

Katedra botaniky
Univerzita Karlova v Praze - Přírodovědecká fakulta



**Chemotaxonomická studie skupiny *Cladonia*
*coccifera***

Bakalářská práce

Jana Steinová

Vedoucí bakalářské práce: Mgr. Štěpánka Slavíková

Praha, duben 2006

Souhrn

Bakalářská práce pojednává o chemotaxonomii skupiny *Cladonia coccifera*. Materiál z herbářových položek jsem studovala metodou tenkovrstevné chromatografie. Zároveň jsem zkoumala, zda morfologické znaky odpovídají údajům v literatuře. Pomocí těchto metod jsem zjistila 2 nové druhy pro Českou republiku: *Cladonia borealis* a *Cladonia metacorallifera*. Z výsledků vyplynulo, že u některých položek druhu *Cladonia borealis* se na povrchu podécií vyskytovaly literaturou nezmiňované morfologické útvary (šupiny).

Obsah

1. Úvod.....	2
2. Charakteristika skupiny <i>Cladonia coccifera</i>	3
3. Chemismus lišejníků	10
4. Materiál a metody	14
5. Výsledky	16
6. Diskuse.....	18
7. Závěr.....	19
8. Literatura.....	20

1. Úvod

Cladonia coccifera patří k nejdéle studovaným druhům lišejníků, popsána byla již Linnéem jako *Lichen cocciferus*. Především na základě výzkumu japonského lichenologa Asahiny (např. Asahina 1939) se znalosti o skupině lišejníků příbuzných *Cladonia coccifera* velmi prohloubily. Asahina se se svými spolupracovníky věnoval chemismu těchto lišejníků (např. Asahina & Shibata 1954). Na něj navázali mnozí další, ze současných lichenologů bych uvedla např. Stenroos, která o skupině *Cladonia coccifera* napsala monografii (Stenroos 1989a, b). Přesto však zůstává taxonomie některých zástupců této skupiny dosti nejasná (Ihlen & Tønsberg 1994).

V České republice se problematice této skupiny v posledních letech nikdo podrobněji nevěnoval. Veškeré v ČR doposud sbírané položky byly určovány pomocí morfologických znaků (z chemických metod byly využívány stélkové reakce) a určení jednotlivých druhů tudíž nelze považovat za zcela jisté. Dosud byly z území ČR udávány tyto druhy: *Cladonia carneola*, *C. coccifera*, *C. pleurota*. Druhy *C. borealis* a *C. metacorallifera* nebyly dosud na území ČR nalezeny; jsou však z okolních států jsou udávány (viz kap. 2). Lze proto předpokládat, že se nacházejí i na našem území.

Cíle své práce jsem si stanovila následovně:

- 1) rozšířit znalosti o výskytu zástupců studované skupiny na území ČR
- 2) analyzovat vybraný materiál pomocí tenkovrstevné chromatografie (TLC) a tím se podrobněji seznámit s touto metodou
- 3) porovnat morfologické znaky jednotlivých položek (určených pomocí TLC) s údaji udávanými v literatuře.

2. Charakteristika skupiny *Cladonia coccifera*

Cladonia Hill ex Brown

Většina druhů rodu *Cladonia* patří mezi keříčkovité lišejníky. Stélku tvoří přizemní šupiny a podécia, která mohou nabývat mnoha různých podob. Na podécích se vyvíjejí hnědá, červená, zřídka i žlutavá apotécia. Rozmnožování je často zajištěno také fragmentací stélky nebo produkcí sorédií (Pišút 1958).

Druhy rodu *Cladonia* se vyskytují na holé půdě, surovém humusu, mechorostech, zetlelém dřevě, na borce stromů i na zvětralých horninách. Většinou preferují kyselé, na živiny chudé substráty, kde je snižená konkurence vyšších rostlin.

Sekce *Cocciferae*

Sekce *Cocciferae* tradičně zahrnovala druhy rodu *Cladonia*, které mají červené hyménium, tj. obsahují v hyméniu pigment kyselinu rhodokladonovou (Huovinen et al. 1989). Dnes je skupina charakterizována přítomností dibenzofuranů a β -orcinol depsidů (Stenroos et al. 2002). Proto sem může být zahrnuta i podsekce *Ochroleucae*, jejíž zástupci mají světle hnědé hyménium (dříve měla status samostatné sekce). Sekce *Cocciferae*, zahrnující celkem 65 zástupců, se při svém současném vymezení zdá být monofyletickou skupinou (Stenroos et al. 2002).

Skupina *Cladonia coccifera*

Tato skupina tradičně zahrnovala pohárkaté lišejníky s červeným hyméniem, relativně krátkým podéciem a širokým pohárkem (Vainio 1887). Skupina je však umělá, proto nemůže být v dnešní době přesně vymezena. Řadí se sem celkem 12 druhů, které jsou definovány morfologicky a chemicky (Stenroos 1989a).

Morfologie: Přizemní šupiny dosahují různé velikosti (od 0,2 do 1 cm), na vrchní straně jsou žlutozelené, na spodní straně šedožluté, laločnaté. Podécia 1 až 8 cm vysoká, zakončená pravidelnými širokými pohárky. Apotécia velká, na okrajích pohárků: epihyménium červené

nebo světle hnědé. Pro rozlišení jednotlivých druhů je nejpodstatnějším morfologickým znakem struktura povrchu podézia, především velikost, tvar a poloha vegetativních rozmnožovacích částic na něm umístěných.

Chemismus: Téměř všichni zástupci produkují kyselinu rhodokladonovou (kromě *C. carneola*) a kyselinu usnovou (výjimky tvoří *C. meridensis* a *C. leprocephala*). Dalšími významnými sekundárními metabolity jsou kyselina barbatová a squamatová (β -orcinol para-depsidony), kyselina thamnolová (β -orcinol meta-depsidon) a kyselina didymová (dibenzofuran). Tyto látky jsou často doprovázeny různými akcesorickými látkami. Z terpenů se v této skupině vyskytuje zeorin, který je obsažen ve stélkách *C. carneola*, *C. coccifera*, *C. pleurota* a *C. diversa*.

Charakteristika vybraných druhů

Uvádím zde charakteristiky druhů známých z České republiky (*C. carneola*, *C. coccifera*, *C. pleurota*; Vězda & Liška 1999) a druhů s vyšší pravděpodobností výskytu na našem území (*C. borealis*, *C. metacorallifera*, *C. diversa*; druhy jsou zmiňovány z Evropy). Charakteristické lišejníkové látky jednotlivých taxonů jsou pro přehlednost uvedeny v tabulce (viz Tab. 1)

Tab. 1. Lišejníkové látky přítomné v jednotlivých druzích skupiny *C. coccifera*

	k. usnová	k. barbatová	zeorin	k. rhodokladonová	k. 4-0-demethylbarbatová	mastná kyselina	k. isousnová	k. porfyrilová	bellidiflorin	k. squamatová	k. didymová	k. thamnolová	k. kondidymová	k. subdidymová	k. konsquamatová
C. coccifera	+	-	+	+	-	±	+	±	-	-	-	-	-	-	-
C. pleurota	+	-	+	+	-	-	+	±	-	-	-	-	-	-	-
C. carneola	+	±	+	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-
C. borealis	+	+	-	+	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C. metacorallifera	+	-	-	+	-	-	-	-	±	±	+	±	±	±	±
C. diversa	+	-	+	+	-	-	-	±	±	-	-	-	-	-	-

Cladonia borealis Stenroos

Morfologie:

Primární šupiny: velké, odstávající, až do 1cm, řídce děleny v zaoblené lalůčky.

Podécia: až 4 cm, jednoduchá nebo rozvětvená okrajově proliferujícím pohárkem.

Pohárky: postupně se rozšiřující až do 1cm.

Povrch podécia: síťovitě korovitý, uvnitř a často i na horní části z vnější části pohárku pokryt destičkami (obr. 6.).

Vegetativní propagule: destičky, pravidelné a hladké, (0,2) 0,3 – 0,4 mm.

Plodnice: epihyménium červené.

Chemismus: Reaguje: Pd-, K-, KC+ žlutě, C-, UV+.

Ekologie: Vyskytuje se do montánního stupně, často ve vlhčích oblastech, na stanovištích chráněných před větrem. Na mechem porostlých kamenech a skalách. Může růst i na osluněných stanovištích, např. na sutích (Wirth 1995).

