4) s nadmořskou výškou shrnuje tab. 8, ve sloupci označeném záhlavím „všechny populace“. Z tabulky je patrný dosti těsný vztah gradientů prvních ordinačních os všech analýz a nadmořské výšky. O něco vyšších hodnot korelačního koeficientu dosahuje gradient ve tvaru listenů, nicméně rozdíl oproti znakům definovaným na květu není příliš zřetelný. Je však třeba si uvědomit, že rostliny z obou konců gradientů prvních ordinačních os se nacházejí v pohořích, která se navzájem značně liší svou nadmořskou výškou (ukrajinské Karpaty vs. Šumava), čímž mohou být výsledky korelace dosti zkreslené. Navíc, hlavní problém představuje klasifikace přechodných typů ze Západních Karpat a Sudet, ohledně klasifikace populací na koncích gradientu pochyby v zásadě nejsou. Logickým krokem tedy je vypustit krajní populace z analýzy a sledovat korelace pouze na populacích ze Sudet a Západních Karpat. Ačkoliv i v tomto případě jsou korelace vysoce průkazné, je zde patrný jasný rozdíl. Vztah nadmořské výšky a tvaru listenů je výrazně těsnější než vztah nadmořské výšky a rozměrů květů. Ještě více je tento rozdíl patrný na podílu vysvětlené variability (který je roven druhé mocnině korelačního koeficientu). Nadmořská výška tak vysvětluje 16,8% celkové (ale hlavně 32,5% mezipopulační) variability ve tvaru listenů, a naopak pouze 2% celkové (5,3% mezipopulační) variability v rozměrech květních částí. Nelze přehlédnout fakt, že ani v jednom případě nejsou s nadmořskou výškou korelovány druhé ordinační osy (resp. tato korelace je neprůkazná). Nicméně, biologická interpretace gradientu druhých ordinačních os není ani v jednom případě příliš zřejmá. V případě květů jsou s touto osou korelovány znaky na kalichu. Ty se však vyznačují značnou vnitropopulační variabilitou, jejich využití jako indikátorů genetické variability na vyšších úrovních je tak spíše pochybné.

Zjištění, že morfologie listenů je do jisté míry odrazem fenotypové plasticity, podporuje i pokus o experimentální výsev semen rostlin z hranice lesa pod chatou Ovčárna v Jeseníkách (1250 m n. m.) ve smrkovém lese u silnice mezi Českými Budějovicemi a Branišovem (410 m n. m.). Přestože úspěšnost výsevu byla příliš nízká na to, aby bylo možno provést kompletní rozbor rozdílů v morfologických znacích, rozdíly ve tvarech listenů (obr. 35) jsou zřejmé. Na listenech rostlin z vysetých semen je patrná absence zubů, a celkově jsou tyto listeny užší. To dobře koresponduje se zjištěnou variabilitou v šířce listenů, která vyazuje minimální hodnoty na meziregionální úrovni a naopak dosahuje vysokých hodnot uvnitř populací. Srovnání tvaru nejspodnějších listenů nebylo

znaky	analýza	všechny populace			Sudety, Západní Karpaty		
		osa	Pearson r	p	osa	Pearson r	p
tvar listenů (koeficienty eliptických Fourierových funkcí)	PCA	1.	0,58	<10⁻⁶	1.	0,41	<10⁻⁶
		2.	-0,05	0,20	2.	-0,08	0,075
		3.	-0,09	<10⁻⁶	3.	-0,16	0,0004
	RDA	1.	0,72	<10⁻⁶	1.	0,57	<10⁻⁶
		2.	-0,12	0,0031	2.	-0,20	<10⁻⁵
		3.	0,44	<10⁻⁶	3.	0,73	<10⁻⁶
rozměry na květu	PCA	1.	0,46	<10⁻⁶	1.	0,14	0,0004
		2.	-0,047	0,180	2.	-0,007	0,865
		3.	-0,21	<10⁻⁶	3.	-0,17	<10⁻⁴
	RDA	1.	0,58	<10⁻⁶	1.	0,23	<10⁻⁶
		2.	-0,058	0,099	2.	-0,006	0,882
		3.	-0,22	<10⁻⁶	3.	-0,17	<10⁻⁴

tab. 8: Korelace ordinačních os (z analýz v kapitolách 5.4.3 a 5.4.4) s nadmořskou výškou lokalit. Tučně jsou vyznačeny průkazné korelace. Mezi populace ze Sudet je v této analýze řazena i populace ze Železných hor.

bohužel možno provést, protože ty byly při sběru rostlin v Hrubém Jeseníku již zaschlé. Nicméně, důležité je i srovnání zubatosti listenů, která je též považována za důležitý znak pro rozlišení druhů *Melampyrum herbichii* a *M. sylvaticum* (Štech 2000). Navíc rozměry prvních a vyšších listenů jsou navzájem většinou dosti silně korelovány (Štech 1998), takže zjištěné rozdíly mohou mít s jistou dávkou opatrnosti obecnější platnost pro listeny celkově.