Rozšíření: Slovensko (Aptroot et al. 2003), Rakousko (Berger 1996), Polsko (Fałtynowicz 2003), Německo (Wirth 1995), Norsko (Ihlen & Tønberg 1994), Střední Amerika, Jižní Amerika - severní Andy, JZ část, subantarktické ostrovy (Stenroos 1989a).

Morfologicky je *Cladonia borealis* nejvíce příbuzná *C. coccifera* (s. str.). Povrch podécia obou druhů je pokryt destičkami, ale zatímco u *C. coccifera* (s. str.) jsou destičky puchýřnaté, u *C. borealis* jsou hladké. *C. borealis* je oproti *C. coccifera* korovitější, obzvlášť je-li plodná. Ihlen a Tønberg (1994) nicméně popisují, že se setkali s přechody mezi oběma typy destiček, a dokonce, že položky s morfologií typickou pro *C. borealis* obsahovaly zeorin, typický pro *C. coccifera*. Purvis & James (1992) považují *C. borealis* za chemotyp *C. coccifera*.

Cladonia carneola (Fr.) Fr.

Morfologie:

Primární šupiny: malé, do 0,4 cm, řídce děleny v zaoblené lalůčky.

Podécia: do 4 cm, nevětvená nebo jednou (dvakrát) větvená okrajově proliferujícím pohárkem.

Pohárky: náhle se rozšiřující do šířky 1 cm, okraje zubaté.

Povrch podécia: práškovitě až moučnatě sorediózní, bazální části mohou být šupinaté (obr. 6.).

Vegetativní propagule: práškovité až moučnaté sorédie, 15 – 30 µm v průměru.

Plodnice: epihyménium světle hnědé.

Chemismus: Reaguje: Pd-, K-, KC+ žlutě, C-, UV-.

Ekologie: Ve vyšších, na srážky bohatých polohách, až k hranici lesa, zřídka v montánním stupni. Na ztrouchnivělém, vláhu zadržujícím dřevě, na pařezech, na surovém humusu. Na osluněných, chladných a vlhkých stanovištích (Wirth 1995).

Rozšíření: Česká republika (např. Bayerová et al. 2004), Německo (Wirth 1994), Rakousko (Hafellner & Türk 2001), Polsko (Fałtynowicz 2003), Slovensko (Banášová et al. 2003), severní polokoule, jižní část Jižní Ameriky (Stenroos 1989a).

Cladonia carneola je jediným druhem ve skupině *C. coccifera*, který má světle hnědé zbarvení epihyménia.

***Cladonia coccifera* (L.) Willd.**

Morfologie:

Primární šupiny: velké, odstávající, až do 0,8 cm, řídce děleny v zaoblené lalůčky.

Podécia: až 3 cm, jednoduchá, zřídka rozvětvená okrajově proliferujícím pohárkem.

Pohárky: postupně se rozšiřující až do 1,5 cm.

Povrch podécia: síťovitě korovitý či pokrytý destičkami, uvnitř pohárku pokrytý destičkami (obr. 6.).

Vegetativní propagule: destičky, puchýřnaté a šupinaté, nepravidelného tvaru, 0,2 – 0,3 mm.

Plodnice: epihyménium červené.

Chemismus: Reaguje: Pd-, K-, KC+ žlutě, C-, UV-.

Ekologie: Výskyt v montánním až alpinském stupni, v oblastech bohatých na srážky. Na humózních, živiny bohatých, písčitých až kamenitých půdách. Může se vyskytovat na skále, na silnější vrstvě humusu nebo zřídka přímo na skalnatých výběžcích, popř. též na sutích či vřesovištích (Wirth 1995)..

Rozšíření (*C. coccifera* s. str.): Německo (Wirth 1995), Polsko (Fałtynowicz 2003), Rakousko (Hafellner & Türk 2001), Turecko (Gönülol et al. 1995), Severní Amerika, Východní Asie, Himaláje, Indonésie, Papua Nová Guinea (Stenroos 1989a).

V České republice byla *C. coccifera* s. lat. sbírána hojně, např. Palice (1996), Peksa (2003).

C. coccifera byla dříve zaměňována za *C. borealis* a *C. pleurota*. Nejvýznamnějším rozlišovacím znakem pro *C. coccifera* s.str. je přítomnost velkých (až 0,8 cm dlouhých) primárních šupin a šupinatých destiček nepravidelného tvaru pokrývajících horní vnější část povrchu podévia a vnitřek pohárku (Stenroos 1989a).

Cladonia diversa Asperges

Morfologie:

Primární šupiny: středně velké, odstávající, do 0,5 cm, řídce děleny v zaoblené lalůčky.

Podévia: útlá, až do 2,5 cm, nevětvená nebo větvená (laterálně a marginálně) prolifерujícím pohárkem.

Pohárky: postupně se rozšiřující do 0,5 cm.

Povrch podévia: často hustě šupinatý v bazální části, v horní části a uvnitř pohárku granule, mikrošupiny a bradavčité destičky (obr. 6.).

Vegetativní propagule: nepravidelné šupinaté destičky, mikrošupiny, korovité a nekorovité granule.

Plodnice: epihyménium červené.

Chemismus: Reaguje: Pd-, K-, KC+ žlutě, C-, UV-.

Rozšíření: Finsko (Stenroos 1989a), Švédsko a Norsko (Santesson 2004), Velká Británie (Coppins 2002), Dánsko (Söchting & Alstrup 2002), Litva (Feuerer 2006).

Tento druh, stejně jako *C. coccifera* a *C. pleurota*, obsahuje zeorin, ale odlišuje se užším pohárkem a hustě šupinato-granulózním povrchem. Stenroos (1989a) považuje status tohoto taxonu za značně nejistý.

Cladonia metacorallifera Asah.

Morfologie:

Primární šupiny: malé, do 0,4 cm, mohou být děleny v malé zaoblené lalůčky.

Podévia: štíhlá, lehce prodloužená, obvykle nevětvená, bazální část černající.

Pohárky: náhle se rozšiřující až do 1 cm.

Povrch podézia: bez kúry až nepravidelně korovitý, hustě mikrošupinatý, na horní části se mohou vyskytovat granule (obr. 6.).

Vegetativní propagule: mikrošupiny (0,2 – 0,4 mm) a granule.

Plodnice: epihyménium červené.

Chemismus: Reaguje: Pd-, K-, KC+ žlutě, C-, UV+.

Ekologie: V subalpinském a alpinském stupni, na chladných, vlhkých stanovištích, dlouho zakrytých sněhem. Vyskytuje se často společně s *C. bellidiflora* a *C. stellaris* (Wirth 1995).

Rozšíření: Německo (Wirth 1995), Slovensko a Polsko (Kowalewska & Kukwa 2004), Rakousko (Sterner & Mayrhofer 2003), Slovinsko (Mrak et al. 2004), Norsko (Ihlen & Tønberg 1994), Finsko (Hyvonen 1985), SZ část Severní Ameriky, Japonsko (Stenroos 1989b).

C. metacorallifera se vyskytuje ve dvou chemických varietách, které se morfologicky neliší. *C. metacorallifera* var. *reagens* se od var. *metacorallifera* odlišuje obsahem thamnolové kyseliny (reaguje Pd+ oranžově) namísto kyseliny squamatové (Pd-) (Holien & Hilmo 1991). Var. *reagens* má oproti varietě *metacorallifera* omezenější rozšíření, je známa pouze z Japonska, Norska a Švédska (Stenroos 1989b).

Cladonia pleurota (Flörke) Schaerer

Morfologie:

Podézia: až 3cm, jednoduchá, zřídka rozvětvená okrajově proliferujícím pohárkem.

Pohárky: postupně se rozšiřující do 0,7 (1,5) cm.

Povrch podézia: korovitý, často lupenitý v bazálních částech, venku a uvnitř pohárku moučnatě až zrnitě sorediózní (obr. 6).

Vegetativní propagule: zrnité nebo moučnaté sorédie, 30 – 120 µm v průměru.

Plodnice: epihyménium červené.

Chemismus: Reaguje: Pd-, K-, KC+ žlutě, C-, UV-.

Ekologie: V montánním až alpinském stupni, v oblastech bohatých na srážky, na humózních, písčitých až kamenitých půdách. Často na bazickém podkladu, ale může růst i na silikátové hornině, pokryté silnější vrstvou humusu či porostlé mechrosty, i přímo na ní (Wirth 1995).

Rozšíření: Česká republika: hojně, např. Bayerová (1999), Palice (1996), Peksa (2003); Polsko (Fałtynowicz 2003), Rakousko (Hafellner & Türk 2001), Německo (Wirth 1994), Havajské ostrovy, Střední a Jižní Amerika, subantarktické ostrovy, Himaláje, Taiwan, Austrálie, Nový Zéland (Stenroos 1989a).