Zjištěné závislosti nelze v žádném případě označit za kauzální. Je však zřejmé, že variabilita ve tvaru listenů z velké míry odráží ekologický gradient definovaný nadmořskou výškou. Zároveň existuje možnost ovlivnění morfologie listenů a květů gradientem sezónní variability, tedy počtu lodyžních článků, který je silně korelován s nadmořskou výškou (experimentální výsev hovoří spíše proti této možnosti, ale počet srovnávaných rostlin je opravdu příliš malý na jakékoliv závěry). Každopádně z toho vyplývá, že rozdíly ve tvaru listenů velmi pravděpodobně odpovídají buď rozdílům ve stanovištních podmínkách, anebo genetickým rozdílům ve spíše menším měřítku, které odpovídá rozdílům v sezónních znacích. Vezmeme-li navíc v úvahu vysoký podíl vnitropopulační variability, je zjevné, že tvar nejspodnějšího listenů nelze dost dobře použít jako znak pro odlišení druhů v rámci *Melampyrum sylvaticum* agg. a už vůbec ne pro klasifikaci přechodných populací mezi *M. sylvaticum* a *M. herbichii*. Pro definitivní vyřešení tohoto problému však bude nejspíše nutné zapojení nejenom morfometrických, ale i molekulárních metod, které dokážou zodpovědět otázky týkající se vzájemné příbuznosti rostlin.



obr. 35: Vzhled rostlin z hranice lesa v Hrubém Jeseníku (vpravo) a rostlin vypěstovaných z jejich semen ve smrkovém lese mezi Č. Budějovicemi a Branišovem (vlevo). Ve spodní části jsou zobrazeny listy z přibližně 5.–7. nodu květenství (ve dvojnásobném měřítku oproti rostlinám). Rozdíly v celkové výšce rostlin a počtu nodů v květenství jsou způsobeny fenologickým posunem mezi sběry.

6.3.4 Využití analýzy obrysu při studiu variability *Melampyrum sylvaticum* agg.

Z rozkladu variability na vnitropopulační a mezipopulační úroveň vyplývá, že analýza obrysu zachycuje vyšší mezipopulační variabilitu ve tvaru listenu než tradiční *distance-based* metody. Vzhledem k tomu, že do vnitropopulační variability se při rozkladu variability zahrnují i chyby (resp. malá citlivost) metod (a vlastního měření), je zjevné, že analýza obrysu je schopná popsat tvar listenu o něco přesněji. Na druhou stranu, rozdíl mezi oběma metodami není nikterak výrazný. To je způsobeno nejspíše dosti jednoduchým tvarem listenu, jehož variabilita je poměrně věrně popsána pouze třemi měřeními rozměry.

Výrazně zajímavější výsledky lze očekávat při využití analýzy obrysu ke studiu morfologické variability koruny. Tento tvar je mnohem komplikovanější, rozměry které ho popisují jsou vzájemně korelované a na každý z nich tak připadá poměrně malá unikátní složka variability, kterou popisuje. Bohužel, zpracování (měření) sbíraných vzorků bylo doposud prováděno destruktivní metodou, takže není již zpětně možné provést analýzu obrysu na již zpracovaných sběrech.

6.3.5 *Melampyrum sylvaticum* agg. v Železných horách

Překvapivé výsledky přinesla morfometrická analýza rostlin *Melampyrum sylvaticum* agg. ze Železných hor. Tato populace se svými morfologickými znaky blíží populacím z Vysokých a Západních Tater. Délka prašníků dosahuje dokonce nejvyšších hodnot ze všech zkoumaných populací na území České republiky.

Vzhledem k výskytu této populace v blízkosti silnice, lze uvažovat o alochtonním původu této populace zavlečením semen buď ze sudetských pohoří, nebo dokonce ze Západních Karpat. V takovém případě by se mohl projevit i vliv fenoménů ovlivňujících genetiku malých populací, jako jsou efekt zakladatele, genetický drift apod., protože množství introdukovaných semen by jistě nebylo příliš velké.

Odpověď na otázku ohledně původu této populace by mohlo poskytnout studium dalších populací *Melampyrum sylvaticum* agg., které se však v Železných horách vyskytují jen velmi vzácně (Hadač, Jirásek & Bureš 1994). Velmi dobře využitelné jsou pro řešení tohoto problému i molekulární metody.