Cladonia pleurota je pravděpodobně nejbližší *C. coccifera* (u té se však nevyskytují sorédie). *C. pleurota* je morfologicky velmi variabilní. Mladá podécia mohou být zcela sorediózní, u starších s plodnicemi mohou sorédie mizet, povrch podécia se stane téměř korovitým a zčásti je pokryt pevně uchycenými korovitými granulemi nebo malými bradavičkami.

Výskyt následujících 6 druhů skupiny *Cladonia coccifera* nebyl v Evropě zaznamenán, proto je nebudu ani blíže charakterizovat.

***Cladonia granulans* Vainio**

Rozšíření: Kamčatka, Kurilské ostrovy, Japonsko, Taiwan, Aljaška (Stenroos 1989a).

***Cladonia lepidophora* Ahti & Kashiw.**

Rozšíření: Chile, Argentina, Falklandské ostrovy, Shetlandské ostrovy (Stenroos 1989b).

***Cladonia meridensis* Ahti & Stenroos**

Rozšíření: Andy (Venezuela až Bolívie) (Stenroos 1989b).

***Cladonia leprocephala* Ahti & Stenroos**

Rozšíření: Andy (Venezuela až Peru) (Stenroos 1989b).

***Cladonia brasiliensis* (Nyl.) Vainio**

Rozšíření: Amazonská nížina a Brazílie (Stenroos 1989b).

***Cladonia corallifera* (Kunze) Nyl.**

Rozšíření: Amazonská nížina, Venezuelské Alpy (Stenroos 1989b).

3. Chemismus lišejníků

Lišejníky mají v důsledku zvláštní anatomické stavby stélky a způsobu života specifický látkový a energetický metabolismus. Jeho výsledkem jsou nejen primární produkty látkové výměny, jež se ukládají uvnitř buněk (např. sacharidy, lipidy, volné aminokyseliny, peptidy, karotenoidy, vitamíny či enzymy), ale i látky značně odlišné od produktů metabolismu jiných rostlin – sekundární produkty metabolismu. Sekundární metabolity jsou většinou nerozpustné ve vodě, rozpustné v organických rozpouštědlech a mají často kyselou povahu (Jarkovský 1978). Z tohoto důvodu se pro ně dříve užívalo názvu lišejníkové kyseliny, dnes se spíše užívá pojmu lišejníkové látky (ne všechny lišejníkové látky jsou kyselé povahy, výjimku tvoří např. terpeny). Jsou produkovány houbovou složkou lišejníku a akumulovány na povrchu hyf. Atranorin a pigmenty (např. kyselina usnová) jsou často uloženy v kůře stélky, zatímco většinu bezbarvých látek nalezneme mezi dření a řasovou vrstvou (Orange et al. 2001). Apotécia (a někdy i sorály, pyknidy, pseudocyfely a cefalódia) mohou obsahovat jiné látky než zbytek stélky. Za nepříznivých podmínek mohou lišejníky produkovat pro daný druh netypické látky, proto by pro následné zkoumání měly být vybírány zdravé, normálně rostoucí části stélky.

Lišejníkové látky jsou pro většinu druhů konstantní. Vyskytují se však i výjimky. Rozlišujeme 3 základní vzorce vnitrodruhové chemické variability (Huneck & Yoshimura 1996):

- 1) Nahrazení určité látky jinou sloučeninou - např. *Cladonia metacorallifera* se celosvětově vyskytuje ve dvou formách. První z nich produkuje kyselinu thamnolovou, druhá kyselinu squamatovou (Holien & Hilmo 1991). Orange et al. (2001) pro tento druh variability používá termín chemická varieta.
- 2) chemosyndromová variabilita - hlavní obsahová látka může být doprovázena minoritní látkou, která má velmi podobnou biosyntetickou dráhu.
- 3) akcesorické látky - u daného druhu se mohou vyskytovat, ale také nemusí. V literatuře bývají označeny symbolem „±“. Zda je daná látka označena za akcesorickou často

závisí na citlivosti použité metody, popřípadě na množství látky přítomné v daném materiálu.

Chemické variety nemají většinou status zvláštního druhu, přestože chemickou odlišnost často doprovází i odlišnost morfologická (Orange et al 2001). Taxonomický význam chemosyndromové variability a akcesorických látek je ještě menší.

Význam lišejníkových látek

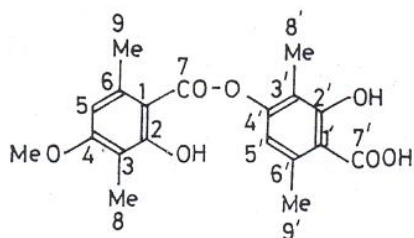
O významu některých látek se ví dosud jen velmi málo, přestože na poli fyziologie a ekologie lišejníků probíhá intenzivní výzkum (např. Lawrey 1986). Obecně můžeme konstatovat, že tyto látky zvyšují odolnost lišejníku vůči nepříznivým faktorům prostředí. Některé mají antibiotickou funkci, jiné chrání řasovou složku před slunečním zářením o vysoké intenzitě, pomocí dalších se vyrovnávají s extrémními životními podmínkami, např. Huneck & Yoshimura (1996), Haranczyk et al. (1998). Gardner & Mueller (1981) uvádějí, že lišejníkové látky napomáhají narušovat povrch podkladu, zejména skalních povrchů. Schimmer & Lehner (1973) zmiňují, že lišejníkové látky ovlivňují propustnost buněčných stěn fotobionta. Tímto způsobem může být upevňována vazba mezi fotobiontem a mykobiontem.

Charakteristika vybraných obsahových látek skupiny *Cladonia coccifera*

Téměř všechny druhy skupiny *Cladonia coccifera* obsahují kyselinu usnovou a rhodokladonovou. Přítomnost kyseliny barbatové, zeorinu či kyseliny didymové jsou rozhodujícím taxonomickým znakem. Další informace o těchto látkách potřebné pro hodnocení výsledků TLC uvádím v tabulce (Tab. 4.).

Barbatová kyselina

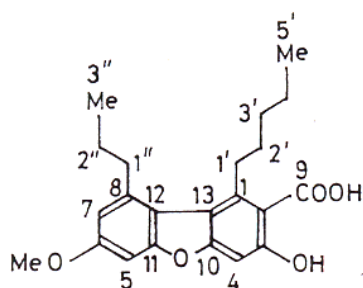
Tento β -orcinol para-depsidon reaguje KC^+ oranžově (Huneck & Yoshimura 1996), UV^+ . Pereira et al. (1953) zmiňuje účinek kyseliny barbatové při léčbě tuberkulózy. Ve skupině *C. coccifera* je z evropských druhů obsažena v *C. borealis* a jako akcesorická látka se může vyskytovat v *C. carneola*.



Obr. 1. barbatová kyselina

Didymová kyselina

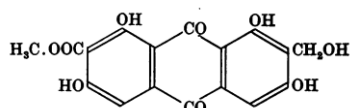
Didymová kyselina patří mezi dibenzofurany, reaguje KC^- , UV^+ . Z evropských druhů skupiny *C. coccifera* je obsažena pouze v *C. metacorallifera*.



Obr. 2. didymová kyselina

Rhodokladonová kyselina

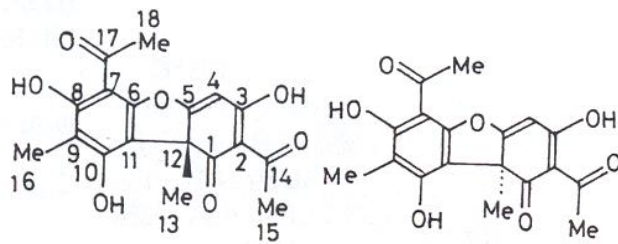
Rhodokladonová kyselina patří mezi naftachinony. Duke et al. (2001) zmiňují její alelopatický efekt. Reaguje K^+ červeně. Způsobuje červené zbarvení epihyménia všech červenoplodých dutohlávek. Ze skupiny *C. coccifera* ji obsahují všechny druhy kromě *C. carneola*.



Obr. 3. rhodokladonová kyselina

Kyselina usnová

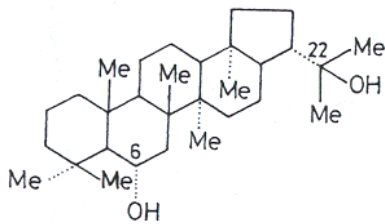
Žlutý pigment odvozený od kyseliny pulvinové. Vyskytuje se ve dvou enantiomerech: (+) a (-). Oba mají antibakteriální účinky proti Gram-pozitivním bakteriím. Dle Cocchietto et al. (2002) se kyselina usnová podílí také na ochraně proti houbám, prvokům i ostatním živočichům, dále chrání řasovou složku před UV zářením. Vyskytuje se ve všech evropských druzích skupiny *C. coccifera*. Reaguje K⁻, KC⁺ žlutě.



Obr. 4. (+) a (-) enantiomer k. usnové

Zeorin

Zeorin se řadí mezi triterpeny. Na starším herbářovém materiálu vytváří jehlicovité krystalky. Reaguje KC⁻, UV⁻. Je obsažen v *C. coccifera*, *C. pleurota*, *C. carneola* a *C. diversa*.



Obr. 5. zeorin

4. Materiál a metody

Ke zkoumání jsem použila materiál z Herbářových sbírek UK (PRC) a také ze soukromých sbírek Ondřeje Peksy (herb. O. Peksa) a Zdeňka Palice (herb. Z. Palice). (viz tab 5). Materiál jsem vybírala na základě morfologických znaků. Pro porovnání jsem si zapůjčila položky z Botanického muzea Helsinské univerzity (H), které determinovala a pomocí TLC analyzovala S. Stenroos.

Materiál jsem určovala dle morfologických a chemických znaků.

Morfologie

Pro determinaci druhů jsem použila práce: Stenroos (1989a, b), Aptroot et al. (2003), Wirth (1995), Purvis & James (2002). Pro odlišení jednotlivých druhů jsem se zaměřila především na struktury na povrchu podézia.

CHEMISMUS

Stélkové reakce

Ke stanovení barevných reakcí jsem využila tradiční chemikálie, jakými jsou roztok louhu draselného (K), parafenylendiaminu (P) a chlorového vápna (C).

UV reakce

Některé lišejníkové látky, na kterých je založena taxonomie skupiny *Cladonia coccifera* (např. kyselina didymová), fluoreskují pod UV zářením (365 nm), jiné toto záření absorbují (Orange et al. 2001). Fluorescence je v práci značena symbolem UV+, doplněným o barvu této reakce, absorpce záření je značena UV-.

Tenkovrstevná chromatografie (TLC = thin layer chromatography)

Obsahové látky jsem identifikovala pomocí metody tenkovrstevné chromatografie. Podrobné informace o této metodě jsou obsaženy např. v pracích Culberson & Kristinsson (1970), Culberson (1970), Huneck & Yoshimura (1996), Orange et al. (2001) či White & James (1985). Analýzy jsem provedla na pracovišti Botanického ústavu AV ČR v Průhoncích pod odborným vedením Mgr. Š. Slavíkové.

Nejprve jsem odebrala juvenilní části stélky (koncentrace lišejníkových látek jsou zde vyšší), které jsem následně extrahovala v acetonu. Vzniklé extrakty jsem nanášela skleněnou kapilárkou na startovní čáry 2 skleněných desek pokrytých silikagelem (každý extrakt na obě desky do stejné pozice). Použila jsem desky od firmy Merck (typ 60F₂₅₄). Zkoumala jsem 34

vzorků. Pro porovnání jsem měla 4 kontrolní vzorky: *Cladonia symphycarpa*, (atranorin a norstiktová kyselina), *Cladonia incrassata*, (kyselina didymová), *C. borealis* (kyselina barbatová) a *C. coccifera* s. str. (zeorin).

Desky s nanesenými extrakty jsem vložila do chromatografických van. Podél jejich stěn byl filtrační papír zasahující do rozpouštědla. Chromatografii jsem prováděla za pomoci dvou rozpouštědlových systémů (pro každou desku jeden systém):

1) systém A: toluen/ 1,4-dioxan/ kyselina octová 180: 45: 5

2) systém B': hexan/ metyl tert-butyleter/ kyselina mravenčí 140: 72: 18

Tyto dva systémy jsem zvolila, jelikož poskytují různé informace o jednotlivých látkách.

Jakmile rozpouštědlo s unášenými extrakty urazilo potřebnou vzdálenost, desky jsem vyňala. Desky jsem studovala na denním světle. Poté jsem na desky svítla UV lampou. UV záření o frekvenci 254 nm zobrazí skvrny neviditelné na denním světle. Následně jsem použila UV záření o frekvenci 365 nm; barva skvrn pod tímto zářením je dalším důležitým znakem používaným při vyhodnocování. Poté jsem desky ošetřila vodou. Díky tomu se zobrazily mastné kyseliny. Na závěr jsem na desky štětcem nanasla 10% roztok H_2SO_4 . Ošetřené desky jsem umístila do sušičky přehřáté na 110°C na cca 15 minut. Některé skvrny se výrazně zbarvily (např. zeorin).

Při identifikaci jednotlivých skvrn jsem použila charakteristiky látek uvedených v publikaci Orange et. al (2001). Mezi kritéria, na kterých je determinace látek založena, patří:

- 1) R_f hodnoty jednotlivých skvrn v různých rozpouštědlových systémech
- 2) barva skvrny na denním světle
- 3) barva skvrny pod UV zářením (254 nm, 365 nm)
- 4) reakce s H_2O
- 5) barva skvrny po aplikaci H_2SO_4 a zahřátí
- 6) barva skvrny pod UV zářením (254 nm, 365 nm) po aplikaci H_2SO_4 a zahřátí

Údaje o lišejníkových látkách významných pro chemotaxonomii skupiny *C. coccifera* jsou shrnuty v tabulce (Tab. 4).

5. Výsledky

Výsledky TLC a morfologického pozorování jsou shrnuty v následující tabulce (přesnější údaje o sběru a uložení jednotlivých položek jsou přiloženy v tabulce 5):

č.p.	přibližná lokalita	UV reakce	zeorin	k. barbatová	k. didymová	struktury na povrchu poděcia	druh
1	Šumava, Povydří	+ bíle (místy)	-	+	-	hladké destičky, šupiny	<i>C. borealis</i>
2	Šumava, Povydří	+ bíle	-	-	+	šupiny	<i>C. metacorallifera</i>
3	Šumava, Povydří	+ bíle (místy)	+	+	-	hladké destičky	<i>C. cf. borealis</i>
4	Lužické hory, Studenec	-	+	-	-	puchýřkaté destičky	<i>C. coccifera</i>
5	Šumava, Povydří	+ bíle	-	-	+	šupiny	<i>C. metacorallifera</i>
6	Šumava, Obří hrad	+ bíle (místy)	-	+	-	hladké destičky	<i>C. borealis</i>
7	Šumava, Povydří	+ bíle (místy)	-	+	-	hladké destičky	<i>C. borealis</i>
8	Lužické hory, Studenec	+ bíle	-	-	+	šupiny	<i>C. metacorallifera</i>
9	Šumava, Obří hrad	-	+	-	-	puchýřkaté destičky	<i>C. coccifera</i>
10	Českolipsko, Ralsko	-	+	-	-	puchýřkaté destičky	<i>C. coccifera</i>
11	Šumava, Šafářův vršek	-	+	-	-	puchýřkaté destičky	<i>C. coccifera</i>
12	Šumava, Povydří	-	+	-	-	puchýřkaté destičky	<i>C. coccifera</i>
13	Lužické hory, Studenec	-	+	-	-	puchýřkaté destičky	<i>C. coccifera</i>
14	Šumava, Obří hrad	+ bíle (místy)	-	+	-	šupiny, hladké destičky	<i>C. borealis</i>
15	Šumava, Obří hrad	+ bíle	-	-	+	šupiny	<i>C. metacorallifera</i>
16	Šumava, Šafářův vršek	+ bíle	-	-	+	šupiny	<i>C. metacorallifera</i>
17	Šumava, Povydří	-	+	-	-	puchýřkaté destičky	<i>C. coccifera</i>
18	Šumava, Povydří	-	+	-	-	puchýřkaté destičky	<i>C. coccifera</i>
19	Šumava, Povydří	-	+	-	-	puchýřkaté destičky	<i>C. coccifera</i>
21	Šumava, Plechý	-	+	-	-	sorédie	<i>C. pleurota</i>
22	Zbíroh	-	+	-	-	sorédie	<i>C. pleurota</i>
23	Třebíčsko	-	+	-	-	sorédie	<i>C. pleurota</i>
24	Jizerské hory	-	+	-	-	sorédie	<i>C. carneola</i>
25	Krušné Hory, Měděnec	-	+	-	-	šupiny	<i>C. coccifera</i>
26	Šumava, údolí Vydry	+ bíle (místy)	-	+	-	šupiny	<i>C. borealis</i>
27	NPČS, Kyjovské údolí	-	+	-	-	puchýřkaté destičky	<i>C. coccifera</i>
28	Šumava, Železná Ruda	-	+	-	-	puchýřkaté destičky	<i>C. coccifera</i>
29	Šumava, Kvilda	+ bíle (místy)	-	+	-	hladké destičky	<i>C. borealis</i>
30	Šumava, údolí Blanice	+ bíle (místy)	-	+	-	šupiny	<i>C. borealis</i>
31	Šumava, Stožecká skála	+ bíle (místy)	-	+	-	hladké destičky, šupiny	<i>C. borealis</i>
32	Šumava, údolí Vydry	+ bíle (místy)	-	+	-	hladké destičky, šupiny	<i>C. borealis</i>
33	Šumava, údolí Vydry	+ bíle (místy)	-	+	-	hladké destičky, šupiny	<i>C. borealis</i>
34	Šumava, údolí Vydry	+ bíle (místy)	-	+	-	hladké destičky, šupiny	<i>C. borealis</i>