7. Závěr

Za účelem studia morfologické variability *Melampyrum sylvaticum* agg. v Západních Karpatech a sudetských pohořích se podařilo shromáždit dosti obsáhlý materiál, jehož zpracování přiblížilo objasnění hlavních zákonitostí, které tuto variabilitu ovlivňují. Ukázalo se však, že k definitivnímu vyřešení většiny nejasností je třeba tento materiál doplnit dalšími sběry a zejména provést kultivační experimenty. Velmi přínosné bude jistě i plánované využití molekulárních metod. Závěry, ke kterým je možno se v tuto chvíli dobrat, tak mají spíše charakter hypotéz postavených na silnějších či slabších indiciích než tvrzení podpořených jasnými fakty.

Podařilo se potvrdit hlavní trendy v morfologické variabilitě *Melampyrum sylvaticum* agg. na území České a Slovenské republiky, které byly zjištěny již dříve (Štech 1998, Štech & Drábková 2005). Variabilita ve tvaru listenu velmi pravděpodobně odráží gradient nadmořské výšky, příp. lokální genetické rozdíly a její využitelnost pro rozlišení jednotlivých druhů v rámci skupiny a klasifikaci přechodných typů byla zpochybněna. Naopak byl potvrzen význam morfologických znaků odvozených na květech, především délky prašníků, jakožto diagnostických znaků odlišujících *Melampyrum sylvaticum* a *M. herbichii*. Zároveň však bylo zjištěno, že tyto znaky vykazují značnou proměnlivost mezi květy jedné rostliny, které se liší postavením v rámci květenství a tedy i dobou květu. Tím se využitelnost těchto znaků snižuje, neboť takto lze klasifikovat pouze rostliny v určitých fenologických fázích. Zejména ke konci období kvetení jsou tyto rozměry již dosti zkreslené a jejich využití pro klasifikaci rostlin je tak velmi omezené.

Při studiu sezónní variability *Melampyrum sylvaticum* agg. se ukázalo, že variabilita v počtu interkalárních článků vykazuje odlišný „pattern” oproti variabilitě lodyžních článků. Po srovnání tohoto výsledku s výsledky dalších autorů byla formulována hypotéza, která by mohla tuto rozdílnost vysvětlit. K jejímu ověření nebo vyvrácení je však třeba podrobnější studium problematiky založené hlavně na kultivačních experimentech.

8. Literatura

- Bates D. & Sarkar D. (2005): lme4: Linear mixed-effect models using S4 classes. – The R project for statistical computing, <http://www.R-project.org>.
- Beauverd G. (1916): Monographie du genre *Melampyrum*. – Mém. Soc. Phys. Hist. Natur. Genève 38.
- Briggs D. & Walters S. M. (2001): Proměnlivost a evoluce rostlin [Plant Variation and Evolution]. – Nakladatelství Univerzity Palackého, Olomouc.
- Cannon C. H. & Manos P. S. (2001): Combining and comparing morphometric shape descriptors with a molecular phylogeny: The case of fruit type evolution in Bornean *Lithocarpus* (*Fagaceae*). – Systematic Biology 50: 860–880.
- Corti M. (1983): Geometric Morphometrics: An Extension of the Revolution. – Trends in Ecology and Evolution 8: 302–303.
- Hadač E., Jirásek J. & Bureš P. (1994): Květena Železných hor. – Správa CHKO Železné hory, Nasavrky.
- Iwata H., Niikura S., Matsuura S., Takano Y. & Ukai Y. (1998): Evaluation of variation of root shape of Japanese radish (*Raphanus sativus* L.) based on image analysis using elliptic Fourier descriptors. – Euphytica 102: 143–149.
- Iwata H. & Ukai Y. (2002): SHAPE: A Computer Program Package for Quantitative Evaluation of Biological Shapes Based on Elliptic Fourier Descriptors. – Journal of Heredity 93: 384–385.
- Jasiewicz A. (1958): Polskie gatunki rodzaju *Melampyrum* L. – Fragm. Florist. Geobot. 4 (1–2): 17–23, 60–81.
- Jensen R. J. (2003): The conundrum of morphometrics. – Taxon 52: 663–671.
- Jensen R. J., Ciofani K. M. & Miramontes L. C. (2002): Lines, outlines, and landmarks: morphometric analyses of leaves of *Acer rubrum*, *Acer saccharinum* (*Aceraceae*) and their hybrid. – Taxon 51: 475–492.
- Kuhl F. P. & Giardina C. R. (1982): Elliptic Fourier features of a closed contour. – Computer Graphics Image Processing 18: 236–258.
- Legendre P. & Legendre L. (1998): Numerical Ecology. – Elsevier Science, The Netherlands.