Tab. 2. Výsledky TLC a morfologického pozorování

Z celkového počtu 33 zkoumaných položek jsem určila následující druhy v těchto četnostech:

druh	četnost
<i>C. coccifera</i>	12
<i>C. borealis</i>	11
<i>C. metacorallifera</i>	5
<i>C. pleurota</i>	3
<i>C. carneola</i>	1
<i>C. cf. borealis</i>	1

Tab. 3. Zjištěné druhy a jejich četnosti

C. borealis a *C. metacorallifera* jsou novými druhy pro Českou republiku.

Položka č. 3 dle TLC obsahovala kyselinu barbatovou a zeorin (v malém množství). Obě látky společně by se dle údajů z literatury ve stélkách evropských zástupců skupiny *C. coccifera* neměly vyskytovat, proto je nutno TLC opakovat. Na základě morfologických znaků jsem tuto položku určila jako *C. cf. borealis*.

6. Diskuse

Morfologické znaky všech zjištěných druhů odpovídaly údajům v literatuře s výjimkou druhu *Cladonia borealis*. *C. borealis*, obsahující kyselinu barbatovou, by dle údajů z literatury (např. Stenroos 1989a) měla mít povrch podézia korovitý, pokrytý hladkými destičkami. Nicméně 8 z 12 položek obsahujících kyselinu barbatovou mělo povrch podézia pokrytý šupinami, které žádný z autorů zabývající se touto problematikou nezmiňuje, např. Aptroot et al. (2003), Ihlen & Tønsberg (1994), Stenroos (1989a). Šupiny jsem však objevila i na materiálu z Helsinského herbáře, určeném Dr. Soili Stenroos. Struktura povrchu podézia zmíněného druhu se tedy jeví být dosti variabilní a nelze ji považovat za spolehlivý determinační znak. Podrobnějšímu studiu morfologie tohoto druhu bych se tedy ráda věnovala v rámci svého dalšího studia s cílem najít jiné, spolehlivější morfologické charakteristiky.

Druhy *Cladonia borealis* a *C. metacorallifera* jsou nové pro Českou republiku. Všech 11 položek *C. borealis* bylo sebráno na Šumavě (Tab. 5), přesto můžeme předpokládat výskyt druhu i v jiných částech ČR. Totéž platí i pro *C. metacorallifera* (3 položky ze Šumavy, 2 z Lužických hor). Ve své diplomové práci se budu otázce rozšíření těchto druhů v ČR věnovat podrobněji.

Chemické znaky všech zkoumaných položek odpovídaly údajům v literatuře. Jedině u položky č. 3 byl navíc zjištěn zeorin. Položka byla na základě morfologických znaků určena jako *Cladonia cf. borealis*. Dle údajů z literatury (Stenroos 1989a) by se kombinace těchto dvou látek neměla u žádného červenoplodého zástupce skupiny *C. coccifera* vyskytovat. Ihlen a Tønsberg (1994) však zmiňují, že položky, které zkoumali, měly morfologii typickou pro *C. borealis* a zároveň obsahovaly zeorin. Příčinou přítomnosti zeorinu v mém vzorku by však mohla být i kontaminace jiným druhem, proto je nutné analýzu zopakovat.

Použití rozpouštědlových systémů A a B' se velmi osvědčilo. Lišejníkové látky vyskytující se ve stélkách zástupců této skupiny mají v obou systémech odlišné retenční faktory R(f). Na základě výsledků z jediného systému by se jednotlivé látky daly identifikovat jen s velkými obtížemi.

7. Závěr

Na základě morfologických a chemických znaků jsem z celkového počtu 33 zkoumaných položek určila 5 druhů skupiny *Cladonia coccifera*. Ve studovaném materiálu byly nejčastěji zastoupeny druhy *C. coccifera* a *C. borealis*, méně pak *C. pleurota* a *C. metacorallifera*. Druh *C. carneola* byl zjištěn jen jednou. Položku č. 3 je zapotřebí dále studovat. Nejvíce odpovídá druhu *C. borealis*, liší se však přítomností zeorinu. Zjištěná četnost druhů nevyovídá o četnosti výskytu na našem území, jelikož byl zkoumán jen malý počet vzorků.

Morfologické znaky odpovídaly údajům v literatuře u všech zjištěných druhů s výjimkou druhu *Cladonia borealis*. U tohoto druhu se na povrchu podéí vyskytovaly šupiny, které v literatuře nejsou uváděny. Tyto šupiny jsou přítomny i u položek zapůjčených z Helsinek, které byly určeny Dr. Soili Stenroos.

Druhy *Cladonia borealis* a *C. metacorallifera* jsou z České republiky udávány poprvé, *C. carneola* je druhem poměrně vzácným, zbylé dva druhy jsou na našem území hojné.

Z předchozího vyplývá, že skupina *C. coccifera* si zasluhuje další pozornost. Jejím podrobnému studiu se budu věnovat i v rámci své diplomové práce.

8. Literatura

Aptroot A., Lisická E. & Pačlová L. (2003): *Cladonia borealis*, *C. monomorpha* and *Physcia vitii* (lichenized Ascomycota), new to Slovakia. - *Biológia* [Bratislava] 58(4): 767-771.

Asahina Y. (1939) Japanische Arten der Cocciferae (*Cladonia* – Cenomyce) – *Ann. Bot. Fennici* 23: 229-238.

Asahina Y., Shibata S. (1954): *Chemistry of Lichen Substances*. - Jap. Soc. for the Promotion of Sci. Tokyo, 240 pp.

Banásová V., Pišút I. & Lintnerová O. (2003): Poznámky ku špecifickej vegetácii na haldách trosky pri Smolníku (Slovenské rudohorie) - *Bull. Slov. Bot. Spoločn.*, Bratislava, 25: 135-141.

Bayerová Š., Halda J., Liška J. & Uhlík P. (2004): Príspevek k poznání lichenoflóry Krušných hor. - *Bryonora* 33: 28-35.

Bayerová Š. (1999): *Lichenologická studie Brd.* - Ms., 93 p. [Mgr. thesis, Přírodovědecká fakulta UK Praha]

Berger F. (1996): Neue und seltene Flechten und lichenicole Pilze aus Oberösterreich, Österreich II [New and rare lichenized and lichenicolous fungi from Upper Austria, Austria II]. - *Herzogia* 12: 45-84.

Cocchietto M., Skert. N., Nimis P. L. & Sava G. (2002): A review on usnic acid, an interesting natural compound. - *Die Naturwissenschaften* 89: 137-146.

Coppins B. J. (2002): *Checklist of lichens of Great Britain and Ireland*. - British Lichen Society, 87 pp.

Culberson C. F. & Kristinsson H. (1970): A standardized method for the identification of lichen products. - *Jour. Chromatogr.* 46: 85-93.

Culberson C. F. (1970): Supplement to "Chemical and Botanical Guide to Lichen Products". - *The Bryologist* 73: 177-377.

Duke S. O., Dayan F. E., Rimando A. M., Schrader K. K., Aliotta G., Oliva A. & Romagni J. G. (2001): Chemicals from nature for weed management *Journal Weed Science* Volume: 50: 138-151.

Faltynowicz W. (2003): *The lichens, lichenicolous and allied fungi of Poland. An annotated checklist*. - W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, Kraków, 435 pp.

Feuerer T. (ed.), (2006): *Checklists of lichens and lichenicolous fungi*. [Version 23 February 2006]. - <http://www.checklists.de> 2006.

Gardner C. R. & Mueller D. M. J. (1981): Factors affecting the toxicity of several lichen acids: effect of pH and lichen acid concentration. - *American Journal of Botany* 68: 87-95.

Gönülol A., Kinaliöglu K. & Engin A. (1995): Türkiye liken florasi için yeni kayıtlar [New records for the lichen flora of Turkey]. - *Turkish Journal of Botany* 19(3): 405-410.

Hafellner J. & Türk R. (2001): Die lichenisierten Pilze Österreichs - eine Checkliste der bisher nachgewiesenen Arten mit Verbreitungsangaben. - *Stapfia* 76: 41.

Haranczyk H., Gazdzinski S. & Olech M. (1998): Initial stages of lichen hydration observed by proton magnetic relaxation. - *New Phytologist* 138(2): 191-202.

Holien H. & Hilmo O. (1991): Contributions to the lichen flora of Norway, primarily from the central and northern counties. - *Gunneria* 65: 1-38.

Huovinen K., Ahti T. & Stenroos S. (1989): The composition and contents of aromatic lichen substances in *Cladonia*, section *Cocciferae*. - *Annales Botanici Fennici* 26: 133-148.

Huneck S. & Yoshimura I. (1996): Identification of Lichen Substances. - Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. 493 pp.

Ihlen P.G. & Tønsberg T. (1994): The distribution of *Cladonia borealis* in Norway. - *Graphis Scripta* 6(1): 27-29.

Jarkovský M. (1978): Lišejníkové látky a jejich identifikace. - Pedagogická fakulta v Hradci Králové. 106 pp.

Kowalewska A. & Kukwa M. (2004): *Cladonia metacorallifera* (lichenized Ascomycota, Cladoniaceae) new to Poland and additional record from Slovakia. - *Biológia*, 59(4): 433-434.

Lawrey J. D. (1986): Biological role of lichen substances. - *The Bryologist* 89: 111-122.

Mrak T., Mayrhofer H. & Batic F. (2004): Contributions to the lichen flora of Slovenia XI. Lichens from the vicinity of Lake Bohinj (Julian Alps) [Beiträge zur Flechtenflora von Slowenien XI. Flechten aus dem Gebiet um den Wocheiner See (Julische Alpen)]. - *Herzogia* 17: 107-127.

Orange A., James P. W. & White F. J. (2001): Microchemical Methods for the Identification of Lichens. - British Lichen Society. 101 pp.

Palice Z. (1996): Lišejníky karů Černého a Plešného jezera. - Ms., 90 pp. [Mgr. thesis, Přírodovědecká fakulta UK Praha].

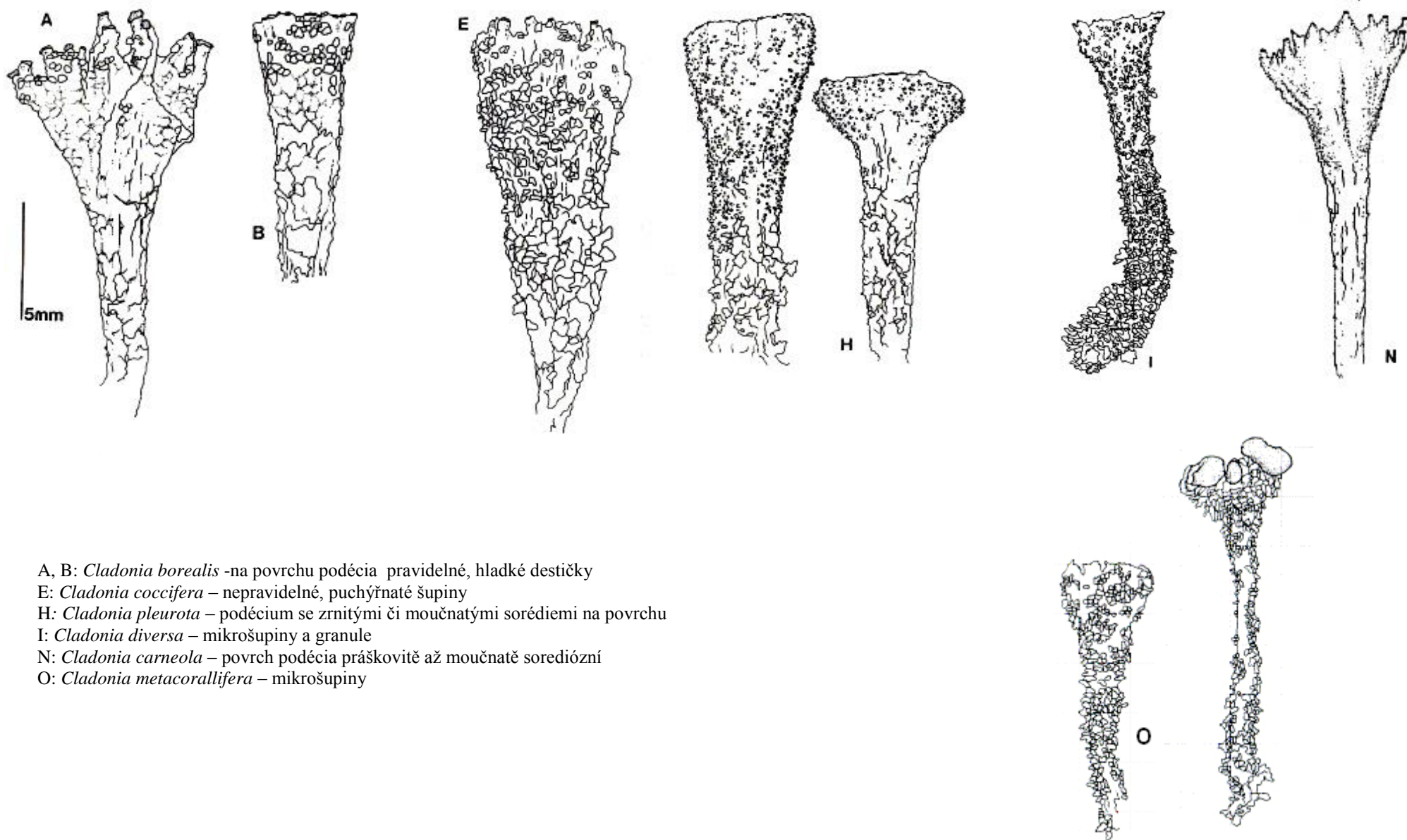
Peksa O. (2003): Diverzita a ekologie lišejníků Povydrí. - Ms., 133 pp. [Mgr. thesis, Přírodovědecká fakulta UK Praha].

Pereira E. M., Sa J. de & Bhatnagar S. S. (1953): Antitubercular activity of a pure lichen chemical constituent. - *Indian Jour. Pharm.* 15: 287-289.