- Lepš J. & Šmilauer P. (2003): *Multivariate Analysis of Ecological Data using CANOCO*. – Cambridge University Press.
- Lestrel P. E., Cesar R.M., Takahashi O., Kanazawa E. (2004): A Fourier–wavelet representation of 2D shapes: sexual dimorphism in the Japanese cranial base. – *Anthropological Science* 112: 3–28.
- Macholán M. (1999): Prokrustes, deformace a nová morfometrie. – *Vesmír* 78: 35–39.
- Marhold K. & Suda J. (2002): *Statistické zpracování mnohorozměrných dat v taxonomii*. – Karolinum, Praha.
- McLellan T. & Endler J. A. (1998): The Relative Success of Some Methods for Measuring and Describing the Shape of Complex Objects. – *Systematic Biology* 47: 264–281.
- Meusel H., Jäger E., Rauschert S. & Weinert E. (1978): *Vergleichende Chorologie der zentraleuropäischen Flora*, vol. 2. – Jena.
- Quinn G. P. & Keough M. J. (2002): *Experimental Design and Data Analysis for Biologists*. – Cambridge University Press.
- Podani J. (2000): *Introduction to the Exploration of Multivariate Ecological Data*. – Backhuys Publishers, Leiden.
- Premoli C. (1996): Leaf Architecture of South American *Nothofagus* (Nothofagaceae) using traditional and new methods in morphometrics. – *Botanical Journal of the Linnean Society* 121: 24–50.
- R Development Core Team (2004): *R: A language and environment for statistical computing*. – R Foundation for Statistical Computing, Vienna, <http://www.R-project.org>.
- Rohlf F. J., Marcus L. F. (1993): A Revolution in morphometrics. – *Trends in Ecology and Evolution* 8: 129–132.
- Rohlf F. J., Slice D. (1990): Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. – *Systematic Zoology* 39 (1): 40–59. [non vidi]
- Ronniger K. (1911): Die Schweizerischen Arten und Formen der Gattung *Melampyrum* L. – *Vierteljahrsschr. Naturforsch. Ges. Zürich* 55: 300–330.

- Rumpunen K. & Bartish I. V. (2002): Comparison of differentiation estimates based on morphometric and molecular data, emplied by various leaf shape descriptors and RAPDs in the genus *Chaenomeles* (Rosaceae). – *Taxon* 51: 69–82.
- Soó R. (1926–1927): Systematische Monographie der Gattung *Melampyrum* I., II., III. – *Feddes Repert.* 23: 159–176, 385–397, 24: 127–193.
- StatSoft, Inc. (2001): STATISTICA (data analysis software system), version 6. – www.statsoft.com.
- Šípošová H. (1997): *Melampyrum* L. – In: Goliašová K. [ed.]: *Flóra Slovenska* V/2, Veda, Bratislava, 301–328.
- Štech M. (1998): Variabilita vybraných znaků druhů sekce *Laxiflora* (Wettstein) Soó 1927 a revize rodu *Melampyrum* L. v České republice. – 222 p., ms. [Disert. pr., Biologická fakulta Jihočeské univerzity, České Budějovice].
- Štech M. (2000): *Melampyrum* L. – In: Slavík B. [ed.]: *Květena ČR*, vol. 6, Academia, Praha, p. 412–429.
- Štech M. & Drábková L. (2005): Morphometric and RAPD study of *Melampyrum sylvaticum* Group in the Sudeten, the Alps and Carpathians. – *Folia geobotanica* 40: 177–193.
- ter Braak C. J. F. & Šmilauer P. (2002): *Canoco reference manual and CanoDraw for Windows User's guide: Software for Canonical Community Ordination (version 4.5)*. – Microcomputer Power, Ithaka.
- Yoshioka Y., Iwata H., Ohsawa R. & Ninomiya S. (2004): Analysis of petal shape variation of *Primula sieboldii* by elliptic Fourier descriptors and principal component analysis. – *Annals of Botany* 94: 657–664.
- Zima J., Macholán M., Munclinger P. & Piálek J. (2004): *Genetické metody v zoologii*. – Karolinum, Praha.
- Zopfi H. J. (1995): Life history, variation and infraspecific heterochrony in *Rhinanthus glacialis* (*Scrophulariaceae*). – *Plant Systematics and Evolution* 198: 209–233.

9. Fotografická příloha



Melampyrum sylvaticum, Kvilda, Šumava;
11. 7. 2004



Rostlina z lokality Mestská hora, Nízké Tatry;
28. 6. 2004



Melampyrum sylvaticum, okolí vesnice Kovda na břehu
Bílého moře, Murmanská oblast, Ruská federace; 20. 7.
2004



Melampyrum herbichii, sedlo mezi horami Hoverla a
Pietroš, Zakarpatská oblast, Ukrajina; 11. 7. 2003



Melampyrum saxosum, Čivčinské hory, Ivano–Frankovská oblast, Ukrajina; 9. 7. 2003



Melampyrum saxosum, Čivčinské hory, Ivano–Frankovská oblast, Ukrajina; 9. 7. 2003