- Pišút I.** (1958): Lišejníky rodu *Cladonia* na Slovensku. - Ms. 264 pp. [Mgr. thesis, Přírodovědecká fakulta UK Praha].
- Purvis O. W., James P. W.** (1992). *Cladonia*. In Purvis O. W., Coppins B. J., Hawksworth D. L., James P.W. & Moore D.M. (eds.) : The Lichen Flora of Great Britain and Ireland. - Natural History Museum Publications & British Lichen Society, London. p. 188-210.
- Rätzel S., Otte V. & Sipman H. J. M.** (2004): Bemerkenswerte Flechtenfunde aus Brandenburg (incl. lichenicoler und lichenoider Pilze) IX. - Verh. Bot. Ver. Berlin Brandenburg 137: 515 - 535.
- Santesson R., Moberg R., Nordin A., Tonsberg T. & Vitikainen O. (2004): Lichen-forming and Lichenicolous Fungi of Fennoscandia. - Museum of Evolution, Uppsala University, Uppsala, Sweden. 359pp.
- Schimmer O. & Lehner H.** (1973): Untersuchungen zur Wirkung von Usninsäure auf die Grünalge *Chlamydomonas reinhardtii*. - Arch. Mikrobiol. 93: 145-154.
- Søchting U. & Alstrup V.** (2002): Danish Lichen Checklist. - Botanical Institute, University of Copenhagen, Copenhagen. 43 pp.
- Stenroos S.** (1989): Taxonomy of the *Cladonia coccifera* group. 1. - Annales Botanici Fennici 26: 157-168.
- Stenroos S.** (1989): Taxonomy of the *Cladonia coccifera* group. 2. - Annales Botanici Fennici 26: 307-317.
- Stenroos S., Hyvönen J., Myllys L., Thell A. & Ahti T.** (2002): Phylogeny of the genus *Cladonia* s. lat. (*Cladoniaceae*, Ascomycetes) inferred from molecular, morphological, and chemical data. - *Cladistics* 18: 237-278.
- Sterner E. & Mayrhofer H.** (2003): Ein Beitrag zur Diversität von lichenisierten Pilzen im Gebiet des Lachtals (Wölzer Tauern, Steiermark, Österreich). - *Fritschiana* (Graz) 41: 1-19.
- Vainio E. A.** (1887): Monographia Cladoniarum universalis. I. Acta Soc. Fauna Fl. Fennica 4: 1-509.
- Vězda A. & Liška J.** (1999): Katalog Lišejníku České republiky [A Catalogue of Lichens of the Czech Republic]. - Institute of Botany, Academy of Sciences of the Czech Republic, Průhonice. 283 pp.
- White F. J. & James P. W.** (1985): A new guide to microchemical techniques for the identification of lichen substances. - *British Lichen Society Bulletin* 57 (supplement): 1-41.
- Wirth V.** (1994): Checkliste der Flechten und flechtenbewohnenden Pilze Deutschlands - eine Arbeitshilfe. - *Stuttgarter Beitr. Naturk. Ser. A* 517: 1 - 63.
- Wirth V.** (1995): Die Flechten Baden-Württembergs, Teil 1.- Eugen Ulmer GmbH & Co., Stuttgart, 527pp.

Přílohy

Obr. 6. Podécia evropských druhů skupiny *Cladonia coccifera* (dle Stenroos 1989a, b)

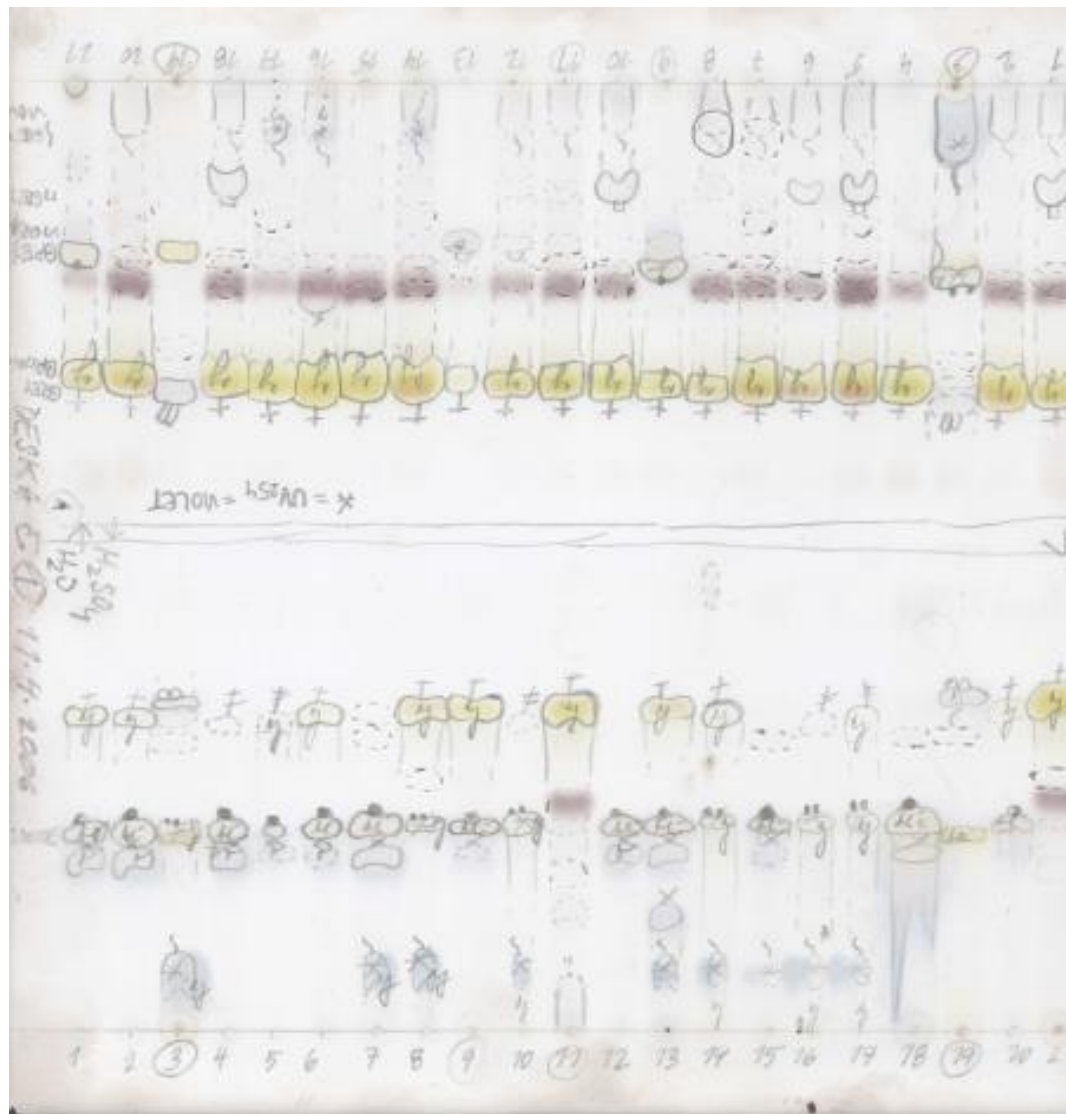


- A, B: *Cladonia borealis* - na povrchu podécia pravidelné, hladké destičky
 E: *Cladonia coccifera* - nepravidelné, puchýřnaté šupiny
 H: *Cladonia pleurota* - podécium se zrnitými či moučnatými sorédiemi na povrchu
 I: *Cladonia diversa* - mikrošupiny a granule
 N: *Cladonia carneola* - povrch podécia práškovitě až moučnatě sorediální
 O: *Cladonia metacorallifera* - mikrošupiny

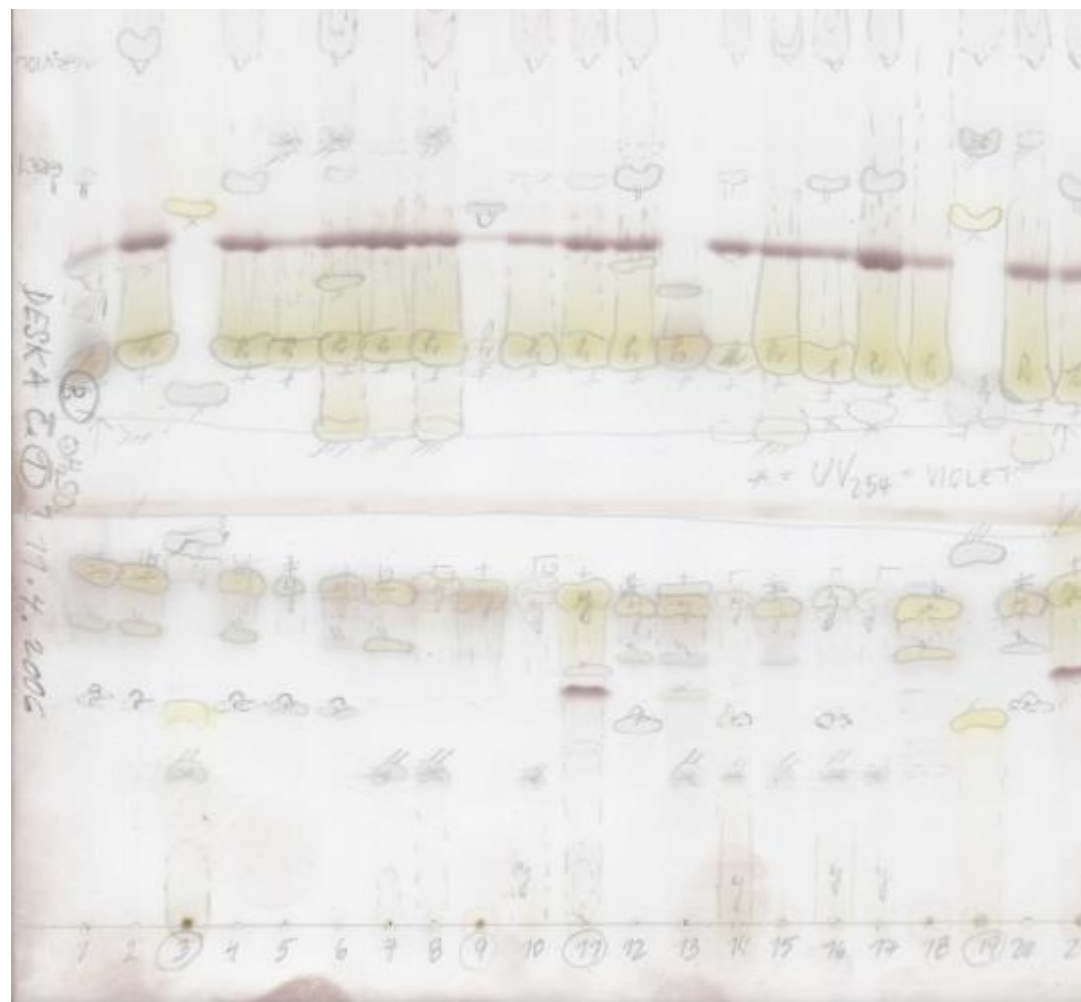
Obr. 7. Deska č. 1 (systém A)

Vysvětlivky některých symbolů (platí i pro Obr. 8):

- Nepřerušované ohraničení skvrny - skvrna měla jasnou konturu
- Přerušované ohraničení skvrny – skvrna neměla jasnou konturu
- Čísla 1 až 21 – nanesené extrakty
- Zakroužkovaná čísla – kontrolní vorky (3 – atranorin, kyselina norstiktová, kyselina didymová; 9 – kyselina barbatová, 11 – zeorin, 19 – atranorin, kyselina norstiktová)
- Žlutý pigment označený †, ‡ – kyselina usnová
- Skvrna označena tečkou – kyselina barbatová (na desce č. 2 hnědě zbarvená skvrna na úrovni kys. usnové označená b)
- Skvrna označena dvěma tečkami, popř. ¶ – kyselina didymová
- Purpurová skvrna – zeorin
- Dva „kolečky“ - atranorin
- /// - atranorin (extrakty 13, 19), jinde kyselina isousnová
- Žlutá skvrna označená křížkem (obr. 8.) - atranorin
- Žluté skvrny u čísel 3, 19 – norstiktová kyselina
- H₂SO₄ – deska byla ošetřena H₂SO₄
- H₂O – deska byla ošetřena H₂O
- * - skvrna svítí fialově pod UV (254 nm)
- Symboly bez popisu – neidentifikované lišejníkové látky



Obr. 8. Deska č. 1 (systém B)



Tab. 4. Informace o některých lišejníkových látkách, potřebné pro hodnocení výsledků TLC

	Relativní R _f		UV reakce před zahřátím	Barva skvrny po aplikaci kyseliny a zahřátí	UV reakce po zahřátí
	A	B			
kyselina barbatová	44	67	+ modrošedá	světle až jasně žlutá se sytě růžovým až růžovooranžovým okrajem	šedá až šedohnědá se zlatavým okrajem
kyselina usnová	70	66	+ hnědavá	světle žlutá až zelenožlutá	-
kyselina didymová	44	68	+ bělavá	± bezbarvá	světle modrofialová
zeorin	52	43	-	sytě purpurová	růžová
atranorin	75	73	-	sytě oranžovožlutá	sytě oranžovožlutá
kyselina norstiktová	40	32	-	jasně žlutá	-

R(f) – retenční faktor

A, B – systémy rozpouštědel

Tab. 5. Údaje o sběru a uložení jednotlivých položek

číslo položky	lokalita	datum sběru	herbář
1	Šumava, Povydří, reliktní bor. U Hálkovy chaty, na humusu, 835-860 m n. m.	3.9.2000	herb. O. Peksa
2	Šumava, Povydří, reliktní bor. U Hálkovy chaty, na humusu, 835-860 m n. m.	20.9.2001	herb. O. Peksa
3	Šumava, Povydří, reliktní bor, kamenná suť u Hálkovy chaty, na humusu, 835-860 m n.m.	29.6.2004	herb. O. Peksa
4	Lužické hory, Studenec, velká suť na jižním svahu, na holé půdě, 580 m n.m.	2.8.2005	herb. O. Peksa
5	Šumava, Povydří, reliktní bor, 200 m SZ od Turnerovy chaty, na humusu, 800 m n.m.	21.6.2005	herb. O. Peksa
6	Šumava, Obří hrad, suť na SZ svahu, na humusu, 850 m n. m.	5.9.2005	herb. O. Peksa
7	Šumava, Povydří, kamenná suť pod Horními Hrádky, na humusu, 850 m n. m.	31.10.2005	herb. O. Peksa
8	Lužické hory, Studenec, velká suť na SJ svahu, na holé půdě, 600 m n.m.	2.8.2005	herb. O. Peksa
9	Šumava, Obří hrad, suť na SZ svahu, na humusu, 850 m n. m.	5.9.2005	herb. O. Peksa
10	Českolipisko, Ralsko - vojenské letiště, písek na Z od přistávací plochy, na písčité půdě, 270 m n.m.	17.11.2005	herb. O. Peksa
11	Šumava, Šafářův vršek, suť na J svahu, na humusu, 800 m n. m.	2.4.2005	herb. O. Peksa
12	Šumava, Povydří, reliktní bor, 200 m SZ od Turnerovy chaty, na humusu, 800 m n.m.	21.6.2005	herb. O. Peksa
13	Lužické hory, Studenec, velká suť na SJ svahu, na holé půdě, 600 m n.m.	2.8.2005	herb. O. Peksa
14	Šumava, Obří hrad, suť na SZ svahu, na humusu, 850 m n. m.	5.9.2005	herb. O. Peksa
15	Šumava, Obří hrad, suť na SZ svahu, na humusu, 850 m n. m.	5.9.2005	herb. O. Peksa
16	Šumava, Šafářův vršek, suť na J svahu, na humusu, 800 m n. m.	2.4.2005	herb. O. Peksa
17	Šumava, Povydří, reliktní bor, 200 m SZ od Turnerovy chaty, na humusu, 800 m n.m.	30.9.2002	herb. O. Peksa
18	Šumava, Povydří, reliktní bor, 200 SZ od Turnerovy chaty, 800 m n.m.	20.9.2001	herb. O. Peksa
19	Šumava, Povydří, reliktní bor. U Hálkovy chaty, na humusu, 835-860 m n. m.	20.9.2001	herb. O. Peksa
21	Šumava, Plechý, kamenná suť ca 700 až 800m S od vrcholu, 1280m n. m.	14.5.1996	PRC
22	Zbiroh, kraj smrkového lesa dle cesty v Jablečenském polesí	26.8.1911	PRC
23	Třebíč, na mechatých skalách u Střetenického mlýna	VIII.1913	PRC
24	Krušné hory, Heideboden b. Platten, ca 750 m n.m.	1929	PRC
25	Krušné hory, hora Měděnec, Z svah, Fe/Cu horniny, 850 m n.m.	27.7.2004	herb. Z. Palice
26	Šumava, údolí řeky Vydry, jehličnatý les u Hálkovy chaty, 855 m n.m.na kamenech u jedlového lesa u Turnerovy chaty	7.7.2000	herb. Z. Palice
27	Kyjov, NPČS, Kyjovské údolí, Skalní bratři, 370-380 m n. m.	24.4.2003	herb. Z. Palice
28	Šumava, Plešné jezero, skála s humusem, 1178 m n. m.	28.8.1994	herb. Z. Palice
29	Šumava, humusová vrstva na balvanu na pastvině, 1040 m n. m.	11.5.1994	herb. Z. Palice
30	Šumava, údolí Blanice pod hradem Hus, ca 600-800 m po proudu, ca 700m	16.9.1997	herb. Z. Palice
31	Šumava, Stožecká Skála, humusová vrstva na silikátovém balvanu, 920 m n.m.	24.4.1994	herb. Z. Palice
32	Šumava, údolí řeky Vydry, jehličnatý les u Hálkovy chaty, 855 m n.m.na kamenech u jedlového lesa u Turnerovy chaty	7.7.2000	herb. Z. Palice
33	Šumava, údolí řeky Vydry, na kamenech u jedlového lesa u Turnerovy chaty, 815-825m n.m.	7.7.2000	herb. Z. Palice
34	Šumava, údolí řeky Vydry, na kamenech u jedlového lesa u Turnerovy chaty, 815-825m n.m.	7.7.2000	herb. O. Peksa